

Сычев Дмитрий Алексеевич

**Персонализированная антикоагулянтная
терапия на основе результатов
фармакогенетического
тестирования**

Санкт-Петербург
2010

«Новая генетическая информация может помочь улучшить начальное индивидуальное дозирование антикоагулянтов для каждого отдельного пациента»

(Управление по Контролю за Качеством Пищевых Продуктов и Лекарственных Средств США (FDA), 2007)¹

«Появляется возможность для медицинских учреждений использовать генетический анализ, чтобы оптимизировать применение варфарина для конкретного пациента»

(Профессор Ingolf Cascorbi, Президент Европейской ассоциации клинических фармакологов и терапевтов (EASPT))²

«Персонализированная антикоагулянтная терапия на основе результатов фармакогенетического тестирования».

Автор: Сычев Д.А. — д.м.н., профессор кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, главный научный сотрудник Института клинической фармакологии ФГУ «НЦ ЭСМП».

¹ FDA Approves Updated Warfarin (Coumadin) Prescribing Information «New Genetic Information May Help Providers Improve Initial Dosing Estimates of the Anticoagulant for Individual Patients». <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/2007/ucm108967.htm>

² Cascorbi I. The promises of personalized medicine. Eur J Clin Pharmacol. 2010 Aug;66(8):749-54.

Оглавление.

Оглавление.....	3
Предисловие.....	5
1. Персонализированная медицина: перспективы для оптимизации применения оральных антикоагулянтов.....	6
1.1. Персонализированная медицина — новая методология современного здравоохранения.....	6
1.2. Фармакогенетическое тестирование как инструмент персонализированной медицины.....	7
1.3. Предпосылки применения фармакогенетического тестирования для оптимизации применения оральных антикоагулянтов.....	11
2. Оральные антикоагулянты в клинической практике.....	14
2.1. Современные представления о фармакокинетике оральных антикоагулянтов.....	14
2.2. Современные представления о механизме действия оральных антикоагулянтов (фармакодинамика оральных антикоагулянтов).....	15
2.3. Доказательная база эффективности, показания к применению, подбор доз оральных антикоагулянтов.....	17
2.4. Кровотечения — основная проблема применения оральных антикоагулянтов.....	20
3. Факторы, влияющие на чувствительность пациентов к оральным антикоагулянтам.....	25
3.1. Модифицируемые и немодифицируемые факторы, определяющие чувствительность пациента к оральным антикоагулянтам.....	25
3.2. Генетические факторы, влияющие на чувствительность пациента к оральным антикоагулянтам.....	30
4. Практическое использование дозирования оральных антикоагулянтов с учетом результатов фармакогенетического тестирования.....	41
4.1. Алгоритмы дозирования варфарина с учетом результатов	

фармакогенетического тестирования.....	41
4.2. Выбор алгоритма дозирования варфарина с учетом результатов фармакогенетического тестирования для российских пациентов.....	46
4.3. Клинические преимущества дозирования варфарина на основе результатов фармакогенетического тестирования по сравнению с традиционным подходом.....	49
4.4. Экономические преимущества дозирования варфарина на основе результатов фармакогенетического тестирования перед традиционным подходом.....	53
4.5. Целесообразность применения фармакогенетического тестирования для персонализации применения варфарина в условиях реальной клинической практики.....	56
4.6. Дополнительная клиническая информация, которую может дать фармакогенетическое тестирование для персонализации дозирования варфарина.....	58
Заключение.....	62
Литература.....	64
ПРИЛОЖЕНИЕ 1. Схематический алгоритм применения фармакогенетического тестирования для персонализации дозирования варфарина у пациентов в условиях реальной клинической практики.....	72
ПРИЛОЖЕНИЕ 2. Информированное согласие пациента на проведение фармакогенетического тестирования.....	74
ПРИЛОЖЕНИЕ 3. Образцы врачебного направления и заключения фармакогенетического тестирования для персонализации дозирования варфарина.....	76
ПРИЛОЖЕНИЕ 4. Препараты, применение которых требует дополнительной коррекции дозы варфарина.....	79
Благодарности.....	81

Предисловие.

Методические рекомендации предназначены для врачей различных специальностей, использующих в своей клинической практике оральные антикоагулянты и стремящихся применять инновационные технологии, основанные на современных достижениях различных наук, в том числе молекулярной биологии. Такой технологией является фармакогенетическое тестирование для персонализации дозирования оральных антикоагулянтов, и в частности варфарина, для каждого конкретного пациента. Накопленные в настоящее время данные позволяют говорить о целесообразности проведения фармакогенетического тестирования в реальной клинической практике, что повышает эффективность и безопасность лечения пациентов, а также их приверженность врачебным назначениям, что является экономически оправданным и, следовательно, может приносить пользу пациентам. Подобное фармакогенетическое тестирование уже сейчас становится доступным для врачей и пациентов благодаря появлению диагностического набора «ФармакоГЕН-АКГ», позволяющего выполнять анализ в условиях любой ПЦР-лаборатории быстро и с высокой точностью.

Методические рекомендации написаны на основе не только современных литературных данных, но и собственного десятилетнего опыта проведения фармакогенетических исследований в клинических условиях. Инициатором наших исследований в области клинической фармакогенетики оральных антикоагулянтов являлся мой учитель, акад. РАМН, проф. В.Г. Кулес, который постоянно поддерживал и поддерживает проведение подобных исследований, за что ему сердечно благодарен. Хочу выразить искреннюю признательность моему другу и соратнику к.б.н. Игнатьеву, которым лично проводились все генетические исследования в наших научных работах. Я очень благодарен проф. Е.П. Панченко за плодотворное сотрудничество и многолетнюю поддержку нашей научной работы.

Хочу поблагодарить ООО «ГЕН» — разработчика и производителя диагностического набора «ФармакоГЕН-АКГ», по инициативе и при финансовой поддержке которого были созданы эти методические рекомендации.

Автор

1. Персонализированная медицина: перспективы для оптимизации применения оральных антикоагулянтов.

1.1. Персонализированная медицина — новая методология современного здравоохранения.

В настоящее время медицинская наука обладает современными методами профилактики (вакцинация, диспансерное наблюдение, диетические рекомендации, физические тренировки, медикаментозная профилактика и т. д.) и лечения (медикаментозное, хирургическое и др.) большинства заболеваний человека, эффективность которых подтверждена на основании методологии доказательной медицины [1]. Однако во всех странах мира сохраняется высокая частота развития неблагоприятных побочных реакций (НПР), в т.ч. и серьезных, приводящих к инвалидизации или даже смерти, причем в некоторых странах они выходят на 4–5 место по летальности [2]. Многочисленные фармакоэпидемиологические исследования также указывают на недостаточную эффективность лекарственных средств (ЛС) при различных заболеваниях: по данным ВОЗ, в среднем у 40% больных ЛС вообще не эффективны [3]. Очевидно, что эффективность и безопасность профилактических и лечебных методов зависит от индивидуальных особенностей, поэтому их применение требует индивидуального подхода к каждому конкретному человеку. Подобный адресный подход, лежащий в основе *персонализированной медицины*, позволит не только повысить эффективность и безопасность профилактических и медикаментозных мер, но и сократить расходы на дорогостоящие процедуры, применяя их только для целевых групп [4]. Необходимость персонализации лечебных методов осознавалась давно и являлась давней мечтой врачей с момента возникновения медицины, а слова М.Я. Мудрова о необходимости «лечить не болезнь по одному только ее имени, а самого больного», как нельзя лучше отражают суть персонализированной медицины. Персонализированная медицина — это методология использования геномных и молекулярных технологий для улучшения системы здравоохранения, облегчения создания и использования

медицинских продуктов (и, прежде всего ЛС), выявления предрасположенности к заболеваниям человека [5]. В отношении применения ЛС определение можно сформулировать так: персонализированная медицина — это принцип выбора ЛС и их доз в соответствии с индивидуальными результатами геномных и молекулярных исследований (технологий) [6]. Попытки разработать подходы к персонализации лечения предпринимались и ранее, но только при использовании достижений молекулярной медицины, и прежде всего молекулярной генетики, появились высокоэффективные технологии, благодаря которым персонализированная медицина становится реальностью [6].

Очевидно, что персонализация медикаментозной терапии позволяет говорить о том, что данный подход может оказать существенное влияние на демографическую ситуацию, позволит снизить затраты на неэффективные профилактические и лечебные мероприятия, а также коррекцию медикаментозных осложнений [7, 11, 13, 16]. Поэтому использование подобного подхода в практическом здравоохранении поощряется и поддерживается Еврокомиссией [7] и FDA [8].

1.2. Фармакогенетическое тестирование как инструмент персонализированной медицины.

Какие же инструменты персонализированной медицины позволяют индивидуализировано подойти к выбору ЛС и их доз? Это технологии, которые были разработаны еще в XX веке, но только сейчас становятся более или менее доступными для практического здравоохранения, хотя некоторые до сих пор являются делом будущего. Итак, к основным инструментам персонализированной медицины относятся:

- *Биомаркеры* — представляют собой вещества, которые тем или иным образом связаны с фармакокинетикой или фармакодинамикой ЛС или патогенезом заболевания, при котором ЛС применяются. К биомаркерам также относятся методы оценки активности ферментативных систем, участвующих в фармакокинетических и фармакодинамических процессах ЛС.
- *Фармакогенетическое тестирование* — выявление изменений (полиморфизмов) в генах, кодирующих белки, ответственные за фар-

макокинетику или фармакодинамику ЛС.

- *Фармакотранскриптомные технологии* — оценка экспрессии (работы) генов белков, ответственных за фармакокинетику или фармакодинамику ЛС, путем определения концентрации соответствующих мРНК [9].

В настоящее время основным инструментом персонализированной медицины является именно фармакогенетическое тестирование. Фармакогенетика — наука, изучающая роль генетических факторов в формировании фармакологического ответа организма человека на лекарственные средства (ЛС), позволяющая врачу выбрать как ЛС, так и его дозу индивидуально для каждого конкретного пациента, обеспечив максимально эффективную и безопасную фармакотерапию.

Предмет изучения фармакогенетики — наследственные различия, выражаемые в определенном фармакологическом ответе на ЛС (генетически детерминированный фармакологический ответ). Фармакогенетика — дисциплина, возникшая на стыке фармакологии и генетики. Хотя роль наследственности в формировании индивидуального ответа на ЛС была известна давно, понимание механизмов влияния генетических факторов на эффективность и безопасность фармакотерапии стало возможным лишь в связи с развитием методов молекулярной биологии и реализацией международной программы «Геном человека» [10].

Эти генетические факторы (а по сути, генетические особенности пациента), как правило, представляют собой полиморфные участки генов. Изменения в этих участках могут приводить к нарушениям работы гена: отсутствию синтеза белка, снижению или повышению синтеза неизмененного белка, синтезу белка со сниженной или повышенной активностью. Подобные изменения в полиморфных участках генов принято называть полиморфизмами или аллельными вариантами. К изменению фармакологического ответа может приводить наличие полиморфизмов в генах, кодирующих белки, которые принимают участие в фармакокинетике и фармакодинамике ЛС. К первой группе относятся гены, кодирующие ферменты биотрансформации и гены транспортеров, участвующих во всасывании, распределении и выведении лекарственных средств из организма (т.н. фармакокинетические полиморфизмы). В настоящее время активно изучается роль генов, контролирующих синтез и работу

ферментов биотрансформации лекарственных средств, в частности изоферментов цитохрома Р-450 (CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19) и ферментов II фазы биотрансформации (N-ацетилтрансферазы). В последние годы начато изучение влияния на фармакокинетику ЛС полиморфизма генов транспортеров ЛС. Ко второй группе отнесены гены, кодирующие молекулы-мишени ЛС или белки, функционально связанные с молекулами-мишенями (рецепторы, ферменты, ионные каналы), и гены, продукты которых вовлечены в патогенетические процессы (факторы свертывания крови, аполипопротеины и т. д.) (т. н. фармакодинамические полиморфизмы) [10].

Фармакогенетический тест — это процесс выявления конкретных полиморфизмов генов, влияющих на фармакологический ответ. Фармакогенетический тест, как правило, проводится с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) после предварительного выделения ДНК пациента. При этом в качестве источника ДНК (т.е. генетического материала) используется или кровь пациента или соскоб буккального эпителия. Такой фармакогенетический тест позволяет выявить генотип пациента по тому или иному полиморфизму гена. Интерпретирует результаты фармакогенетического теста, как правило, врач — клинический фармаколог. Применение таких тестов позволяет заранее прогнозировать фармакологический ответ на ЛС, персонализированно подойти к выбору ЛС и его режима дозирования, а, в некоторых случаях, и к тактике ведения пациентов. Фармакогенетика, а в будущем и фармакогеномика, рассматриваются в литературе как перспективные направления персонализированной медицины [10].

В настоящее время фармакогенетическое тестирование в клинической практике целесообразно проводить в следующих ситуациях [10]:

- При длительном применении ЛС с большим спектром и выраженностью НПР (в т. ч. ЛС с узким терапевтическим диапазоном), особенно у больных с высоким риском развития НПР.
- При наличии семейного анамнеза по развитию серьезных НПР.
- При применении ЛС, эффективных у ограниченного числа больных, особенно дорогостоящих ЛС.

Фармакогенетика является активно развивающейся наукой: примерно для 50% всех применяемых в клинической практике ЛС уже получена

генетическая информация, проведены исследования ассоциаций между полиморфизмами тех или иных генов и фармакологическим ответом на ЛС (развитие НПР, неэффективность или, наоборот, высокая эффективность). Создан крупнейший интернет-ресурс по клинической фармакогенетике, на котором собраны результаты всех проведенных фармакогенетических исследований, при этом возможен их удобный поиск как по международному непатентованному названию ЛС, так и по названию гена (<http://www.pharmgkb.org>).

Однако не любая генетическая информация о ЛС может стать фармакогенетическим тестом, который может применяться в клинической практике. Для того чтобы это произошло, фармакогенетический тест должен отвечать следующим требованиям [10]:

- Наличие выраженной ассоциации между выявляемым полиморфизмом того или иного гена и фармакологическим ответом (развитие НПР, недостаточная эффективность или высокая эффективность).
- Должен быть хорошо разработан алгоритм применения ЛС в зависимости от результатов фармакогенетического теста: выбор ЛС, его режима дозирования.
- Выявляемый полиморфизм должен встречаться в популяции с частотой не менее 1%.
- Должны быть доказаны преимущества применения ЛС с использованием результатов фармакогенетического теста по сравнению с традиционным подходом: повышение эффективности, безопасности фармакотерапии и экономическая рентабельность подобного подхода.
- Фармакогенетический тест должен быть доступен пациентам и врачам, т. е. фармакогенетический тест должен проводиться на базе лаборатории лечебно-профилактических учреждений (ЛПУ) или коммерческих лабораторий, что может быть осуществлено с помощью специальных диагностических наборов.

