

М.Ю.Гиляров<sup>1</sup>, Э.В.Генерозов<sup>2</sup>, М.У.Магомадова<sup>1</sup>, С.Ю.Морошкина<sup>2</sup>,  
Т.В.Погода<sup>2</sup>, П.А.Костин<sup>2</sup>, В.А.Сулимов<sup>1</sup>, А.Л.Сыркин<sup>1</sup>

АЛГОРИТМ ПОДБОРА ДОЗЫ ВАРФАРИНА С УЧЕТОМ НОСИТЕЛЬСТВА  
ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ ЦИТОХРОМА CYP2C9 И СУБЪЕДИНИЦЫ 1 ВИТАМИН К  
ЭПОКСИДРЕДУКТАЗЫ

<sup>1</sup>ГОУ ВПО Московская медицинская академия им. И.М.Сеченова, <sup>2</sup>ФГУ НИИ физико-химической  
медицины Росздрава

*С целью разработки алгоритм подбора дозы варфарина для популяции пациентов, проживающих в Москве и Московской области изучены данные генетического обследования 107 пациентов в отношении носительства полиморфизмов гена CYP2C9 и 105 пациентов в отношении полиморфизма гена VKORC1.*

**Ключевые слова:** фибрилляция предсердий, тромбоемболические осложнения, ишемический инсульт, варфарин, полиморфизм генов, амиодарон

*To develop algorithm of selection of an optimal dose of Warfarin for the population of the Moscow Region, the data on the polymorphism of CYP2C9 gene in 107 patients and VKORC1 gene in 105 patients were analyzed.*

**Key words:** atrial fibrillation, thromboembolic events, ischemic stroke, Warfarin, gene polymorphism, Amiodarone.

Фибрилляция предсердий (ФП) остается одним из самых распространенных нарушений сердечного ритма. Самым грозным осложнением ФП является ишемический инсульт, возникающий вследствие тромбоемболии. По данным многочисленных исследований частота возникновения инсульта у пациентов с ФП составляет в среднем 5% в год, что в 5-7 раз больше, чем у пациентов с синусовым ритмом [1, 2]. У пациентов с ФП большинство инсультов (до 75%) имеет кардиоэмболическое происхождение, поэтому профилактика тромбообразования в левом предсердии и его ушке является основным методом предупреждения нарушений мозгового кровообращения при ФП. На сегодняшний день наиболее изученным и эффективным средством профилактики инсультов у пациентов с ФП остаются антагонисты витамина К и, в частности, варфарин. Несмотря на свою высокую эффективность применение варфарина является непростой задачей для врача вследствие его вариабельной фармакокинетики. На метаболизм варфарина влияют многие факторы: пол, возраст, диета, прием лекарств, генетические особенности. В число последних входят полиморфизмы генов, кодирующие цитохром CYP2C9 и гена субъединицы 1 витамин К эпоксидредуктазы. Определив генотип возможно выявить индивидуальные особенности метаболизма варфарина у конкретного пациента [3, 4].

Генетические изменения, характеризующие состояние рассматриваемых ферментов, сводятся к структурному полиморфизму генов, т.е. к замене одного нуклеотида на другой в ДНК генов. В настоящее время известны 6 полиморфных вариантов генов, кодирующих CYP2C9 [5]. Наиболее распространенным в популяции является так называемый «дикий» тип, первый аллельный вариант - CYP2C9\*1, при котором скорость метаболизма варфарина стандартна. Обладателей подобного генотипа принято называть «распространенными» метаболизаторами. В отличие от них носители других вариантов полиморфизмов, второго и третьего аллелей - R144C (CYP2C9\*2) и I359L (CYP2C9\*3), являются «медленными» метаболизаторами. Это связано

со снижением активности цитохрома, при гомозиготных вариантах до 90%, что приводит к замедлению элиминации варфарина из организма, повышению его концентрации в плазме крови. Именно у носителей такого генотипа риск развития геморрагических осложнений, связанных с приемом антагонистов витамина К, наиболее велик [6, 7].