В настоящее время этим требованиям удовлетворяет ограниченное количество фармакогенетических тестов, применение которых в клинической практике разрешено в большинстве стран мира и регламентировано в инструкциях и типовых клинико-фармакологических статьях

(ТКФС). К их числу относится фармакогенетическое тестирование для персонализации дозирования оральных антикоагулянтов, и в частности варфарина, применяемых для лечения и профилактики тромботических осложнений.

1.3. Предпосылки применения фармакогенетического тестирования для оптимизации применения оральных антикоагулянтов.

В настоящее время тромботические осложнения, такие как ишемический инсульт и тромбоэмболия легочной артерии, являются одной из ведущих причин сердечно-сосудистой смертности, инвалидизации и госпитализации. На сегодняшний день единственным методом лечения, снижающим частоту тромботических осложнений, включая ишемические инсульты, является длительное применение ЛС из группы оральных антикоагулянтов: варфарина, аценокумарола и фенилина. В России по состоянию на сентябрь 2010 года зарегистрирован один препарат аценокумарола (Синкумар, производитель — ICN Алколоида, Венгрия), один препарат фенилина (Фенилин, производитель — Здоровье, Украина) и шесть препаратов варфарина, наиболее часто из которых применяется препарат «Варфарин Никомед»:

- Варфарин Никомед (производитель — Никомед, Дания);
- Варфарекс (производитель — Гриндекс, Латвия);
- Мареван (производитель — Орион, Финляндия);
- Варфарин (производитель — Канонфарма, Россия);
- Варфарин натрия (производитель — Янчжоу, Китай);
- Варфарина натрия клатрат (производитель — Фармак, Чехия)³.

Многочисленные рандомизированные исследования и мета-анализы, выполненные в соответствии с методологией доказательной медицины, показывают, что оральные антикоагулянты снижают риск ишемического инсульта, в т. ч. и фатального, у больных с высоким риском тромботических осложнений. Так, например, варфарин снижает риск ишемического инсульта у больных с постоянной формой мерцательной аритмии на 41%, а у больных с протезированными клапанами сердца — на 75%. Однако этот результат достигается, только если эти препараты

³ Информация с сайта «Обращение лекарственных средств». <http://www.regmed.ru>

обеспечивают необходимый уровень гипокоагуляции, что осуществляется путем сложного подбора дозы препаратов под контролем коагулогического показателя — международного нормализованного отношения (МНО). Кроме того, даже при тщательном подборе дозы орального антикоагулянта под контролем МНО на фоне лечения у больного возможно развитие неблагоприятных реакций в виде кровотечений (до 30% в год), чаще не опасных (носовые кровотечения, кровоизлияния в кожу, гематурия), но иногда и опасных для жизни (0,5% в год): кровоизлияния в мозг, желудочно-кишечное кровотечение и т. д. Риск кровотечений при неадекватном применении оральных антикоагулянтов резко возрастает из-за некомпетентности врачей или пациентов. Кровотечения, вызванные оральными антикоагулянтами, также могут приводить к дополнительным расходам за счет дополнительных визитов к врачу, анализов, госпитализации или ее продления. Именно сложность подбора дозы оральных антикоагулянтов, недоступность контроля МНО, боязнь кровотечений являются основными причинами того, что эти препараты редко применяются в России. Так, по зарубежным данным, от 2 до 5% населения нуждаются в постоянной антикоагулянтной терапии, из них принимают эти препараты не больше 10%. С этих позиций фармакогенетическое тестирование для персонализации дозирования оральных антикоагулянтов, и в частности варфарина, можно рассматривать как перспективный подход, который позволяет повысить эффективность и безопасность применения данной группы ЛС, повысить приверженность больных к лечению и, в конечном итоге, снизить частоту развития осложнений антикоагулянтной терапии.

Резюме к главе

«Персонализированная медицина: перспективы для оптимизации применения оральных антикоагулянтов».

- Персонализированная медицина подразумевает использование врачом тактики выбора ЛС и их доз исходя из индивидуальных особенностей конкретного пациента, выявляемых с помощью молекулярно-генетических методов.
- Наиболее перспективным в клинической практике инструментом персонализированной медицины является фармакогенетическое тестирование, при котором могут быть выявлены генетические особенности пациента, обуславливающие ответ на то или иное ЛС (эффективность / неэффективность / развитие НПР). Эти генетические особенности пациентов представляют собой полиморфизмы в генах, кодирующих белки, участвующие в фармакокинетике (ферменты метаболизма ЛС, транспортеры) и фармакодинамике (молекулы-мишени для ЛС).
- Фармакогенетическое тестирование целесообразно применять в клинической практике только при определенных условиях, и его проведение в наибольшей степени необходимо в случае высокоэффективных ЛС, при применении которых могут часто развиваться НПР, в т. ч. и серьезные. К таким ЛС относятся оральные антикоагулянты (варфарин, аценокумарол, фенилин).

2. Оральные антикоагулянты в клинической практике.

2.1. Современные представления о фармакокинетике оральных антикоагулянтов.

Фармакокинетика непрямых антикоагулянтов описывает процессы их всасывания, распределения, метаболизма и выведения, т. е. процессы движения в организме.

Наиболее часто используемый антикоагулянт варфарин представляет собой рацемическую смесь стереоизомеров, включающую R-варфарин и S-варфарин. S-варфарин в 3–5 раз активнее чем R-варфарин блокирует молекулу-мишень, субъединицу 1 витамин К эпоксидредуктазного комплекса (VKORC1), в печени, что обуславливает развитие антикоагулянтного эффекта. Аценокумарол также представляет собой рацемическую смесь стереоизомеров, включающую R-аценокумарол и S-аценокумарол, обладающие одинаковой активностью: оба в равной степени блокируют молекулу-мишень.

Особенности фармакокинетики варфарина. Стереоизомеры варфарина метаболизируются различными ферментами I фазы биотрансформации [4] (Рисунок 1):

- S-варфарин в основном метаболизируется CYP2C9;
- R-варфарин метаболизируется CYP3A4 и в меньшей степени CYP1A1, CYP1A2, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C18 и CYP2C19.

Роль ферментов II фазы биотрансформации в метаболизме варфарина изучена мало. Есть данные, что варфарин является субстратом Р-гликопротеина (ABCB1, кодируется геном *MDR1*).

Особенности фармакокинетики аценокумарола. Стереоизомеры аценокумарола метаболизируются различными ферментами I фазы биотрансформации [4]:

- S-аценокумарол метаболизируется в основном CYP2C9;
- R-аценокумарол метаболизируется CYP1A2, CYP3A4, CYP2C9, CYP2C19.

Есть данные, что аценокумарол также может являться субстратом Р-гликопротеина.

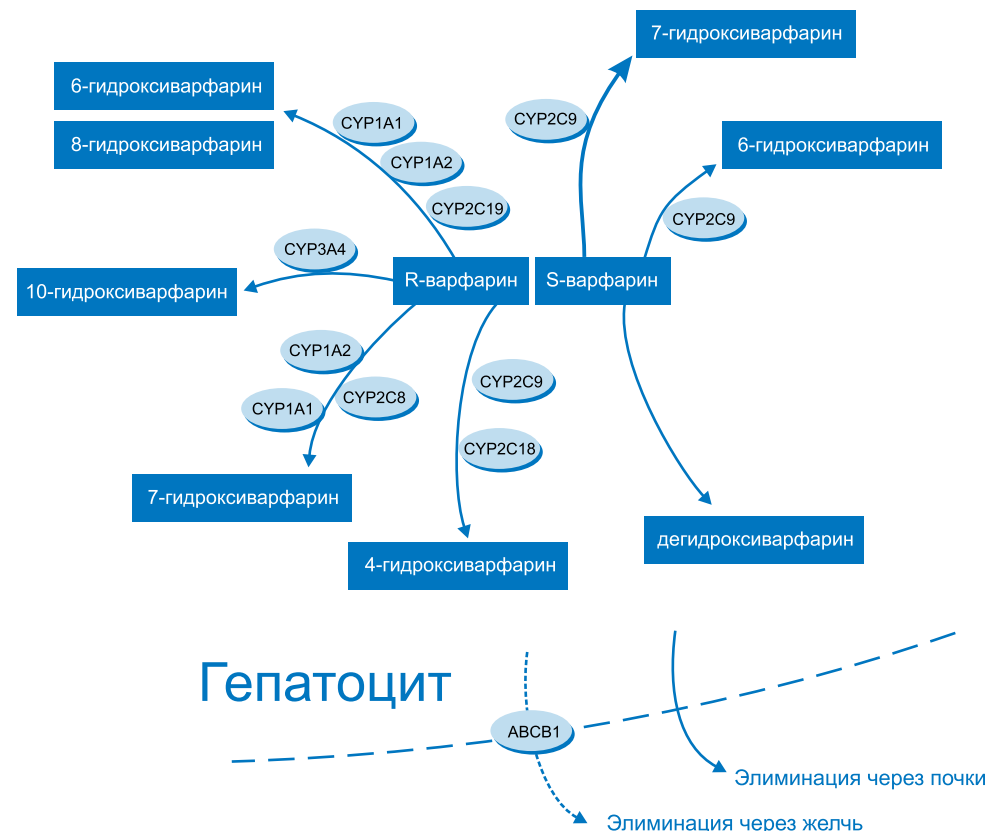


Рисунок 1. Молекулярные аспекты фармакокинетики варфарина.

2.2. Современные представления о механизме действия оральных антикоагулянтов (фармакодинамика оральных антикоагулянтов).

Фармакодинамика ЛС описывает как то или иное ЛС влияет на организм пациента, т. е. механизм действия. Молекула-мишень для оральных антикоагулянтов — VKORC1 — является компонентом витамин К эпоксидредуктазного комплекса, который катализирует процесс восстановления витамина К1 (переход витамина К1 эпоксида в витамин К1 гидрохинон) с участием в качестве кофактора НАД-Н (переходит в НАД+). В свою очередь, восстановленный витамин К является кофактором рабо-

ты фермента гамма-глутарил карбоксилазы (GGCX), осуществляющего посттрансляционное γ -карбоксилирование глутамат-содержащих белков из белков-предшественников (Рисунок 2):

- витамин К-зависимых белков системы свертывания крови: факторов свертывания крови II (тромбин, F2), VII (F7), IX (F9), X (F10); компонентов противосвертывающей системы — протеинов С (протеин С циркулирует в виде профермента и активируется на эндотелии комплексом тромбин/тромбомодулин в активную форму), S и Z.
- белки костного метаболизма (BGLAP), тканевого матрикса (MGP), апоптоза (GAS6).

Регулятором активности GGCX является белок калюменин (CALU).

Механизм действия оральных антикоагулянтов связан с угнетением процесса восстановления витамина К за счет блокады VKORC1. Это приводит к снижению степени посттрансляционного γ -карбоксилирования белков системы свертывания крови — II (F2), VII (F7), IX (F9), X (F10) факторов. Чрезмерное угнетение образования указанных факторов свертывания может привести к геморрагическим осложнениям. Угнетение образования противосвертывающих протеинов С, S и Z, которое происходит в первые дни после начала применения оральных антикоагулянтов, является механизмом развития другой неблагоприятной реакции данной группы лекарственных средств — некрозов кожи.

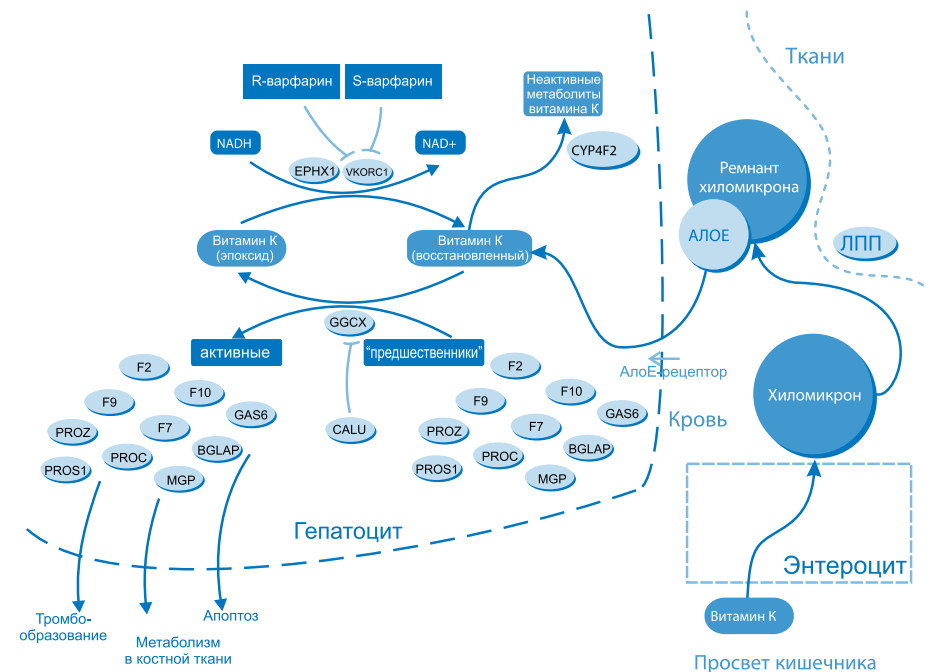


Рисунок 2. Молекулярные аспекты фармакодинамики варфарина.

2.3. Доказательная база эффективности, показания к применению, подбор доз оральных антикоагулянтов.

В настоящее время оральные антикоагулянты занимают лидирующие позиции в качестве препаратов выбора для профилактики тромботических осложнений сердечно-сосудистых заболеваний. Данные ЛС обладают хорошей доказательной базой, основанной на результатах мультицентровых рандомизированных клинических исследований, обуславливающей их широкое применение для лечения и профилактики заболеваний сердечно-сосудистой системы (Таблица 1). В частности, доказанной является эффективность оральных антикоагулянтов для первичной и вторичной профилактики тромбоэмболических осложнений у больных с мерцательной аритмией и непосредственно ишемического инсульта, как наиболее частого из них (91% всех случаев — Framingham, Shibata, Whitehall). Анализ объединенной базы исследований по антитромботической терапии в

сравнении с плацебо показал, что терапия варфарином снижает риск всех инсультов более эффективно (на 62%), по сравнению с ацетилсалициловой кислотой (22%) [11].

Таблица 1. Клинические исследования варфарина, применяемого для профилактики ишемического инсульта [12].

Исследование	Частота инсульта		Снижение от-носительного риска	p
	Варфарин	Контроль		
AFASAK-1	2,7	6,2	56%	p<0,005
SPAF-1	2,3	7,4	67%	p=0,001
BAATAF	0,4	3,0	86%	p=0,002
SPINAF	0,9	4,3	79%	p=0,001
EAFT	8,5	16,5	47%	p=0,001

Применение оральных антикоагулянтов остается актуальным в случаях любой профилактики и лечения тромбозов, венозных и артериальных тромбозов и эмболий.