Среди белой европейской популяции полиморфизм CYP2C9\*2 встречается в среднем у 12%, а CYP2C9\*3 - у 7-8% людей. Таким образом, около 40% населения являются носителями одного или двух полиморфизмов [8, 9]. Среди черной популяции встречаемость этих полиморфизмов иная. Так, полиморфизм CYP2C9\*2 встречается в среднем у 3%, а CYP2C9\*3 - у 1,5% людей.

Американские генетики опубликовали данные об общей распространенности различных генотипов среди жителей штата Юта. CYP2C9\*2/\*3 CC/AA («дикий тип») найден у 71,4%; CT/AA - у 18,3%; CC/AC - у 9,4%; CT/AC - у 1%. Различные варианты VKORC1 распределены следующим образом: C/C («дикий тип») - 36,6%, гетерозиготный вариант полиморфизма C/T - 50,7%, гомозиготный T/T - 12,7% [10].

Структурные изменения гена VKORC1 разнообразны, на сегодняшний день известно 10 полиморфных вариантов. Некоторые из них сцеплены между собой в гаплотип, что позволяет по наличию только одного полиморфизма выделить группы пациентов с различной чувствительностью к препарату [11, 12]. Н.У.Yuan et al. 2005 изучали влияния носительства генотипов по полиморфному маркеру G-1639A (3673 G>A) гена VKORC1 на фармакодинамику варфарина у 104 больных, принимающих данный препарат для профилактики тромбоемболических осложнений. Оказалось, что генотип AA ассоциировался высокой чувствительностью к варфарину, в то время как генотип GG ассоциировался с низкой чувствительностью к данному препарату т.е. с кумаринорезистентностью. У китайцев этот генотип распространен с частотой 0-2,7%, в то время как у европеоидов - 39% [13]. Помимо генетических,

на фармакокинетику и фармакодинамику варфарина и других антагонистов витамина К влияют и другие факторы: характер питания, пол, возраст, сопутствующая терапия [14, 15, 16, 17].

На основании учета генетических и клинических факторов были созданы несколько алгоритмов, позволяющих точнее подобрать дозу варфарина [18, 19, 20-23]. Так, по данным В.F.Gage et al. (2008) в уравнении, предсказывавшем дозу варфарина, помимо генетических факторов на конечный результат оказывали влияние: возраст (-7% на каждые 10 лет), прием амиодарона (-22%), курение (+10%), расовая принадлежность (-9%) и наличие тромбоза в настоящее время (+7%) [18]. По некоторым данным эти алгоритмы позволяют быстрее и точнее подобрать оптимальную дозу варфарина, особенно при очень низкой и очень высокой чувствительности к препарату [24, 25]. В 2007 г. Администрация по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных препаратов (FDA) рекомендовала проводить определение носительства полиморфизмов генов, влияющих на дозировку варфарина [26]. В тоже время, по данным недавнего мета-анализа К.Kangelaris et al. (2009) подбор дозы с помощью алгоритма не уменьшает число кровотечений. Не отрицая пользы алгоритмического подхода, авторы считают, что необходимо совершенствование алгоритма и накопление информации, как о генетических, так и о клинических факторах, влияющих на дозировку варфарина [27].

В работе И.М.Антонова проанализирован ряд алгоритмов подбора дозы варфарина [28]. Было показано, что наибольшим коэффициентом детерминации (0,69) и корреляции (0,88) с реальной дозой обладал уже упомянутый алгоритм В.F.Gage [18, 25]. Его применение по данным И.М.Антонова позволяет снизить риск чрезмерной гипокоагуляции и частоту кровотечений. Данный алгоритм общедоступен на сайте [www.warfarindosing.org](http://www.warfarindosing.org) и позволяет в режиме он-лайн рассчитать целевую недельную дозу варфарина. В нашем исследовании мы сделали попытку составить алгоритм подбора дозы варфарина для популяции пациентов, проживающих в Москве и Московской области.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Данные генетического обследования были получены для 107 пациентов в отношении носительства полиморфизмов гена CYP2C9 и 105 пациентов в отношении полиморфизма гена VKORC1. Конкретные методы генетического анализа и критерии включения в исследование были описаны в ранее опубликованных статьях [29, 30]. Варфарин назначался лечащим врачом по его усмотрению. Подбор дозы до достижения целевых значений МНО (2,0-3,0) осуществлялся без применения номограмм эмпирическим путем. Стабильной считалась доза, при которой целевые значения МНО определялись в 2-х последовательных анализах с разбросом не более 20%. Для определения независимых предикторов величины дозы варфарина применяли метод линейной логистической регрессии с пошаговым анализом значимых факторов, выявленных предварительно с помощью однофакторного анализа.

## ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

На основании полученных данных была построена линейная регрессионная модель, где в качестве факторов, влияющих на дозировку варфарина, были использованы характер полиморфизма гена CYP2C9, характер полиморфизма гена VKORC1 и факт приема амиодарона. Другие возможные переменные, такие как пол, возраст, рост, вес, прием статинов значимого влияния на точность прогноза не оказывали и из итогового уравнения регрессии были исключены. Уравнение рассчитывает суточную дозу варфарина, необходимую для достижения целевых значений МНО.

Переменные «CYP2C9» и «VKORC1» являются номинальными и значения им были присвоены произвольно. Для полиморфизмов CYP2C9 соответственно \*1/\*1=1, \*1/\*2=2, \*1/\*3=3 и \*2/\*3=4 и для полиморфизмов VKORC1, соответственно, AA=1, AG=2 и GG=3. Для повышения точности прогноза эти показатели были приведены к линейному виду на основании полученных в исследовании средних значений дозы варфарина для каждого из генотипов с вычислением новых переменных [31]: «Доза\_CYP2C9», где генотипу CYP2C9\*1/\*1 соответствовало значение переменной 4,92, CYP2C9\*1/\*2 - 3,68, CYP2C9\*1/\*3 - 3,58, а их сочетанию CYP2C9\*2/\*3 - 3,13 и «Доза\_VKORC1», где генотипу AA соответствовало значение 3,93, генотипу AG - 4,13 и генотипу GG - 5,72. Пациентам, получавшим амиодарон, присваивалось значение переменной «Амиодарон» равное 1, а не получавшим - равное 0.

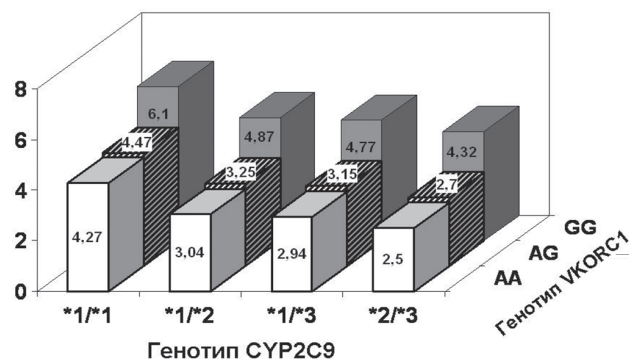


Рис. 1. Целевая доза варфарина в зависимости от сочетания генотипов CYP2C9 и VKORC1 у пациентов, не получающих амиодарон.

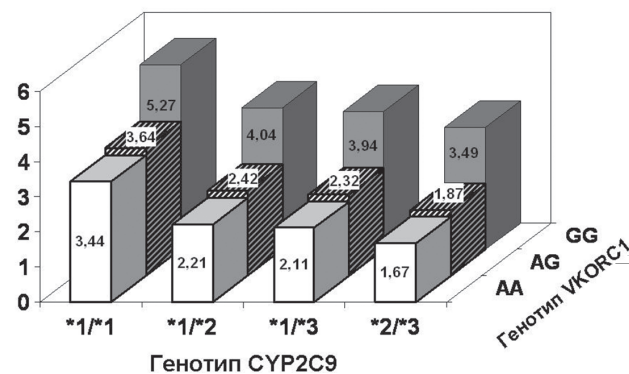


Рис. 2. Целевая доза варфарина в зависимости от сочетания генотипов CYP2C9 и VKORC1 у пациентов, получающих амиодарон.