В 2003 году национальный институт здоровья США досрочно закончил широкомасштабное, мультицентровое исследование (PREVENT), в котором была доказана эффективность варфарина в плане профилактики венозных тромбозов. Допускается также применение оральных антикоагулянтов и при инфаркте миокарда, и в послеоперационном периоде — при наличии противопоказаний к применению гепарина.

Следует отметить, что варфарин обладает наилучшей доказательной базой эффективности. Меньшее количество рандомизированных клинических исследований проведено с аценокумаролом. Качественных рандомизированных клинических исследований по изучению эффективности и безопасности фенилина не проводилось.

Таким образом, с позиции доказательной медицины, регламентированы следующие показания к применению оральных антикоагулянтов:

- профилактика тромбоэмболических осложнений у пациентов с фибрилляцией предсердий или с протезированными клапанами

сердца;

- лечение и профилактика тромбозов и эмболии кровеносных сосудов: острого и рецидивирующего венозного тромбоза, эмболии легочной артерии;
- вторичная профилактика инфаркта миокарда и профилактика тромбоэмболических осложнений после инфаркта миокарда;
- лечение и профилактика преходящих ишемических атак и инсультов;
- профилактика послеоперационных тромбозов.

Низкая предсказуемость эффекта оральных антикоагулянтов при их фиксированном дозировании определяет необходимость коагулологического контроля при их применении.

Таблица 2. Традиционный алгоритм подбора дозы варфарина в соответствии с инструкцией по его медицинскому применению.

1 день	2 таблетки (5мг) однократно вечером после ужина *	
2 день	2 таблетки (5мг) однократно вечером после ужина	
3 день	МНО <1,5	Увеличить суточную дозу на 1/2 таблетки. МНО через 2 дня
4 день	МНО 1,5-2,0	Увеличить суточную дозу на 1/2 таблетки. МНО через 2 дня
	МНО 2,0-3,0**	Оставить суточную дозу без изменений. МНО через 2 дня
	МНО 3,0-4,0	Уменьшить суточную дозу на 1/4 таблетки. МНО через 2 дня
	МНО >4,0	Пропустить один прием, далее суточную дозу уменьшить на 1/2 таблетки. МНО через 2 дня
5 день	Утром определить МНО. Взять анализ мочи по Нечипоренко. Действия по алгоритму третьего дня. Если подбор дозы занимает более 5 дней, дальнейшая кратность МНО 1 раз в день и алгоритм третьего дня.	
* насыщающая доза может быть уменьшена, если возраст больного превышает 70 лет, содержание белка в сыворотке крови менее 60 г/л или масса тела больного менее 60 кг.		
** Для больных после операции имплантации искусственных клапанов сердца целевой диапазон МНО 2,5-3,5, при этом используется аналогичный алгоритм насыщения.		

К настоящему моменту во всем мире для коагулологического контроля при использовании оральных антикоагулянтов применяется метод мониторинга МНО. Для варфарина методика подбора дозы, регламентированная инструкцией по его медицинскому применению, представлена в таблице 2. Для аценокумарола подбор дозы аналогичен, с той лишь разницей, что начальная доза составляет 8 мг в сутки (2 таблетки по 4 мг). Разработаны экспресс методики определения МНО при заборе небольшого количества капиллярной крови. Многочисленные клинические исследования позволили установить баланс между эффективной терапией и риском развития осложнений. Он выражен в трех терапевтических диапазонах значения МНО — от 2,0 до 3,0 (для всех больных, в том числе и с фибрилляцией предсердий), от 2,5 до 3,5 (для больных с протезами сердечного клапана), и в некоторых случаях — от 1,8 до 2,0 (если больной старше 70 лет). Дозирование оральных антикоагулянтов, используемое для достижения этих уровней МНО, значительно варьирует у различных пациентов, что связано с влиянием на действие оральных антикоагулянтов различных факторов (см. ниже).

2.4. Кровотечения — основная проблема применения оральных антикоагулянтов.

Частота кровотечений при применении оральных антикоагулянтов составляет от 9 до 26,5%, из них обильных, т. е. требующих переливания крови, хирургического вмешательства или повлекших за собой смерть больного (желудочно-кишечное кровотечение, геморрагический инсульт), от 0,3 до 4,2% в год [12]. Классификация кровотечений, вызванных непрямыми антикоагулянтами, представлена в таблице 3. При этом наиболее часто кровотечения развиваются в первый месяц после начала применения варфарина.

Таблица 3. Классификация кровотечений, вызванных непрямыми антикоагулянтами [13].

Большие кровотечения	Фатальные	— повлекло за собой смерть больного и не могло развиваться без приема оральных антикоагулянтов.
	Жизнеугрожающие	— привело к нарушениям сердечной и дыхательной деятельности; — потребовало проведения хирургического или ангиографического вмешательства; — привело к таким необратимым последствиям, как инфаркт миокарда, инсульт, слепота, гемоторакс.
	Серьезные	— желудочно-кишечное кровотечение явное или скрытое, выявленное при эндоскопическом исследовании; — гематурия, продолжавшаяся более 2 суток или потребовавшая проведение цистоскопии или внутривенной урографии; — кровохарканье; — кровотечение, потребовавшее переливания не менее 2 доз крови.
Малые кровотечения	Любые внутренние кровотечения, которые не потребовали госпитализации, дополнительного обследования и лечения (гематурия, геморроидальное кровотечение, подкожные гематомы, носовые субконъюнктивальные кровоизлияния, кровоточивость десен, кровотечение после экстракции зуба, микрогематурия, незначительное появление крови в кале).	

Механизм развития кровотечений при применении оральных антикоагулянтов можно представить следующим образом. Вследствие повышения концентрации орального антикоагулянта в плазме крови, повышения чувствительности т. н. витамин К эпоксидредуктазного комплекса (VKOR) или снижения поступления в организм витамина К происходит усиление антикоагулянтного эффекта препарата, механизм которого связан с влиянием на превращение эпоксидов витамина К за счет инги-

бирования VKOR. Это приводит к снижению степени посттрансляционного γ -карбоксилирования витамин К-зависимых белков системы свертывания крови — факторов VII, IX, X и протромбина (фактор II), а также компонентов системы противосвертывания — протеинов C, S и Z. Белки, образующиеся на фоне приема орального антикоагулянта, обладают сниженной активностью в кальций-зависимых реакциях, протекающих на поверхности фосфолипидов, следствием чего является антикоагулянтный эффект (проявляется в виде увеличения значений МНО), чрезмерное проявление которого приводит к кровотечениям.

Следует отметить, что повышение МНО более 3,0 не дает дополнительных преимуществ в эффективности профилактики, но увеличивает риск внутричерепного кровоизлияния почти в два с половиной раза, а при МНО от 4,0 до 6,0 — этот риск увеличивается в 16 раз. По данным исследования SPIRIT риск внутричерепного кровоизлияния возрастает в 1,37 раза при увеличении МНО на каждые 0,5 единицы выше терапевтического диапазона [14]. Однако не все развивающиеся кровотечения можно связать с повышением уровня МНО. Так 30–40% кровотечений, в т. ч. и больших, происходит на фоне терапевтического диапазона МНО. Увеличению уровня МНО выше 4 на фоне применения варфарина способствуют различные факторы, учет которых может влиять на расчет риска развития кровотечений у конкретного больного [12].

В настоящее время разработан алгоритм ведения пациентов с кровотечениями и чрезмерным увеличением МНО на фоне применения оральных антикоагулянтов (Таблица 4).

Таблица 4. Алгоритм ведения пациентов с кровотечениями и чрезмерным увеличением МНО при применении варфарина [12].

Уровень МНО	Рекомендации
В случае незначительного кровотечения	
<5,0	Пропустить следующую дозу варфарина и продолжать прием более низких доз при достижении терапевтического уровня МНО
5,0–9,0	Пропустить 1–2 дозы варфарина и продолжать прием более низких доз при достижении терапевтического уровня МНО. ЛИБО: Пропустить 1 дозу варфарина и назначить витамин К в дозах 1–2,5 мг перорально.
>9,0	Прекратить прием варфарина, назначить витамин К в дозах 3,0–5,0 мг перорально.
Показана отмена препарата	
5,0–9,0 — планируется операция	Прекратить прием варфарина и назначать витамин К в дозах 2–4 мг перорально (за 24 часа до планируемой операции)
> 20,0 или сильное кровотечение	Назначить витамин К в дозах 10 мг путем медленной внутривенной инфузии. Переливание концентратов факторов протромбинового комплекса или свежезамороженной плазмы, или цельной крови. При необходимости повторное введение витамина К каждые 12 часов.

Резюме к главе

«Оральные антикоагулянты в клинической практике»

- Механизм действия оральных антикоагулянтов связан с блокадой в печени субъединицы 1 витамин К эпоксидредуктазного комплекса (VKORC1 — молекула-мишень для оральных антикоагулянтов), что тормозит образование факторов свертывания крови (II, VII, IX, X).
- Основным ферментом метаболизма варфарина и аценокумарола является изофермент цитохрома P-450 2C9 (CYP2C9), который превращает их в печени в неактивные метаболиты.
- В многочисленных рандомизированных клинических исследованиях доказано, что оральные антикоагулянты снижают риск тромботических осложнений, и прежде всего ишемического инсульта, у пациентов с постоянной формой фибрилляции предсердий, протезированными клапанами сердца, тромбозами глубоких вен голени и другими состояниями, сопровождающимися высоким риском тромботических осложнений. При этом наиболее полной доказательной базой эффективности обладает варфарин, меньшее количество рандомизированных клинических исследований проведено с аценокумаролом, качественных рандомизированных клинических исследований по изучению эффективности и безопасности фенилина не проводилось.
- Подбор поддерживающей дозы оральных антикоагулянтов проводят индивидуально по показателю МНО, регламентированному в инструкциях по медицинскому применению препаратов.
- Основной проблемой применения оральных антикоагулянтов является частое развитие кровотечений (до 26,5%) в т. ч. и больших кровотечений, опасных для жизни, таких как желудочно-кишечные кровотечения и кровоизлияние в мозг — до 4,2% в год. Это ограничивает широкое применение этой высокоэффективной группы ЛС.

3. Факторы, влияющие на чувствительность пациентов к оральным антикоагулянтам.

3.1. Модифицируемые и немодифицируемые факторы, определяющие чувствительность пациента к оральным антикоагулянтам.

Как указывалось выше, разные пациенты характеризуются различной индивидуальной чувствительностью к оральным антикоагулянтам, что определяет большой разброс в поддерживающих дозах препаратов, обеспечивающих адекватный уровень гипокоагуляции (нахождение МНО в пределах терапевтического диапазона). Например, для варфарина величина поддерживающей дозы может колебаться от 0,625 мг в сутки до 20 мг в сутки и выше. При этом, если поддерживающая доза варфарина составляет менее 1 мг в сутки, говорят о высокой чувствительности пациента к варфарину, а если более 15 мг в сутки — о резистентности к варфарину или кумаринорезистентности (Рисунок 3).



Рисунок 3. Распределение пациентов по величине поддерживающей дозы варфарина.

Это связано с влиянием различных факторов (*Рисунок 4*), определяющих чувствительность пациента к оральным антикоагулянтам, которые условно можно разделить на 2 группы:

• **Модифицируемые факторы:**

1. Индекс массы тела. Чем выше индекс массы тела пациента (отношение веса пациента в килограммах к квадрату роста пациента в метрах), тем выше требуется поддерживающая доза орального антикоагулянта.
2. Сопутствующие заболевания, такие как заболевания почек (особенно с нарушениями функции почек, о чем судят по снижению клиренса креатинина), печени (особенно сопровождающиеся повышением активности АСТ, АЛТ), сердечная недостаточность, сахарный диабет, злокачественные новообразования, артериальная гипертензия (особенно нескоррегированная), анемия и некоторые другие заболевания и состояния могут повышать чувствительность пациента к оральным антикоагулянтам.
3. Совместно применяемые ЛС. Оральные антикоагулянты и, в частности, варфарин, могут взаимодействовать с большим числом ЛС, включая фитопрепараты. Следует избегать одновременного применения варфарина с препаратами, угнетающими систему гемостаза (фармакодинамическое взаимодействие): клопидогрел, ацетилсалициловая кислота, тиклопидин, дипиридамо, большинство нестероидных противовоспалительных средств (за исключением ингибиторов циклооксигеназы-2) — так как их совместный прием приводит к повышению риска кровотечений. Также следует избегать сочетанного применения варфарина с препаратами, обладающими выраженным ингибирующим действием на CYP2C9 (циметидин, хлорамфеникол, сульфаниламиды), поскольку при их приеме в течение нескольких дней увеличивается опасность кровотечения за счет угнетения биотрансформации варфарина и увеличения его концентрации в плазме крови.

При применении ряда препаратов требуется усиление контроля безопасности или эффективности терапии варфарином путём увеличения частоты измерения МНО с соответствующей коррекцией дозы

варфарина. Список этих препаратов представлен в приложении 5.

4. Пища. Пища, богатая витамином К, ослабляет действие варфарина и других оральных антикоагулянтов; уменьшение абсорбции витамина К, вызванное диареей или приемом слабительных средств, потенцирует действие варфарина. Больше всего витамина К содержится в зеленых овощах, поэтому при лечении варфарином следует с осторожностью употреблять в пищу следующие продукты: зелень амаранта, авокадо, капуста брокколи, брюссельская капуста, белокочанная капуста, масло канولا, лист шайо, лук, кориандр (кинза), огуречная кожура, цикорий, плоды киви, салат-латук, мята, зеленая горчица, оливковое масло, петрушка, горох, фисташки, красные морские водоросли, зелень шпината, весенний лук, соевые бобы, листья чая (но не чай-напиток), зелень репы, кресс-салат. Имеются описание клинических случаев повышения чувствительности к варфарину при его совместном применении с клюквенным соком.
5. Вредные привычки. Прием больших доз алкоголя может повысить чувствительность пациента к оральным антикоагулянтам, увеличивая риск кровотечений. Курильщикам, как правило, необходима большая поддерживающая доза оральных антикоагулянтов, чем некурящим пациентам.

• **Немодифицируемые факторы:**

1. Пол пациента. Женщины более чувствительны к оральным антикоагулянтам, чем мужчины: им требуется меньшая по сравнению с мужчинами поддерживающая доза оральных антикоагулянтов.
2. Возраст. С возрастом чувствительность к оральным антикоагулянтам увеличивается: чем старше пациент, тем меньшая поддерживающая доза ему необходима.
3. Генетические особенности. По данным разных авторов, генетические особенности пациента могут вносить наибольший вклад в формирование индивидуальной реакции на оральные антикоагулянты — от 50 до 90%, о чем более подробно речь пойдет ниже.



Рисунок 4. Факторы, влияющие на чувствительность пациентов к оральным антикоагулянтам и определяющие ответ пациента на терапию.

Детальное изучение вклада различных факторов в формировании индивидуального ответа на оральные антикоагулянты привело к разработке нескольких шкал для оценки риска кровотечений при применении оральных антикоагулянтов, которые каждый врач может использовать в своей клинической практике. Так, риск развития кровотечений при применении варфарина можно рассчитать по нескольким шкалам, наиболее часто из которых применяются 2 шкалы: CRUSADE и HEMORR₂HAGES [15, 16]. При расчете риска развития кровотечения по шкале CRUSADE (Таблица 5) выделяются следующие категории риска крупного кровотечения во время госпитализации: очень низкий риск (≤ 20 баллов), низкий риск (21–30 баллов), умеренный риск (31–40 баллов), высокий риск (41–50 баллов) и очень высокий риск (>50 баллов). Возможную частоту больших кровотечений при применении оральных антикоагулянтов в зависимости от количества баллов по шкале CRUSADE можно определить по номограмме (Рисунок 5).

Таблица 5. Шкала CRUSADE для определения риска развития кровотечений при применении оральных антикоагулянтов [15].

Показатель (предиктор)	Интервал значений	Баллы
Исходный гематокрит (%)	< 31	9
	31–33,9	7
	34–36,9	3
	37–39,9	2
	≥ 40	0
Клиренс креатинина*	≤ 15	39
	$>15-30$	35
	$>30-60$	28
	$>60-90$	17
	$>90-120$	7
Частота сердечных сокращений (уд/мин)	>120	0
	≤ 70	0
	71–80	1
	81–90	3
	91–100	6
	101–110	8
	111–120	10
Пол	≥ 121	11
	Мужской	0
Признаки застойной сердечной недостаточности	Женский	8
	Нет	0
Предшествующее заболевание сосудов	Да	7
	Нет	0
Сахарный диабет	Да	6
	Нет	0
Систолическое артериальное давление (мм рт. ст.)	≤ 90	10
	91–100	8
	101–120	5
	121–180	1
	181–200	3
	≥ 201	5

Примечание: * — Клиренс креатинина по Cockcroft-Gault;

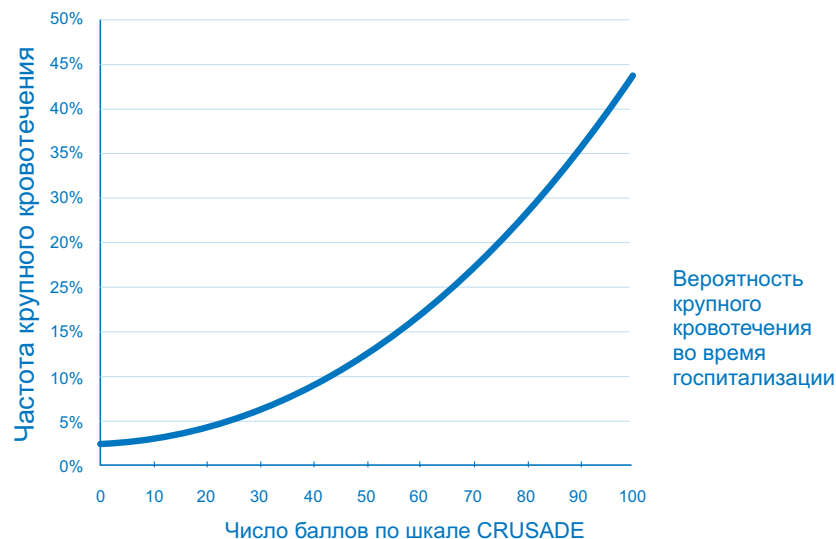


Рисунок 5. Номограмма для определения возможной частоты кровотечений при применении оральных антикоагулянтов в зависимости от количества баллов по шкале CRUSADE [15].

Шкала HEMORR₂HAGES (Таблица 6) также учитывает и генетические особенности пациента (носительство аллелей CYP2C9*2 и/или CYP2C9*3, см. ниже). Суммировав количество баллов в зависимости от наличия факторов риска, получают значение коэффициента HEMORR₂HAGES, по которому можно определить относительный риск развития кровотечений при применении варфарина у конкретного пациента (Таблица 7).

Таблица 6. Шкала оценки HEMORR₂HAGES риска развития кровотечений при применении оральных антикоагулянтов [16].

Факторы риска HEMORR ₂ HAGES (количество баллов)	Объяснение
Патология печени (1)	Заболевания печени: цирроз печени, двукратно и более возросший уровень трансаминаз АЛТ или АСТ, или альбумин < 3,6 г/дл
Заболевания почек (1)	Хроническая почечная недостаточность: с клиренсом креатинина < 30 мл/мин
Алкоголизм (1)	Лица со стажем употребления алкоголя, обострением токсического заболевания печени
Малигнизация (1)	Недавно выявленные метастазы
Возраст (1)	75 лет и старше
Тромбоцитопения (1)	Тромбоциты < 75,000
Функциональные снижения свертывания крови (1)	Наличие терапии НПВС (ежедневное употребление аспирина); заболевания крови
Повторные кровотечения (2)	Кровотечения в анамнезе
Артериальная гипертензия (1)	Нескорректированное АД. Последние цифры систолического АД ≥160 мм рт. ст.
Анемия (1)	Гематокрит в последнем анализе < 30 или гемоглобин < 10 г/дл
Генетический фактор (1)	Носительство аллельных вариантов CYP2C9*2 и/или CYP2C9*3
Пожилые люди с высокой вероятностью падений, включая лиц с психоневрологической симптоматикой (1)	Болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, сосудистая деменция, шизофрения и другие заболевания, предрасполагающие к частым падениям
Тромботические осложнения (1)	Наличие транзиторных ишемических атак, ишемических инсультов

Таблица 7. Относительный риск кровотечений при применении оральных антикоагулянтов в зависимости от значения коэффициента $HEMORR_2HAGES$ [16].

Значение коэффициента $HEMORR_2HAGES$ в баллах	Относительный риск кровотечений при терапии варфарином (95% доверительный интервал)
0	1,9 (0,6–4,4) — очень низкий риск
1	2,5 (1,3–4,3) — низкий риск
2	5,3 (3,4–8,1) — умеренный риск
3	8,4 (4,9–13,6) — высокий риск
4	10,4 (5,1–18,9) — высокий риск
≥5	12,3 (5,8–23,1) — очень высокий риск

3.2. Генетические факторы, влияющие на чувствительность пациента к оральным антикоагулянтам.

Как указывалось выше, в настоящее время генетические особенности человека расцениваются как ведущий фактор, определяющий чувствительность пациента к оральным антикоагулянтам, а, следовательно, обуславливающий и величину поддерживающей дозы орального антикоагулянта, например варфарина. Эти генетические факторы, как правило, представляют собой полиморфные участки генов белков, участвующих в фармакокинетике или фармакодинамике оральных антикоагулянтов (см. раздел 2.1 и 2.2). Поэтому для понимания влияния полиморфизма тех или иных генов на развитие индивидуального ответа на оральные антикоагулянты важно представлять роль каждого из продуктов рассматриваемых генов в фармакокинетике и фармакодинамике данной группы ЛС (Рисунок 6).



Рисунок 6. Гены, полиморфизмы которых могут влиять на формирование индивидуального ответа на оральные антикоагулянты.

Полиморфизм CYP2C9. CYP2C9 — главный фермент метаболизма оральных антикоагулянтов (варфарина, аценокумарола), многих НПВС (за исключением ацетилсалициловой кислоты), в том числе селективных ингибиторов ЦОГ-2, ингибиторов ангиотензиновых рецепторов (лозартана и ирбесартана), пероральных гипогликемических ЛС (производных сульфонилмочевины), фенитоина, флувастатина и др.

Ген CYP2C9 локализован на 10 хромосоме (локус 10q24), его длина составляет 55 000 пар оснований (п.о.). На сегодняшний день для данного гена выявлено более 20 аллельных вариантов или полиморфизмов (Таблица 8). Самым распространенным аллельным вариантом является $CYP2C9^*1$ (аллель дикого типа). У лиц, в генотипе которых присутствуют только аллели дикого типа, метаболизм оральных антикоагулянтов проходит с нормальной интенсивностью, а среднетерапевтические дозы и уровни МНО являются для таких людей наиболее приемлемыми. Самыми распространенными и хорошо изученными вариациями в плане влияния на лекарственный ответ при применении варфарина, являются аллели $CYP2C9^*1$, $CYP2C9^*2$ и $CYP2C9^*3$ [17]. Так, в России носителями аллельных вариантов $CYP2C9^*2$ и $CYP2C9^*3$ является до 35% населения [18, 19]. Пациенты-носители аллельных вариантов $CYP2C9^*2$ и $CYP2C9^*3$ (аминокислотные замены Arg144Cys и Ile359Leu, соответственно) различаются по скорости метаболизма оральных антикоагулянтов, а также дру-

гих ЛС-субстратов *CYP2C9*. Так, у гомозигот *CYP2C9*2/*2* и *CYP2C9*3/*3* метаболизм варфарина снижен в большей степени, чем у гетерозигот *CYP2C9*1/*2* и *CYP2C9*1/*3*. Самая низкая активность *CYP2C9* наблюдается у гомозигот *CYP2C9*3/*3*, она составляет, по мнению некоторых авторов, около 5% от нормы. Изучение аллельных вариантов *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3*, как наиболее часто встречающихся после аллеля дикого типа, показали, что они ассоциированы с более высокими концентрациями S-варфарина в плазме крови, а также с более низкими значениями клиренса из-за замедления его метаболизма в печени. Это подтверждается в фармакокинетических исследованиях, выполненных на здоровых добровольцах [17, 20, 21]. Кроме того, в большинстве клинических исследований продемонстрировано, что при применении варфарина, аценокумарола и фенпрокумона у больных, являющихся носителями аллельных вариантов *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3*, риск кровотечений возрастает в 2–3 раза, а чрезмерной гипокоагуляции (увеличение МНО более 4) — в 3–4 раза [22, 23, 24, 25, 26, 27]. Системный мета-анализ показал, что пациенты с функционально-дефектными аллелями *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3* требуют более длительной процедуры титрования дозы варфарина до уровня поддерживающей. Также они могут демонстрировать внезапное чрезмерное повышение уровня МНО, как в период подбора дозы варфарина, так и при длительной терапии [28]. По данным ряда авторов, у больных, являющихся носителями медленных аллельных вариантов *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3*, подобранная доза оральных антикоагулянтов была меньше, а терапевтические значения МНО достигались быстрее, по сравнению с пациентами, не несущими данных аллельных вариантов [22, 23, 24, 25, 26, 27, 28]. Так, было показано, что 72% пациентов, которым была подобрана низкая доза варфарина (менее 26,25 мг/неделя) являлись носителями аллелей *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3* [20]. При этом доза аценокумарола для поддержания МНО в диапазоне 2–3 для пациентов с генотипом *CYP2C9*1/*1* (169 пациентов) составляла 17,1 мг/неделя, *CYP2C9*1/*2* (97 пациентов) — 14,6 мг/неделя, *CYP2C9*1/*3* (59 пациентов) — 11,2 мг/неделя [29]. В отечественных исследованиях также доказана ассоциация аллельных вариантов *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3* с низкими подобранными дозами варфарина при различных нозологиях: у больных с протезированными клапанами сердца [18], постоянной формой фибрилляции

предсердий [9, 10, 31, 32], антифосфолипидным синдромом [32], тромбозами [33] (Рисунок 7). Несмотря на то, что к настоящему времени обнаружено большое количество аллельных вариантов гена *CYP2C9* (Таблице 8), большая их часть слабо изучена. Аллель *CYP2C9*4* обнаружен только у монголоидов, причем частота его мала. Варианты *CYP2C9*5* и *CYP2C9*6* встречаются с частотой не более 1% у негроидов и практически отсутствуют у монголоидов и европеоидов. Таким образом, в настоящее время из всех аллельных вариантов гена *CYP2C9*, только аллельные варианты *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3* используются для персонализации дозирования варфарина. Поэтому именно эти аллельные варианты описаны в инструкции по медицинскому применению варфарина, утвержденной Минздравсоцразвития: «Пациенты с полиморфизмом фермента *CYP2C9*, включая аллели *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3*, могут иметь повышенную чувствительность к варфарину и повышенный риск развития кровотечений»⁴

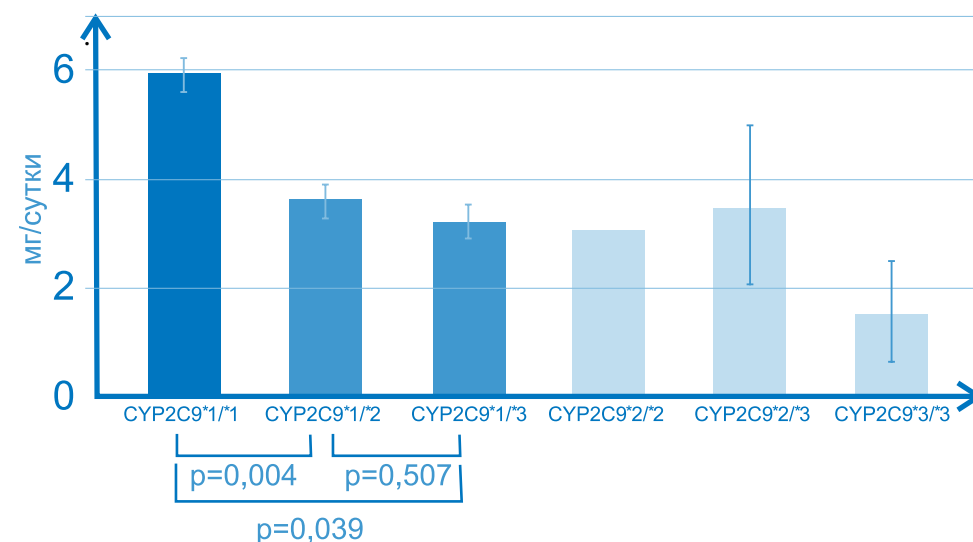


Рисунок 7. Подобранные дозы варфарина у пациентов с генотипами *CYP2C9*1/*1*, *CYP2C9*1/*2*, *CYP2C9*2/*2*, *CYP2C9*2/*3* и *CYP2C9*3/*3* [19].

⁴ Инструкция по медицинскому применению препарата «Варфарин». <http://medi.ru/doc/a7956.htm>

Таблица 8. Аллельные варианты гена *CYP2C9* и их эффекты [10].