При составлении уравнения регрессии с использованием параметра «Доза\_VKORC1» поправленный квадрат коэффициента корреляции составил 0,185 при значимости регрессии 0,0001. При введении в уравнение регрессии параметра «Доза\_CYP2C9» поправленный квадрат коэффициента корреляции возрос до 0,281 при значимости регрессии 0,0001. Введение в уравнение регрессии параметра «Амиодарон» привело к возрастанию поправленного квадрата коэффициента корреляции до 0,310 при значимости регрессии 0,025. В итоговом виде уравнение регрессии выглядит следующим образом:

$$\text{«Доза варфарина»} = 1,02 \text{ «Доза\_VKORC1»} + 0,99 \text{ «Доза\_CYP2C9»} - 0,83 \text{ «Амиодарон»} - 4,61$$

Полученные с помощью уравнения регрессии предположительные целевые дозы варфарина для различных сочетаний генотипов CYP2C9 и VKORC1 представлены на рис. 1 - для пациентов, не получающих

амиодарон и рис. 2 - для получающих этот препарат. Учитывая то, что на сегодняшний день наиболее точным является алгоритм, разработанный В.Ф.Гейга и The International Warfarin Pharmacogenetics Consortium [18, 25] мы сравнили результаты, полученные с помощью этого алгоритма и алгоритма, разработанного на основании наших данных.

Была получена сильная достоверная корреляция 0,836 ( $p=0,00001$ ) между дозой, предсказанной алгоритмом В.Ф.Гейга et al. и нашим алгоритмом. Таким образом алгоритм подбора дозы варфарина с использованием генетических параметров позволяет оценить предположительную дозу варфарина, необходимую для достижения целевых значений МНО у лиц, проживающих в Московском регионе. Алгоритм, полученный в нашей работе, хорошо коррелирует с известным алгоритмом В.Ф.Гейга et al. Необходима валидизация этого алгоритма на реальной популяции пациентов.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Кушаковский М.С. Фибрилляция предсердий (причины, механизмы, клинические формы, лечение и профилактика), С.-Пб. «Фолиант», 176 с.
2. The Task Force for the Management of Atrial Fibrillation of the European Society of Cardiology Guidelines for the management of atrial fibrillation // *European Heart Journal* 2010; 31: 2369-2429.
3. Михеева Ю.А., Кропачева Е.С., Игнатъев И.В. и др. Полиморфизм гена цитохрома P450C9 (CYP2C9) и безопасность терапии варфарином // *Кардиология* 2008; 48: 52-57.
4. Reynolds K.K., Valdes Jr.R., Hartung, B.R. at al. Individualizing warfarin therapy // *Personalized Medicine* 2007; 4: 11-17
5. Higashi M.K., Veenstra, D.L., Kondo, L.M. at al. Association Between CYP2C9 Genetic Variants and Anticoagulation-Related Outcomes During Warfarin Therapy // *The Journal of the American Medical Association* 2002; 287: 1690 - 1698.
6. Шевела А.И., Лифшиц Г.И., Новикова К.С. и др. Фармакогенетические основы применения варфарина // *Флебология* 2008; 3: 35 - 37.
7. Aquilante C.L., Langaee T.Y., Lopez L.M. at al. Influence of coagulation factor, vitamin K epoxide reductase complex subunit 1, and cytochrome P450 2C9 gene polymorphisms on warfarin dose requirements [ast] // *Clin Pharmacol Ther* 2006; 79: 291-302.
8. Gage B.F., Eby C.S. The genetics of vitamin K antagonists // *Pharmacogenomics J* 2004; 4: 224-225.
9. Rettie A.E., Tai G. The Pharmacogenomics of Warfarin: Closing in on Personalized Medicine // *Molecular Interventions* 2006; 6: 223-227.
10. Carlquist J., Horne B., Muhlestein J. at al. Genotypes of the cytochrome p450 isoform, CYP2C9, and the vitamin K epoxide reductase complex subunit 1 conjointly determine stable warfarin dose: a prospective study // *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*, 2006; 22: 191-197.
11. Dumas T.E., Hawke R.L., Lee C.R. Warfarin dosing and the promise of pharmacogenomics // *Current Clinical Pharmacology*, 2007; 2: 11-21.
12. Schwarz U. I., Ritchie M. D., Bradford Y. at al. Genetic determinants of response to warfarin during initial anticoagulation // *The New England Journal of Medicine*, 2008; 358: 999-1008.
13. Yuan H.Y., Chen J.J., Lee M.T. M. at al. A novel functional VKORC1 promoter polymorphism is associated with inter-individual and inter-ethnic differences in warfarin sensitivity // *Human Molecular Genetics*, 2005; 14: 1745-1751.
14. Андреев Д.А., Ших Е.В. Лекарственные средства, влияющие на систему гемостаза. В кн. «Клиническая фармакология» под ред. В.Г.Кукеса, 4-е изд., М., «ГЭОТАР-Медиа», 2008, 1056 с.
15. Кропачева Е.С., Панченко Е.П. Что может повлиять на чувствительность больного к варфарину? // *Consilium Medicum* 2009; 4: 48-53.
16. Garcia D., Regan S., Crowther M. at al. Warfarin maintenance dosing patterns in clinical practice // *Chest*, 2005; 127: 2049-2056.
17. Holbrook A.M., Pereira J.A., Labiris R. at al. Systematic overview of warfarin and its drug and food interactions // *Archives of Internal Medicine*, 2005; 165: 1095-1106.
18. Gage B.F., Eby C., Johnson J.A. at al. Use of pharmacogenetic and clinical factors to predict the therapeutic dose of warfarin // *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 2008; 84: 326-331.
19. Hillman M.A., Wilke R.A., Yale S.H. at al. A prospective, randomized pilot trial of model-based warfarin dose initiation using CYP2C9 genotype and clinical data // *Clinical Medicine Research*, 2005; 3: 137-145.
20. Langley M.R., Booker J.K., Evans J.P. at al. Validation of clinical testing for warfarin sensitivity: comparison of CYP2C9-VKORC1 genotyping assays and warfarin-dosing algorithms // *Journal of Molecular Diagnostics*, 2009; 11: 216-225.
21. Schelleman H., Chen J., Chen,Z. at al. Dosing algorithms to predict warfarin maintenance dose in caucasians and african americans // *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 2008; 84: 332-339.
22. Wadelius M., Chen L.Y., Lindh J.D. at al. The largest prospective warfarin-treated cohort supports genetic forecasting // *Blood*, 2009; 113: 784-792.

23. Wu A.H., Wang P., Smith A. et al. Dosing algorithm for warfarin using CYP2C9 and VKORC1 genotyping from a multi-ethnic population: comparison with other equations // *Pharmacogenomics*, 2008; 9: 169-178.
24. Caraco Y., Blotnick S., Muszkat M. CYP2C9 Genotype-guided warfarin prescribing enhances the efficacy and safety of anticoagulation: A prospective randomized controlled study // *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 2007; 83: 460-470.
25. The International Warfarin Pharmacogenetics Consortium. Estimation of the warfarin dose with clinical and pharmacogenetic data // *The New England Journal of Medicine*, 2009; 360: 753-764.
26. US Food and Drug Administration. FDA clears genetic lab test for warfarin sensitivity <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/2007/ucm108984.htm>
27. Kangelaris K., Bent S., Nussbaum R. et al. Genetic testing before anticoagulation? A systematic review of pharmacogenetic dosing of warfarin // *Journal of General Internal Medicine*, 2009; 24: 656-664.
28. Антонов И.М. Эффективность и безопасность применения непрямого антикоагулянта варфарина при его дозировании, основанном на результатах фармакогенетического тестирования. Автореф. дисс....канд. мед. наук. М., 2009
29. Гиляров М.Ю., Генерозов Э.В., Магомадова М.У. и др. Полиморфизм гена субъединицы 1 витамин К эпоксидредуктазы: распространенность и влияние на дозировку варфарина у жителей Московского региона // *Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия* 2009; 3: 36-39.
30. Гиляров М.Ю., Генерозов Э.В., Магомадова М.У. и др. Факторы, влияющие на дозировку варфарина у пациентов с фибрилляцией предсердий // *Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия* 2008; 1: 65-68.
31. Герасимов А.Н. Медицинская статистика, М. "Медицинское информационное агентство", 480 с.