Аллельные варианты	Изменение посл-ти ДНК	Изменение аминокислотной посл-ти	Изменение интенсивности биотрансформации S-варфарина
<i>CYP2C9*2</i>	C430T	Arg144Cys	Снижение биотрансформации S-варфарина 50%
<i>CYP2C9*3</i>	A1075C	Ile 359Leu	Снижение биотрансформации S-варфарина на 90% (!)
<i>CYP2C9*4</i>	T1076C	Ile359Thr	Снижение клиренса диклофенака на 78-81%
<i>CYP2C9*6</i>	A818del	сдвиг рамки считывания	Крайне незначительные изменения в активности
<i>CYP2C9*8</i>	G449A	Arg150His	Снижение активности
<i>CYP2C9*11</i>	C1003T	Arg335 Trp	Снижение активности
<i>CYP2C9*12</i>	C1465T	Pro489Ser	Снижение активности
<i>CYP2C9*13</i>	T269C	Leu90Pro	Самая низкая активность из всех изоферментов <i>CYP2C9</i>
<i>CYP2C9*14</i>	G374A	Arg125His	Снижение активности
<i>CYP2C9*15</i>	C485A	Ser162(?)	Крайне незначительные изменения (?)
<i>CYP2C9*16</i>	A895G	Thr299Ala	Снижение активности
<i>CYP2C9*17</i>	C1144T	Pro382Ser	Снижение активности
<i>CYP2C9*19</i>	G1362C	Glu454His	Снижение активности

Полиморфизм *VKORC1*. Полиморфизм гена *VKORC1*, кодирующего молекулу-мишень для оральных антикоагулянтов, может влиять на чувствительность пациентов к данной группе ЛС. Ген *VKORC1* располагается в 16 хромосоме (локус 16p11.2), его длина составляет 4 000 п.о. Полиморфизм именно этого гена связывают с кумаринорезистентностью и образованием так называемого фенотипа кровотечений, возникающего из-за врожденного дефицита витамин К зависимых факторов свертывания крови [10]. Наиболее часто встречаемые однонуклеотидные заме-

ны в гене *VKORC1* к настоящему моменту выявлены в количестве более 10. Однако наибольшее число исследований было посвящено изучению влияния полиморфизма G-1639A гена *VKORC1* на риск развития кровотечений и величину поддерживающей дозы варфарина и аценокумарола. Показано, что у носителей генотипа AA по полиморфному маркеру G-1639A гена *VKORC1* при применении варфарина по стандартной схеме чаще отмечаются кровотечения, выходы за пределы терапевтического диапазона МНО [34]. Кроме того, у этих групп пациентов подобранная доза варфарина меньше, по сравнению с пациентами без таких генетических особенностей. Аналогичные данные имеются и для аценокумарола. Генотип AA по полиморфизму G-1639A в России встречается с частотой до 17% [35].

Полиморфизмы генов *ORM1* и *ORM2*. Полиморфизм rs1687390 гена *ORM1* (*ORM1*5*) в европейской популяции ассоциируется с концентрацией осоромукоида 1 типа в плазме крови и значениями подобранных доз варфарина: у пациентов с генотипом F1F1 подбирались более низкие дозы варфарина [36]. По-видимому это было связано с тем, что у пациентов с генотипом F1F1 отмечаются более низкие концентрации осоромукоида 1 типа в плазме крови, вследствие чего у них можно ожидать более высоких концентраций не связанного с белками плазмы крови варфарина, равно как и других ЛС, связывающихся с осоромукоидом 1 типа [37]. Однако есть данные, что у монголоидов ассоциации между описанным выше полиморфизмом гена *ORM1* и подобранными дозами варфарина не существует [38, 39]. Не подтверждена и ассоциация между полиморфизмом rs3762055 гена *ORM2* и подобранными дозами варфарина. В связи с противоречивостью данных определение полиморфизмов генов *ORM1* и *ORM2* в настоящее время не используется для выбора дозы варфарина.

Полиморфизм гена *APOE* также может обуславливать дозу варфарина для достижения терапевтического уровня гипокоагуляции (*APOE* — ген, кодирующий аполипопротеин Е). Kohnke и соавт. (2005) показали, что у носителей аллеля *APOE*E4* наблюдается более интенсивный захват гепатоцитами витамина К, поэтому таким пациентам требовалась большая доза варфарина для достижения терапевтического уровня гипокоагуляции [40]. Есть данные, что подобная закономерность характерна для

представителей негроидной расы, но не европеоидной и монголоидной [41, 42]. В то же время, есть данные, что у носителей аллеля *APOE*E3*, наоборот подбирались более низкие дозы аценокумарола [43]. В связи с противоречивостью данных, определение полиморфизма *APOE* в настоящее время не используется для выбора дозы варфарина.

Полиморфизм гена *CYP4F2*. Есть данные, что у носителей генотипа *CC* по полиморфному маркеру *V433M* гена *CYP4F2* отмечается низкая скорость биотрансформации витамина *K* до неактивных метаболитов в печени, что объясняет более высокую чувствительность этих пациентов к оральным антикоагулянтам [44]. Так, в нескольких исследованиях было показано, что носителям генотипа *CC* подбирались более низкие дозы варфарина и аценокумарола по сравнению с больными с генотипами *CT* и *TT* [45, 46, 47, 48]. Кроме того у пациентов с генотипом *CC* быстрее подбирали дозу варфарина для достижения терапевтического уровня гипокоагуляции [49, 50]. Тем не менее, на наш взгляд, существующих данных недостаточно для использования данного маркера как предиктора дозы варфарина.

Полиморфизм гена *EPHX1*. Носительство генотипами *CC* и *CG* по полиморфному маркеру *G612C* гена эпоксидгидролазы 1 (*EPHX1*) ассоциируются с более высокими (более 50 мг в неделю) подобранными дозами варфарина у пациентов с генотипом *CYP2C9*1/*1* [51]. В то же время, другой полиморфизм *rs4653436* гена *EPHX1* ассоциируется с более низкими подобранными дозами варфарина как в европейской популяции пациентов, так и у монголоидов. Однако не обнаружено влияния полиморфизма гена *EPHX1* на время подбора дозы варфарина для достижения терапевтического уровня гипокоагуляции.

Полиморфизм гена *GGCX*. Первоначально не было обнаружено влияния носительства генотипов по полиморфному маркеру *G8762A* гена гамма глутамил карбоксилазы (*GGCX*) на значение подобранной дозы варфарина [51]. Однако были найдены другие полиморфизмы гена *GGCX*, которые ассоциировались с более низкими подобранными дозами варфарина: *rs12714145 G > A* [52], *rs12714145* [53] для европейских популяций и *G8016A* для монголоидов [54]. Хотя есть данные (в т.ч. и в работах в которых проводилось секвенирование гена *GGCX*), не подтверждающие влияния полиморфизма гена *GGCX* на подобранные дозы варфарина в

монголоидных популяциях [55, 56]. Однако для североамериканской популяции пациентов наибольшее клиническое значение имеет полиморфный маркер *C12970G* (*rs11676382*) гена *GGCX*: он ассоциирован с более низкими подобранными дозами варфарина, хотя его влияние не столь значительно по сравнению с полиморфизмами генов *CYP2C9* и *VKORC1* [57]. Включение полиморфизма гена *GGCX* в алгоритм прогнозирования поддерживающей дозы варфарина не увеличивал прогностическую ценность данного алгоритма [58]. Влияния полиморфизма гена *GGCX* на подобранные дозы аценокумарола не обнаружено [59].

Таким образом, в настоящее время в фармакогенетическом тестировании для персонализации выбора режима дозирования оральных антикоагулянтов необходимо рассматривать полиморфизмы генов *CYP2C9* (аллельные варианты *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3*) и *VKORC1* (полиморфный маркер *G-1639A*).

Резюме к главе

«Факторы, влияющие на чувствительность пациентов к оральным антикоагулянтам»

- Чувствительность к оральным антикоагулянтам значительно варьирует у различных больных, что проявляется в больших колебаниях величин их поддерживающих доз, развитием эпизодов чрезмерной гипокоагуляции и кровотечений.
- Индивидуальная чувствительность к оральным антикоагулянтам обусловлена как модифицируемыми (индекс массы тела, сопутствующие заболевания, сопутствующий прием других ЛС, особенности пищевого рациона, вредные привычки: курение, алкоголь и т.д.), так и не модифицируемыми факторами (пол, возраст, генетические особенности пациента).
- Шкалы *CRUSADE* и *HEMORR₂HAGES* позволяют врачу рассчитать риск развития кровотечений при применении оральных антикоагулянтов с учетом модифицируемых и немодифицируемых факторов.

- Генетическими факторами, обуславливающими чувствительность пациента к оральным антикоагулянтам, являются полиморфизмы в генах, кодирующих белки, ответственные за фармакокинетику (*CYP2C9*, *MDR1*, *ORM1*, *ORM2*) и фармакодинамику (*VKORC1*, *CYP4F2*, *EPHX1*, *GGCX*) оральных антикоагулянтов.
- Доказано, что носительство аллельных вариантов *CYP2C9**2 и *CYP2C9**3 и генотип AA по полиморфному маркеру G-1639A ассоциируются с нестабильностью антикоагулянтного эффекта, более частыми кровотечениями при применении антикоагулянтов и требуют подбора более низких доз.
- В настоящее время фармакогенетическое тестирование для персонализации выбора режима дозирования оральных антикоагулянтов должно включать выявление полиморфизмов генов *CYP2C9* (аллельные варианты *CYP2C9**2 и *CYP2C9**3) и *VKORC1* (полиморфный маркер G-1639A), поэтому именно эти полиморфизмы были включены в диагностический набор «ФармакоГЕН-АКГ», позволяющий быстро и точно выполнять данный вид фармакогенетического тестирования.

4. Практическое использование дозирования оральных антикоагулянтов с учетом результатов фармакогенетического тестирования.

4.1. Алгоритмы дозирования варфарина с учетом результатов фармакогенетического тестирования.

Очевидно, что для использования на практике результатов фармакогенетического тестирования должен быть разработан понятный для врача алгоритм выбора доз оральных антикоагулянтов в зависимости от выявленных генотипов пациентов. В настоящее время подобные алгоритмы разработаны только для персонализации дозирования варфарина, которые, как правило, учитывают только полиморфизм гена *CYP2C9*, а некоторые и *VKORC1*, поскольку варфарин является наиболее хорошо изученным препаратом в данном аспекте. Эти алгоритмы, как правило, учитывают не только генетические особенности пациентов, но и другие факторы, влияющие на чувствительность пациента к варфарину. В настоящее время за рубежом наиболее часто используется 5 алгоритмов расчета поддерживающей дозы варфарина (ПДВ) на основе результатов фармакогенетического тестирования.

Алгоритм Sconce. Коллектив исследователей Sconce EA предложил следующую формулу расчета ПДВ, которая учитывает возраст пациента, генотип по *CYP2C9*, генотип по *VKORC1*, а также рост пациента [60]. Эта формула выглядит следующим образом:

$$\text{ПДВ, мг/сутки} = [0,628 - 0,0135 \times \text{возраст} - 0,24 \times \text{CYP2C9}^*2 - 0,37 \times \text{CYP2C9}^*3 - 0,241 \times \text{VKORC1} + 0,0162 \times \text{рост (см)}]^2,$$

где показатели *CYP2C9* составляют «0», «1» или «2», в зависимости от того, сколько функционально-дефектных аллелей данного типа представлено в генотипе пациента, а показатель *VKORC1*, в зависимости от генотипа пациента по полиморфному маркеру G-1639A гена *VKORC1*, составляет «1» для генотипа GG, «2» — для GA, и «3» — для AA. Данная формула была применена в группе из 297 английских пациентов, которым был назначен варфарин с целевым МНО 2,0–3,0 [Sconce EA]. Оказалось,

что расчетная ПДВ совпала с реальной только в 54% случаях. Существенным недостатком формулы является отсутствие учета сопутствующей терапии, а также наличия заболеваний печени, почек, того, является ли больной курильщиком, этнической принадлежности пациента и т. д.

Алгоритм Takahashi. На основании исследования, проведенного на смешанной по этническому составу группе пациентов, в которую входили представители трех рас, **Takahashi** и соавт. разработали свою формулу расчета ПДВ [61]:

$$\text{ПДВ, мг/сутки} = 6,6 - 0,035 \times \text{возраст} + 0,031 \times \text{вес (кг)}.$$

Данный усредненный алгоритм предназначен для больных с генотипом *CYP2C9*1/*1* (т.е. у которых отсутствуют функционально-дефектные аллели гена *CYP2C9*). В случае обнаружения у пациента аллельного варианта *CYP2C9*2* (независимо от того, является ли больной гомозиготой или гетерозиготой по данному аллельному варианту), авторы предлагают уменьшать рассчитанную по указанной формуле ПДВ на 1,3 мг. Если же обнаружен аллельный вариант *CYP2C9*3*, дозу предлагается уменьшать на 2,9 мг. Очевидным недостатком данного алгоритма является игнорирование этнических особенностей пациентов, т.е. отсутствие в уравнении аргумента, учитывающего расовую принадлежность пациента. Следует еще раз подчеркнуть, что формула была разработана с использованием исследования, в которое включались пациенты трех рас, что может снижать точность расчетов. Другие недостатки **алгоритма Takahashi** аналогичны недостаткам **алгоритма Sconce**, кроме того **алгоритм Takahashi** не учитывает генотип по *VKORC1*.

Алгоритм Tham. **Tham** и соавт. в своей работе по созданию алгоритма дозирования варфарина наряду с физикальными данными учитывали полиморфизмы генов *CYP2C9* и *VKORC1* [62]. Вся группа из 281 пациента, принимавшая участие в исследовании, была тщательно отобрана по целому ряду показателей, однако исключались любые влияния сопутствующих заболеваний, рациона питания и сопутствующей фармакотерапии, что является существенным недостатком данного исследования. Полученная авторами формула, в отличие от предыдущих носящая экспонен-

циальный, а не линейный характер, выглядела следующим образом:

$$\text{ПДВ, мг/сутки} = 10 \times e^{[0,838 - 0,005 \times \text{возраст} + 0,003 \times \text{вес} - 0,189 \times \text{CYP2C9}^*3 - 0,283 \times \text{VKORC1}^*1639 \text{ AA} - 0,119 \times \text{VKORC1}^*1639 \text{ GA}]}$$

В качестве фактора, ассоциированного с ПДВ варфарина, авторы рассматривали полиморфизмы генов *CYP2C9* и *VKORC1*. Если пациент являлся носителем мутантной аллели в гомозиготном или гетерозиготном состоянии, в соответствующий аргумент подставлялась единица, если нет — 0. Алгоритм также не учитывает сопутствующей терапии, а также наличия заболеваний печени, почек, того является ли больной курильщиком, этнической принадлежности пациента и т.д.

Алгоритм Гилярова М.Ю. и соавт. Отечественные авторы также предприняли попытку создания алгоритма дозирования варфарина на основании результатов фармакогенетического исследования. **Гиляров М.Ю.** и соавт. предлагают свою регрессионную модель, учитывающую генотип *CYP2C9* и прием амиодарона. Алгоритм выглядит следующим образом [31]:

$$\text{ПДВ, мг/сутки} = 0,462 + 0,947 \times (\text{Доза-генотип}) - 0,855 \times \text{амиодарон},$$

где параметр «доза-генотип» имеет следующие значения: 4,92 при генотипе *CYP2C9*1/*1*; 3,68 при генотипе *CYP2C9*1/*2*; 3,58 при генотипе *CYP2C9*1/*3*. Для генотипов *CYP2C9*2/*3* данный коэффициент принимается равным 3,13. В случае приема больным амиодарона следует подставить 1 в соответствующий аргумент, а в случае отсутствия амиодарона в терапии — 0. Алгоритм также не учитывает наличия заболеваний печени, почек, является ли больной курильщиком, этнической принадлежности пациента, а также генотипа по *VKORC1* и т.д.

Алгоритм Gage. Алгоритм Gage учитывает наибольшее количество факторов, влияющих на индивидуальный ответ на варфарин, включая целевое значение МНО и показания к применению варфарина (наличие тромбоза глубоких вен (ТГВ) голеней и/или тромбоэмболии легочной артерии (ТЭЛА) [63]:

$PДВ = e^{[0,9751 \times 0,3238 \times VKOR3673G > A + 0,4317 \times ППТ \times 0,4008 \times CYP2C9^*3 \times 0,00745 \times \text{Возраст} \times 0,2066 \times CYP2C9^*2 + 0,2029 \times \text{Целевое МНО} \times 0,2538 \times \text{Амиодарон} + 0,0922 \times \text{Курение} \times 0,0901 \times \text{Негроид} + 0,0664 \times \text{ТГВ/ТЭЛА}]}$

При этом площадь поверхности тела (ППТ) вычисляется по специальным номограммам или формуле, исходя из веса и роста пациента: $ППТ = \text{вес (кг)}^{0,425} \times \text{рост (см)}^{0,725} \times 0,007184$. В случаях, когда пациент принимает амиодарон или статин (флувастатин или симвастатин) в формулу подставляется 1, если нет — 0. В случае, если больной относится к европеоидной расе, в формулу необходимо подставить 1, для представителей других рас — 0; если расчет дозы варфарина ведется для женщины, необходимо подставить 1, для мужчины — 0. Для удобства расчета начальной дозы, авторы разместили калькулятор на сайте в Интернете (<http://www.warfarindosing.org>) в свободном доступе, при этом для расчета врачу необходимо ввести запрашиваемые данные о больном, включая генотип пациента, полученный при фармакогенетическом тестировании (*Рисунок 8*). С помощью калькулятора можно рассчитать величину ПДВ, с которой рекомендуется начинать лечение пациента, а в случае если расчетная ПДВ меньше 2,5 мг, то рекомендуется в течение 2 дней назначать двойную расчетную дозу, а с третьего дня перейти на расчетную. Дальнейшая коррекция проводится в соответствии со стандартной схемой (в соответствии с инструкцией по медицинскому применению и типовой клинико-фармакологической статьей) по МНО. Калькулятор также укажет диапазон доз варфарина для данного пациента: от минимальной до максимальной. В настоящее время этот алгоритм также может учитывать полиморфизмы генов *CYP4F2* и *GGCX*. Данный алгоритм лежит в основе модуля «Фармакогенетика» российской программы «PharmSuite» (*Рисунок 9*, бесплатно скачать программу можно на сайте <http://pharmsuite.ru>). Авторами отмечено, что применение данной формулы позволило значительно уменьшить время подбора дозы для пациентов, имевших в генотипе функционально-дефектные аллели по локусу *CYP2C9* — время стало сопоставимо со временем подбора дозы для пациентов с генотипом *CYP2C9^*1/^*1*. Кроме того, была продемонстрирована высокая предсказательная ценность вышеприведенной формулы. Так для пациентов, которые получали терапию варфарином в подобранной дозе 1,5 мг/сутки (пациенты, имевшие в генотипе аллельные варианты *CYP2C9^*2* и *CYP2C9^*3*), по формуле была прогнозирована постоянная доза варфари-

на в 1,8 мг/сутки. Таким образом, среднее расхождение фактических доз и прогнозируемых на основании результатов генетических исследований составляло менее 1 мг/сутки.

Рисунок 8. Панель ввода данных о пациенте on-line-калькулятора для расчета поддерживающей дозы варфарина на основе результатов фармакогенетического тестирования по алгоритму Gage с сайта www.warfarindosing.org.

Рисунок 9. Панель ввода данных о пациенте для расчета поддерживающей дозы варфарина на основе результатов фармакогенетического тестирования по алгоритму Gage модуля «Фармакогенетика» российской программы «PharmSuite» (<http://pharmsuite.ru>, Цветов В.М., Кетова Г.Г.).

4.2. Выбор алгоритма дозирования варфарина с учетом результатов фармакогенетического тестирования для российских пациентов.

Несмотря на успехи прогнозирования ПДВ, оставалось не ясным, какой из этих алгоритмов является оптимальным для российских пациентов с высоким риском тромбэмболических осложнений, при которых планируется применение варфарина.

Нами проведена работа, целью которой было на основании результатов ранее проведенного ретроспективного исследования выбрать оптимальный для российских пациентов алгоритм дозирования варфарина путем проведения корреляционного анализа расчетных по описанным алгоритмам и реально подобранных доз варфарина [64]. Анализировались данные 78 пациентов, в возрасте $63,4 \pm 9,4$ лет, с высоким риском тромбо-

эмболических осложнений (постоянная форма фибрилляции предсердий — 62 пациента, тромбоз глубоких вен голени — 10 пациентов, протезированные клапаны сердца — 6 пациентов), участвовавших в ранее проведенном ретроспективном исследовании, которым варфарин назначался по традиционной схеме начиная с дозы 5 мг/сутки с последующей коррекцией по показателям МНО до выхода на поддерживающую дозу препарата, обеспечивающую адекватный уровень гипокоагуляции [6]. Для всех пациентов имелась информация о результатах генотипирования по *CYP2C9* и *VKORC1*. С использованием генотипов и других характеристик пациентов, принимавших участие в ретроспективном исследовании, были рассчитаны ПДВ, исходя из вышеописанных алгоритмов. Затем теоретически рассчитанные ПДВ сопоставлялись с реальными дозами, которые были подобраны по стандартной методике под контролем показателя МНО. Результаты такого сопоставления в виде коэффициентов корреляции и детерминации представлены в таблице 9. Как следует из наших расчетов, наиболее сильная корреляционная связь между рассчитанной и подобранной ПДВ наблюдалась при использовании алгоритма Gage et al. (Рисунок 10). Полученный коэффициент корреляции 0,88 является очень высоким для подобных биолого-медицинских моделей, что свидетельствует о высокой релевантности использованного алгоритма. Таким образом, на выбор алгоритма Gage et al. в качестве наиболее оптимального для российских пациентов для его использования для дальнейших проспективных исследований, повлияли следующие факторы:

- Для данного алгоритма получен самый высокий коэффициент корреляции расчетной ПДВ с подобранной стандартным методом;
- В исследовании Gage et al., результаты которого явились основой для разработки алгоритма, участвовало наибольшее количество больных и учитывалось максимальное количество индивидуальных параметров пациентов;
- Данное уравнение является динамичным, так как авторы создали on-line калькулятор для расчета ПДВ (www.warfarindosing.org) по их модели и на основании данных, которые присылают специалисты, воспользовавшиеся их программой, постоянно корректируют коэффициенты в уравнении.

Таблица 9. Связь теоретически рассчитанных доз с реально подобранными дозами варфарина

Автор алгоритма	Коэффициент детерминации, R^2	Коэффициент корреляции, r	p
Sconce et al. [60]	0,2571	0,5070	<0,0001
Gage et al. [63]	0,6902	0,8870	<0,0001
Takahashi et al. [61]	0,1623	0,4028	0,0011
Tham et al. [62]	0,1910	0,4370	<0,0001
Гиляров М.Ю. и соавт. [31]	0,2570	0,5025	<0,0001

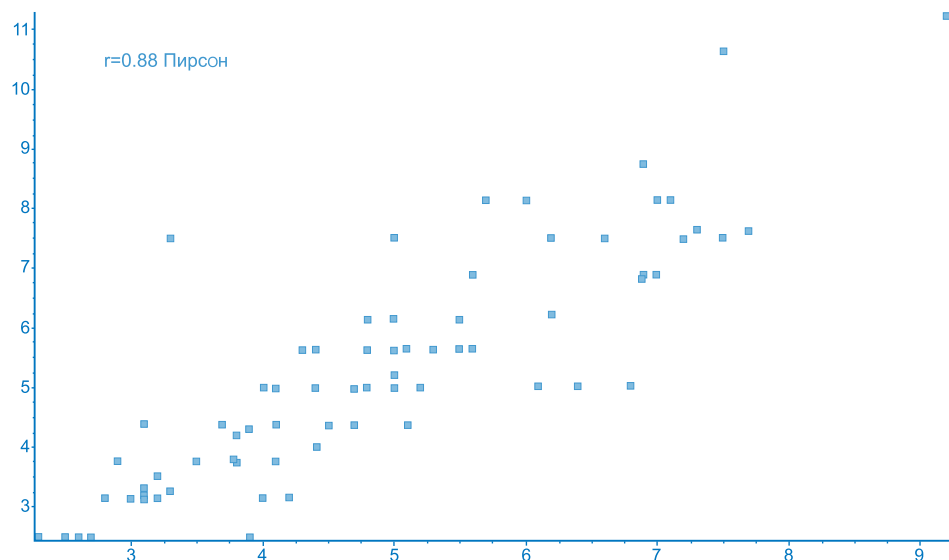


Рисунок 10. Корреляция между реально подобранными и расчетными по алгоритму Gage дозами варфарина.

4.3. Клинические преимущества дозирования варфарина на основе результатов фармакогенетического тестирования по сравнению с традиционным подходом.

По данным Сагасо и соавт. (2008), полученным в большом проспективном клиническом исследовании, дозирование варфарина на основе результатов фармакогенетического тестирования позволяет снизить риск кровотечений и быстрее подобрать дозу варфарина [65]. Более быстрый подбор дозы варфарина при его дозировании на основе результатов фармакогенетического исследования по сравнению с традиционным подходом был подтвержден еще в одном крупном проспективном исследовании Klein и соавт. (2009), которое проводилось под эгидой общественной организации «Консорциум по фармакогенетике варфарина» [66]. В самом крупном на сегодняшний день проспективном исследовании MM-WES (Medco-Mayo Warfarin Effectiveness study), включавшем 896 пациентов, которым варфарин назначали с учетом фармакогенетического тестирования и 2688 пациентов, которым варфарин назначался традиционным методом (исторический контроль), было показано, что фармакогенетическое тестирование снижает частоту госпитализаций пациентов по всем причинам на 33%, а госпитализаций из-за кровотечений и тромботических осложнений — на 43% [67]. Однако в части исследований не наблюдалось снижения частоты кровотечений при применении фармакогенетического подхода к дозированию варфарина [68, 69]. Возможно, это было связано с использованием в исследованиях различных алгоритмов расчета начальной дозы варфарина на основе результатов фармакогенетического тестирования, а также различным этническим составом групп пациентов, включенных в исследования.

Нами было проведено проспективное исследование, целью которого была оценка преимуществ фармакогенетического подхода к дозированию варфарина по сравнению с традиционным методом с целью повышения эффективности и безопасности его применения у российских пациентов с высоким риском тромбоэмболических осложнений [70]. В проспективное исследование включались больные с диагнозами: постоянная форма фибрилляции предсердий, тромбоз глубоких вен нижних конечностей, наличие протезов клапанов сердца. У всех пациентов отсутствовали противопоказания к применению варфарина. Перед началом тера-

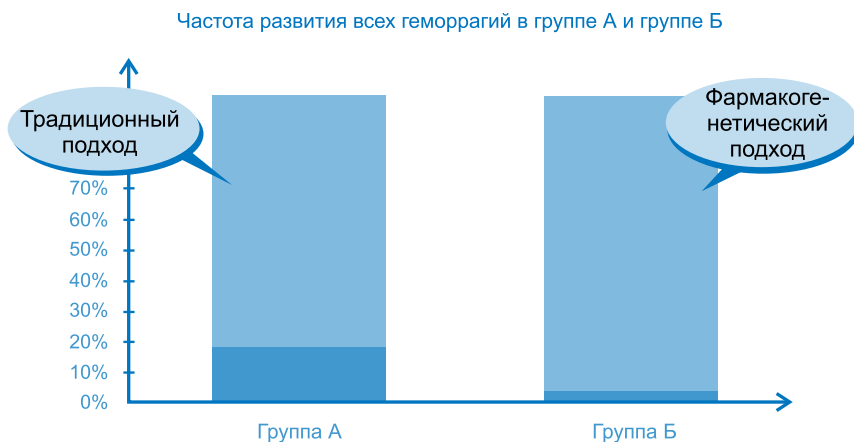
пии варфарином всем больным было назначено фармакогенетическое тестирование, на основании результатов которого, а также информации о поле и возрасте всем пациентам рассчитывалась начальная доза варфарина по алгоритму Gage [63] с помощью on-line калькулятора, размещенного на сайте www.warfarindosing.org. После подбора индивидуальной дозы варфарина измерение МНО выполнялось 1 раз в 3 недели, или по необходимости — при развитии эпизодов гипокоагуляций и/или кровотечений. Целевой диапазон МНО для больных с фибрилляцией предсердий и тромбозом глубоких вен составил 2,0–3,0; для больных с искусственными клапанами сердца — 2,5–3,5 соответственно. Эпизодами чрезмерной гипокоагуляции считались все случаи превышения терапевтического диапазона. Анализировались данные пациентов, полученные в течение 6 месяцев после начала применения варфарина. Пациенты, участвовавшие в проспективном исследовании, составили основную группу (группа фармакогенетического дозирования). В контрольную группу (группа традиционного дозирования) вошли 78 пациентов, участвовавшие в ранее проведенном ретроспективном исследовании, которым варфарин назначался по традиционной схеме, начиная с дозы 5 мг/сутки. Анализировались данные пациентов, полученные в течение 6 месяцев после начала применения варфарина. Определение МНО в проспективном исследовании производилось в образцах капиллярной крови на приборе CoaguChekXS («Roche», Швейцария). Идентификацию генотипов проводили на амплификаторе «Терцик ТП4-ПЦР01» («ДНК-Технология», Россия) методом ПЦР-ПДРФ. Для оценки риска кровотечений использовалась шкала риска кровотечений при применении варфарина HEMORR₂HAGES. Как указывалось выше, эта шкала, в отличие от других, так же применима и к генетическим особенностям пациента в отношении генотипа по *CYP2C9*. Для каждого пациента была рассчитана сумма баллов по шкале HEMORR₂HAGES, отражающая риск кровотечений при применении варфарина. При этом достоверных различий между группами по риску кровотечений при применении варфарина, оцененному по шкале HEMORR₂HAGES, не наблюдалось. Больные были также сопоставимы по показаниям к назначению варфарина. Сопоставление частот генотипов по локусам *CYP2C9* и *VKORC1* также показало отсутствие достоверных различий между группами ($p=0,178$ для *CYP2C9* и $p=0,166$ для

VKORC1). Таким образом, группы фармакогенетического подхода и традиционного подхода к дозированию варфарина были сопоставимы как по негенетическим, так и по генетическим параметрам. В результате, частота развития эпизодов чрезмерной гипокоагуляции (увеличение МНО более 3) в группе фармакогенетического дозирования варфарина составляла 17,1% (у 13 пациентов из 76) в то время как в группе традиционного подхода к дозированию варфарина она была выше более чем в 3 раза и составляла 56,4% (у 44 пациентов из 78) (*Рисунок 11*). При проверке с помощью точного двустороннего критерия Фишера оказалось, что обнаруженные различия оказались статистически значимыми ($p=4,1 \times 10^{-7}$). Кроме того, в группе фармакогенетического подхода к дозированию варфарина, из 76 пациентов кровотечения развивались у 3, то есть в 4% случаев. В группе традиционного подхода к дозированию варфарина, из 78 больных развитие кровотечений наблюдалось у 14, что составило 18%, т.е. в 4,5 раза чаще (*Рисунок 12*). Наблюдаемые различия между группами были статистически значимы: $p=0,009$. По результатам нашего исследования был сделан следующий вывод: эпизоды чрезмерной гипокоагуляции и кровотечения развивались реже при применении фармакогенетического подхода к дозированию варфарина по сравнению с традиционным методом, поэтому дозирование варфарина на основе результатов фармакогенетического тестирования может принести реальную пользу пациентам, особенно тем, которые имеют высокий риск развития кровотечений (рассчитанный по шкале CRUSADE или шкале HEMORR₂HAGES).