#### АЛГОРИТМ ПОДБОРА ДОЗЫ ВАРФАРИНА С УЧЕТОМ НОСИТЕЛЬСТВА ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ ЦИТОХРОМА CYP2C9 И СУБЪЕДИНИЦЫ 1 ВИТАМИН К ЭПОКСИДРЕДУКТАЗЫ

*М.Ю.Гиляров, Э.В.Генерозов, М.У.Магомадова, С.Ю.Морошкина,  
Т.В.Погода, П.А.Костин, В.А.Сулимов, А.Л.Сыркин*

С целью формирования алгоритма подбора дозы варфарина были получены данные для 107 пациентов в отношении носительства полиморфизмов гена CYP2C9 и 105 пациентов в отношении полиморфизма гена VKORC1. Варфарин назначался лечащим врачом по его усмотрению. Подбор дозы до достижения целевых значений МНО (2,0-3,0) осуществлялся без применения номограмм эмпирическим путем. Стабильной считалась доза, при которой целевые значения МНО определялись в 2-х последовательных анализах с разбросом не более 20%. На основании полученных данных была построена линейная регрессионная модель, где в качестве факторов, влияющих на дозировку варфарина, были использованы характер полиморфизма гена CYP2C9, характер полиморфизма гена VKORC1 и факт приема амиодарона. Учитывая то, что на сегодняшний день наиболее точным является алгоритм, разработанный В.Ф.Гейгем и The International Warfarin Pharmacogenetics Consortium сравнили результаты, полученные с помощью этого алгоритма и алгоритма, разработанного на основании собственных данных. Была получена сильная достоверная корреляция 0,836 ( $p=0,00001$ ) между дозой, предсказанной алгоритмом В.Ф.Гейге и разработанным алгоритмом. Таким образом алгоритм подбора дозы варфарина с использованием генетических параметров позволяет оценить предположительную дозу варфарина, необходимую для достижения целевых значений МНО у лиц, проживающих в Московском регионе. Полученный алгоритм хорошо коррелирует с известным алгоритмом В.Ф.Гейге. Необходима валидизация этого алгоритма на реальной популяции пациентов.

#### ALGORITHM OF SELECTION OF AN OPTIMAL DOSE OF WARFARIN CONSIDERING THE POLYMORPHISM OF CYTOCHROME CYP2C9 GENE AND SUBUNIT 1 OF VITAMIN K EPOXIDE REDUCTASE GENE

*M.Yu. Gilyarov, E.V. Generozov, M.U. Magomadova, S.Yu. Moroshkina, T.V. Pogoda, P.A. Kostin, V.A. Sulimov, A.L. Syrkin*

To develop algorithm of selection of an optimal dose of Warfarin, the data on the polymorphism of cytochrome (CYP2C9) gene in 107 patients and subunit 1 of Vitamin K epoxide reductase gene (VKORC1) in 105 patients were collected. The initial dose of Warfarin was selected by physicians in accordance with their clinical experience. The dose adjustment to reach the target INR level of 2.0 3.0 was carried out empirically, without using nomograms. The dose was considered stable when the target INR values were obtained in two consecutive tests with difference not exceeding 20%. Using the data obtained, a linear regression model was generated, with the type of the CYP2C9 and VKORC1 gene polymorphisms and treatment with Amiodarone used as factors influencing the Warfarin dose. Taking currently the most precise algorithm by B.F. Cage and the International Warfarin Pharmacogenetics Consortium into consideration; the data obtained using the above algorithm was compared with that revealed using the algorithm developed by the authors. A significant strong correlation (0.836;  $p=0.00001$ ) was noted between the dose predicted using the Cage algorithm and the author's algorithm. Thus, the algorithm of selection of an optimal Warfarin dose using genetic parameters permits one to assess the tentative dose of Warfarin sufficient to achieve the target INR level in subjects inhabiting the Moscow Region. The algorithm showed a strong correlation with the available algorithm by B.F. Cage. The algorithm validation on the "real-life" patient population is required.