Фармакогенетическое тестирование снижает частоту эпизодов чрезмерной гипоагуляции (повышение МНО более 3) более чем в 3 раза ($p < 0,05$)

Рисунок 11. Эпизоды чрезмерной гипокоагуляции при применении традиционного (группа А) и фармакогенетического (группа В) подходов к дозированию варфарина [70].



Фармакогенетическое тестирование снижает частоту кровотечений более чем в 4,5 раза ($p < 0,05$)

Рисунок 12. Кровотечения при применении традиционного (группа А) и фармакогенетического (группа В) подходов к дозированию варфарина [71].

4.4. Экономические преимущества дозирования варфарина на основе результатов фармакогенетического тестирования перед традиционным подходом.

В настоящее время активно проводятся фармакоэкономические исследования, оценивающие экономические последствия применения данного фармакогенетического тестирования для оптимизации применения варфарина. В работе You (2004) была проанализирована стоимость лечения варфарином; в 13 исследованиях дозирование варфарина осуществлялось традиционным методом, а в 10 — с использованием результатов фармакогенетического тестирования [71]. Стоимость лечения варфарином больных с использованием фармакогенетического подхода оказалась несколько выше по сравнению с больными, у которых применялось традиционное дозирование: 155 700 и 150 500 долларов США, соответственно. При этом затраты на одно дополнительно предотвращенное большое кровотечение, в группе фармакогенетического подхода к дозированию, составили 5 778 долларов США. В исследовании, выполненном Laufus (2008) оценивались экономические преимущества фармакогенетического подхода к дозированию варфарина перед традиционным с использованием анализа «затраты-полезность (утилитарность)» с учетом затрат на 1 сохраненный год качественной жизни (англ. QALY — quality-adjusted life year) [72]. При стоимости одного фармакогенетического теста 400 долларов США и длительности его выполнения в течение 5 дней затраты на 1 QALY составили 170 000 долларов США, что неприемлемо дорого. Авторы утверждают, что в таких условиях только у 10% пациентов с высоким риском развития кровотечения на фоне применения варфарина стоимость QALY для фармакогенетического тестирования может составить менее 50 000 долларов США. По мнению авторов, для того, чтобы стоимость QALY при использовании фармакогенетического тестирования для дозирования варфарина была меньше 50 000 долларов США, должны соблюдаться следующие условия:

- фармакогенетический тест должен предотвращать более 32% больших кровотечений,
- срок выполнения фармакогенетического теста не должен превышать 24 часов,
- стоимость фармакогенетического теста должна быть менее 200 дол-

ларов США [72].

Поскольку результаты фармакоэкономических исследований не могут быть перенесены из страны в страну из-за различий в организации медицинской помощи, ценах на ЛС и медицинские услуги, необходимо было проведение отечественных исследований применения фармакогенетического тестирования для оптимизации дозирования варфарина. Подобное исследование, целью которого была оценка экономического преимущества фармакогенетического подхода к дозированию варфарина по сравнению с традиционным у российских пациентов, было проведено Авксентьевой М.В. и Герасимовой К.В. [73]. Были рассчитаны затраты на лечение пациентов, которым проводили дозирование варфарина на основе результатов фармакогенетического тестирования и с помощью традиционного подхода. Для изучения экономических затрат на лечение кровотечений были разработаны карты экспертной оценки ведения пациентов с кровотечениями следующих локализаций, отмеченными у исследуемых групп: геморроидальным, гемофтальмом и гемартрозом — в связи с отсутствием федеральных стандартов оказания медицинской помощи по данным видам кровотечений. По каждой из нозологий карты заполнялись ведущими специалистами (3–4 специалиста по каждому кровотечению) федеральных лечебных учреждений. Далее стоимость медицинских услуг рассчитывалась по тарифам обязательного медицинского страхования (ОМС). Также в исследуемых группах были отмечены желудочно-кишечные кровотечения и острое нарушение мозгового кровообращения, стоимость которых (за законченный случай) была получена из тарифов ОМС на оказание стационарной помощи. С учетом произведенных калькуляций была рассчитана средняя стоимость лечения по каждому кровотечению и общие расходы на лечение пациентов (с учетом кровотечений) в обеих группах. Общее число наблюдений в группе традиционного подхода составило 702 человеко/месяца и во второй группе — 443 чел./мес. Число измерений МНО в группе традиционного дозирования составило 808, в группе фармакогенетического подхода — 646. Число выходов МНО за пределы нормы в группе традиционного подхода составило 83 (10,3%), в группе фармакогенетического подхода — 8 (1,2%). Число кровотечений (на 100 чел./мес. наблюдений) в группе традиционного подхода составило 56, а в группе фармакогенетического подхода — 3. Частота кровоте-

ний (на 100 чел./мес. наблюдений) в группе традиционного подхода была более чем в 7 раз выше, чем в группе фармакогенетического подхода: 22 против 3, соответственно. Затраты на варфарин на 1 чел./мес. в обеих группах оказались практически идентичными — в группе традиционного дозирования затраты составили $134,97 \pm 67,6$ руб., в группе фармакогенетического подхода — $134,46 \pm 53,69$ руб. Затраты на измерение МНО на 1 чел./мес. в группе традиционного подхода составили $10,68 \pm 13,25$ руб., а в группе фармакогенетического подхода — $10,01 \pm 3,07$ руб. Однако затраты на визиты к врачу снизились более чем в 5 раз: в группе традиционного подхода они составили $18,73 \pm 45,3$ руб., в группе фармакогенетического подхода — $3,51 \pm 7,74$ руб. За счет этого снизились и общие затраты в группе фармакогенетического тестирования до $147,99 \pm 55,09$ руб., при этом в группе традиционного подхода они составили $164,38 \pm 71,20$ руб. Общие расходы на суммарное количество наблюдений (с учетом средней стоимости кровотечений) в группе традиционного подхода составили 257 руб., при этом в группе фармакогенетического подхода расходы снизились почти на 100 рублей и составили 170,4 руб. ($p=0,032$) (Таблица 10).

Таблица 10. Затраты в группах традиционного и фармакогенетического подходов к дозированию варфарина на 1 чел-мес, руб. [73].

Показатель	Группа традиционного подхода	Группа фармакогенетического подхода
Затраты на варфарин на 1 чел-мес, руб.	$134,97 \pm 67,60$	$134,46 \pm 53,69$
Затраты на МНО на 1 чел-мес, руб.	$10,68 \pm 13,25$	$10,01 \pm 3,07$
Затраты на визиты к врачу на 1 чел-мес, руб.	$18,73 \pm 45,30$	$3,51 \pm 7,74$
Общие затраты на 1 чел-мес, руб.	$164,38 \pm 71,20$	$147,99 \pm 55,09$
Общие затраты на 1 чел-мес, руб. (с учетом кровотечений)	257	170,4*
* — $p=0,032$		

Таким образом, подбор дозы варфарина, осуществляемый традиционным методом без фармакогенетического тестирования, сопровождается повышением частоты кровотечений, что может сказаться на затратах на

ведение больных. Без учета затрат на кровотечения стоимость лечения варфарином за 1 чел./мес., включая необходимый контроль МНО, при традиционном и фармакогенетическом подходах к дозированию варфарина практически одинакова, однако если учитывать затраты на кровотечения, 1 чел./мес. лечения в группе фармакогенетического дозирования варфарина, значительно дешевле [73].

4.5. Целесообразность применения фармакогенетического тестирования для персонализации применения варфарина в условиях реальной клинической практики.

Как указывалось выше, для того чтобы фармакогенетический тест было целесообразно использовать в реальной клинической практике, он должен отвечать ряду условий (см. раздел 1.2). Отвечает ли этим условием фармакогенетическое тестирование для персонализации дозирования варфарина (выявление аллельных вариантов *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3*, генотипов по полиморфному маркеру G-1639A гена *VKORC1*)? Анализ представленных в предыдущих разделах данных позволяет положительно ответить на этот вопрос (Таблица 11). Поэтому в 2007 году Американское агентство по контролю за лекарствами и продуктами (FDA) приняло решение — внести в инструкцию по медицинскому применению варфарина следующее положение: «У пациентов, у которых определены генетические варианты по *CYP2C9* и *VKORC1*, должны быть выбраны более низкие дозы варфарина». А в 2010 году, FDA вносит дополнительные уточнения в инструкцию: «Информация о генотипах пациентов по *CYP2C9* и *VKORC1*, если есть возможность ее получить, может быть использована для выбора начальной дозы варфарина» [74]. Следует отметить, что в России проведение фармакогенетического тестирования и учет его результатов при выборе ЛС и их доза в условиях ЛПУ регламентировано Приказом Минздрава №494 от 22 октября 2003 г. «О совершенствовании деятельности врачей-клинических фармакологов»⁵. Таким образом, при наличии показаний к применению оральных антикоагулянтов (раздел 2.3), врач должен рассмотреть возможность выполнения фармакогенетического тестирования. А в случае, если у пациента имеет-

⁵ Приказ Минздрава №494 от 22 октября 2003 г. «О совершенствовании деятельности врачей-клинических фармакологов». <http://www.mma.ru/article/id50482>

ся высокий риск развития кровотечений, рассчитанный с помощью шкал CRUSADE и HEMORR₂HAGES, то выполнение фармакогенетического тестирования для персонализации дозирования варфарина можно считать обязательным.

Таблица 11. Анализ условий для использования в клинической практике фармакогенетического тестирования для персонализации дозирования варфарина.

Условия для использования в реальной клинической практике	Фармакогенетическое тестирования для персонализации дозирования варфарина
Наличие выраженной ассоциации между выявляемым полиморфизмом того или иного гена и фармакологическим ответом (развитие НПР, недостаточная эффективность или высокая эффективность).	В многочисленных исследованиях продемонстрирована ассоциация между носительством изучаемых аллелей и генотипов (<i>CYP2C9*2</i> и <i>CYP2C9*3</i> , генотипа AA по полиморфному маркеру G-1639A гена <i>VKORC1</i>) и низкими подобранными дозами варфарина, развитием кровотечений, эпизодов чрезмерной гипокоегуляции (см. раздел 3.2).
Должен быть разработан алгоритм применения ЛС в зависимости от результатов фармакогенетического теста: выбор ЛС, его режима дозирования.	Разработаны алгоритмы выбора поддерживающей дозы варфарина на основе результатов фармакогенетического тестирования (см. раздел 4.1), из которых для российских пациентов наиболее приемлемым является алгоритм Gage. Расчет поддерживающей дозы варфарина возможен с помощью on-line калькулятора (http://www.warfarindosing.org) или российской программы «PharmSuite» (http://pharmsuite.ru).
Выявляемый полиморфизм должен встречаться в популяции с частотой не менее 1%.	В России являются носителями аллельных вариантов <i>CYP2C9*2</i> и <i>CYP2C9*3</i> до 35% населения, генотипа AA по полиморфному маркеру G-1639A гена <i>VKORC1</i> — до 17% (см. раздел 3.2).

Должны быть доказаны преимущества применения ЛС с использованием результатов фармакогенетического теста по сравнению с традиционным подходом: повышение эффективности, безопасности фармакотерапии и экономическая рентабельность подобного подхода.	Фармакогенетическое тестирование может способствовать снижению длительности подбора дозы варфарина, снижению частоты развития эпизодов чрезмерной гипокоагуляции в 3 раза, частоты кровотечений в 4,5 раза (см. раздел 4.3). Фармакогенетическое тестирование может снижать расходы на лечение 1 пациента на 100 рублей в месяц, в основном за счет сокращения расходов на коррекцию кровотечений (см. раздел 4.4).
Фармакогенетический тест должен быть доступен больным и врачам, т.е. фармакогенетический тест должен быть реализуем в лаборатории ЛПУ или коммерческих лабораториях.	Использование диагностического набора «ФармакоГЕН-АКГ» позволяет значительно упростить и ускорить выполнение фармакогенетического тестирования в медицинских лабораториях, что делает данный тест доступным для врачей и пациентов.

4.6. Дополнительная клиническая информация, которую может дать фармакогенетическое тестирование для персонализации дозирования варфарина.

Выявление у пациентов аллельных вариантов *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3* в ходе фармакогенетического тестирования для персонализации дозирования варфарина может дать дополнительную клиническую информацию для оптимизации применения и других ЛС. Это связано с тем, что полиморфизм гена *CYP2C9* также влияет на фармакокинетику и других ЛС-субстратов *CYP2C9* [10].

1. *Оптимизация применения нестероидных противовоспалительных средств (НПВС).* Есть данные, что полиморфизм гена *CYP2C9* влияет на фармакокинетику таких широко применяемых НПВС, как диклофенак, ибупрофен, пироксикам, лорноксикам, теносикам, флурбипрофен, целекоксиб и др., что имеет клинические последствия. Есть данные об ассоциации полиморфизмов гена *CYP2C9* с развитием желудочно-кишечных кровотечений при применении НПВС (за исключением ацетилсалициловой кисло-

ты), однако существуют исследования и не подтверждающие наличие данной ассоциации. Выявление у пациента носительства аллельных вариантов *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3* можно расценивать как генетический фактор риска развития эрозивно-язвенных поражений и желудочно-кишечного кровотечения при применении НПВС (за исключением ацетилсалициловой кислоты). В связи с этим можно предположить, что таким пациентам следует применять НПВС в минимальных дозах, а в случае необходимости повышения дозы, по-видимому, следует их сочетать с ингибиторами протонного насоса (омепразол, эзопризол, пантопризол, лансопризол).

2. *Оптимизация применения пероральных гипогликемических средств — производных сульфонилмочевины.* Рядом авторов показано, что у здоровых добровольцев с генотипами *CYP2C9*1/CYP2C9*2* и *CYP2C9*1/CYP2C9*3* замедлен метаболизм пероральных гипогликемических ЛС — производных сульфонилмочевины, применяемых при сахарном диабете 2-го типа (глибенкламид, толбутамид, натеглинид, глимепирид). Эти изменения проявляются снижением клиренса и увеличением концентрации данных ЛС в плазме крови, в конечном итоге приводя к повышению риска развития гипогликемии, что было продемонстрировано и у больных с сахарным диабетом 2-го типа. В связи с этим можно предположить, что у пациентов, у которых выявляются аллельные варианты *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3*, необходимо начинать лечение пероральными гипогликемическими ЛС-производными сульфонилмочевины с минимальных доз, а увеличение их дозы потребует более тщательного контроля за уровнем глюкозы в крови.
3. *Оптимизация применения статинов.* Есть данные о влиянии полиморфизма гена *CYP2C9* на фармакокинетику гиполипидемического средства из группы статинов — флувастатина, что сопровождается более выраженным снижением холестерина ЛНП у пациентов, являющихся носителями аллельных вариантов *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3*. Поэтому можно предположить, что если у пациента выявляется носительство аллельных вариантов *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3*, применение флувастатина в минимальной

дозе может способствовать достижению целевого значения холестерина ЛНП.

4. *Оптимизация применения диуретиков.* У носителей аллельных вариантов *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3* отмечается снижение общего клиренса петлевого диуретика торсемида, что вызывает более интенсивное выделение калия, натрия и хлора с мочой. Можно предположить, что при выявлении у пациента аллельных вариантов *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3* необходимо выбрать минимальную дозу торсемида, а увеличивать его дозу следует при более тщательном контроле уровня калия в плазме крови.

5. *Оптимизация применения антагонистов ангиотензиновых рецепторов.* Полиморфизм гена *CYP2C9* влияет на фармакокинетику антагониста ангиотензиновых рецепторов ирбесартана, что проявляется в более выраженном снижении диастолического АД при применении данного ЛС у пациентов с артериальной гипертензией, являющихся носителями аллельных вариантов *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3*. Можно предположить, что для повышения безопасности терапии пациентам с аллельными вариантами *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3* необходимо либо выбрать ЛС, в метаболизме которого не принимает участие *CYP2C9*, либо назначить меньшую дозу ЛС-субстрата *CYP2C9*. Исключение составляет антагонист ангиотензиновых рецепторов лозартан, который, являясь пролекарством, в печени под действием *CYP2C9* превращается в активный метаболит Е3174, обладающий антигипертензивным действием. Поэтому у пациентов с аллельными вариантами *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3*, отмечается менее выраженный антигипертензивный эффект при применении лозартана.

Однако следует отметить, что, в отличие от варфарина, выявление аллельных вариантов *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3* для оптимизации применения перечисленных ЛС не регламентировано в их инструкциях по применению и пока не удовлетворяет условиям для использования такого подхода в реальной клинической практике, однако может учитываться врачом для выбора ЛС и их доз в рамках имеющихся утвержденных рекомендаций, стандартов лечения и инструкций.

Резюме к главе

«Практическое использование дозирования оральных антикоагулянтов с учетом результатов фармакогенетического тестирования».

- Для персонализации дозирования варфарина с учетом результатов фармакогенетического тестирования разработано несколько алгоритмов, наиболее подходящим из которых для российских пациентов является алгоритм Gage, доступный для любого врача на интернет-сайтах: <http://www.warfarindosing.org> и <http://pharmsuite.ru>. Для выбора режима дозирования варфарина в алгоритме Gage используется информация о полиморфизмах *CYP2C9* (аллельные варианты *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3*) и *VKORC1* (полиморфный маркер G-1639A), которые были включены в диагностический набор «ФармакоГЕН-АКГ», позволяющий быстро и точно выполнять данный вид фармакогенетического тестирования. Фармакогенетический алгоритм дозирования другого орального антикоагулянта — аценокумарола находится на стадии разработки.
- Использование фармакогенетического тестирования для персонализации дозирования варфарина может способствовать уменьшению сроков подбора его дозы, снижению частоты эпизодов чрезмерной гипокоагуляции в 3 раза, кровотечений в 4,5 раза, госпитализаций пациентов по поводу кровотечений и тромботических осложнений на 43% и, в конечном итоге, снижению затрат на лечение примерно на 100 рублей на 1 пациента в месяц.
- Выявление у пациентов аллельных вариантов *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3* в ходе фармакогенетического тестирования с помощью диагностического набора «ФармакоГЕН-АКГ» для персонализации дозирования варфарина может дать дополнительную клиническую информацию для оптимизации применения НПВС, оральных гипогликемических ЛС, статинов, диуретиков и антагонистов ангиотензиновых рецепторов.

Заключение.

В настоящее время в клиническую практику постепенно входит методология персонализированной медицины, подразумевающая выбор ЛС и их доз на основе индивидуальных особенностей пациента, выявляемых с помощью молекулярно-генетических технологий, наиболее перспективной из которых является фармакогенетическое тестирование. Фармакогенетический тест позволяет выявлять с помощью ПЦР генетические особенности пациента, представляющие собой полиморфизмы в генах, отвечающих за фармакокинетику или фармакодинамику ЛС. Следовательно, можно индивидуализированно подойти к выбору как самих ЛС, так и их доз, повышая эффективность и безопасность лечения конкретного пациента, т.е. оптимизации фармакотерапии. При этом фармакогенетическое тестирование прежде всего необходимо в тех случаях, когда планируется длительное применение хотя и высокоэффективных ЛС, но при этом часто вызывающих НПР. К представителям такого типа ЛС в первую очередь относятся оральные антикоагулянты, наиболее хорошо изученным из которых является варфарин. Длительное применение варфарина у больных с высоким риском тромботических осложнений в значительной степени снижает их частоту (и прежде всего ишемического инсульта), но в то же время часто вызывает кровотечения, в т.ч. и опасные для жизни.

В настоящее время однозначно доказано, что носительство аллельных вариантов *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3* и генотип АА по полиморфному маркеру G-1639A ассоциируются с низкими подобранными дозами варфарина, нестабильностью антикоагулянтного эффекта, более частыми кровотечениями при его применении. Поэтому именно эти полиморфизмы были включены в диагностический набор «ФармакоГЕН-АКГ» для быстрого и точного выполнения фармакогенетического тестирования для персонализации дозирования варфарина. Кроме того, активно ведется поиск и других генов-кандидатов, исследование полиморфизма в которых может прогнозировать действие оральных антикоагулянтов.

Однако не любая ассоциация между полиморфизмом того или иного гена и развитием неблагоприятного фармакологического ответа (развитие НПР или неэффективности лечения) может стать основой для фар-

макогенетического теста, пригодного для использования на практике. Для этого фармакогенетический тест должен удовлетворять ряду условий, включая адекватный алгоритм дозирования ЛС на основе результатов фармакогенетического тестирования (для варфарина — это алгоритм Gage, который доступен для любого врача на интернет-сайтах <http://www.warfarindosing.org> и <http://pharmsuite.ru>). Результаты проведенных исследований позволяют говорить о том, что применение фармакогенетического тестирования для персонализации дозирования варфарина целесообразно применять в клинической практике, особенно у пациентов с высоким риском кровотечений. Это может способствовать уменьшению сроков подбора дозы, более стабильному антикоагулянтному эффекту в пределах терапевтического диапазона значений МНО и снижению частоты кровотечений, госпитализаций пациентов по поводу кровотечений и тромботических осложнений и, в конечном итоге, снижению затрат на лечение.

Литература.

1. Власов В. В. Введение в доказательную медицину. М: Медиасфера, 2001.
2. Rahman SZ, Khan RA, Gupta V, Uddin M. Pharmacoenvironmentology – a component of pharmacovigilance. *Environ Health*. 2007 Jul 24;6:20.
3. Schectman JM, Schorling JB, Nadkarni MM, Voss JD. Determinants of physician use of an ambulatory prescription expert system. *Int J Med Inform*. 2005 Sep; 74(9):711-7.
4. Кукес В.Г., Грачев С.В., Сычев Д.А., Раменская Г.В. Метаболизм лекарственных средств: научные основы персонализированной медицины. // М. – ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 304 с.
5. Wikipedia. Personalised medicine. URL: http://en.wikipedia.org/wiki/Personalized_medicine.
6. Генетический паспорт./ Под ред. Баранова В.С. // СПб. – 2009. – 528 с.
7. <http://www.cbio.ru/v5/article.php?storyid=1670>
8. <http://www.fda.gov/cber/gdlns/pharmdtasub.pdf>
9. Сычев Д.А., Сулейманов С.Ш., Кукес В.Г. Персонализированная медицина как путь к рациональному применению лекарственных средств: предпосылки, реалии, проблемы и перспективы для отечественной системы здравоохранения // Здравоохранение Дальнего Востока. – 2010. – №1. – с. 2–7.
10. Сычев Д.А., Раменская Г.В., Игнатъев И.В., Кукес В.Г. Клиническая фармакогенетика. / Под редакцией Кукеса В.Г., Бочкова Н.П.// М.: Гэотар-Медиа. – 2007. – 248 с.
11. Ederhy S, Cohen A. Optimising stroke prevention in non-valvular atrial fibrillation. *Expert Opin Pharmacother*. 2006 Oct; 7(15):2079-94.
12. Кропачева Е.С., Панченко Е.П. Основы терапии антагонистами витамина К для практикующих врачей // Русский медицинский журнал. – 2009. – Том 17, N 8. – 507–513.
13. Fihn SD, Callahan CM, Martin DC, McDonnell MB, Henikoff JG, White RH. The risk for and severity of bleeding complications in elderly patients treated with warfarin. The National Consortium of Anticoagulation Clinics. *Ann Intern Med*. 1996 Jun 1; 124(11):970-9.
14. ESPRIT. Oral anticoagulation in patients after cerebral ischemia

- of arterial origin and risk of intracranial hemorrhage. *Stroke*. 2003 Jun;34(6):e45–6.
15. Wang TY, Robinson LA, Ou FS, Roe MT, Ohman EM, Gibler WB, Smith SC Jr, Peterson ED, Becker RC. Discharge antithrombotic strategies among patients with acute coronary syndrome previously on warfarin anticoagulation: physician practice in the CRUSADE registry. *Am Heart J*. 2008 Feb; 155(2):361–8.
16. Gage BF, Yan Y, Milligan PE, Waterman AD, Culverhouse R, Rich MW, Radford MJ. Clinical classification schemes for predicting hemorrhage: results from the National Registry of Atrial Fibrillation (NRAF). *Am Heart J*. 2006 Mar; 151(3):713–9.
17. Herman D, Locatelli I, Grabnar I, Peternel P, Stegnar M, Mrhar A, Breskvar K, Dolzan V. Influence of CYP2C9 polymorphisms, demographic factors and concomitant drug therapy on warfarin metabolism and maintenance dose. *Pharmacogenomics J*. 2005; 5(3):193–202.
18. Сироткина О.В., Улитина А.С., Тараскина А.Е. Аллельные варианты CYP2C9 2 и CYP2C9 3 гена цитохрома CYP2C9 в популяции Санкт-Петербурга и их клиническое значение при антикоагулянтной терапии варфарином. // Российский кардиологический журнал . – 2004. – N 6. – 47–50.
19. Сычев Д.А., Михеева Ю.А., Кропачева Е.С., Игнатъев И.В., Булытова Ю.М., Раменская Г.В., Добровольский А.Б., Панченко Е.П., Кукес В.Г. Влияние полиморфизма гена CYP2C9 на фармакокинетику и фармакодинамику варфарина у больных с постоянной формой фибрилляции предсердий. // Клиническая медицина. – 2007. – №1. – с. 57–60.
20. Scordo MG, Pengo V, Spina E, Dahl ML, Gusella M, Padriani R. Influence of CYP2C9 and CYP2C19 genetic polymorphisms on warfarin maintenance dose and metabolic clearance *Clin Pharmacol Ther* 2002; 72:702–710.
21. Morin S, Bodin L, Lorient MA, Thijssen HH, Robert A, Strabach S. Pharmacogenetics of acenocoumarol pharmacodynamics *Clin Pharmacol Ther* 2004; 75:403–414.
22. Tassies D, Freire C, Pijoan J, Maragall S, Monteagudo J, Ordinas A. Pharmacogenetics of acenocoumarol: cytochrome P450 CYP2C9 polymorphisms influence dose requirements and stability of

- anticoagulation *Haematologica* 2002;87:1185–1191.
23. Visser LE, Schaik RH, Vliet Mv M, Trienekens PH, De Smet PA, Vulto AG. The risk of bleeding complications in patients with cytochrome P450 CYP2C9*2 or CYP2C9*3 alleles on acenocoumarol or phenprocoumon *Thromb Haemost* 2004; 92:61–66.
 24. Schalekamp T, van Geest-Daalterop JH, de Vries-Goldschmeding H, Conemans J, Bernsen Mj M, de Boer A. Acenocoumarol stabilization is delayed in CYP2C9*3 carriers *Clin Pharmacol Ther* 2004; 75:394–402.
 25. Hummers-Pradier E, Hess S, Adham IM, Papke T, Pieske B, Kochen MM. Determination of bleeding risk using genetic markers in patients taking phenprocoumon *Eur J Clin Pharmacol* 2003;59:213–219.
 26. Higashi MK, Veenstra DL, Kondo LM, Wittkowsky AK, Srinouanprachanh SL, Farin FM. Association between CYP2C9 genetic variants and anticoagulation-related outcomes during warfarin therapy *JAMA* 2002; 287:1690–1698.
 27. Tabrizi AR, Zehnbauser BA, Borecki IB, McGrath SD, Buchman TG, Freeman BD. The frequency and effects of cytochrome P450 (CYP) 2C9 polymorphisms in patients receiving warfarin *J Am Coll Surg* 2002; 194:267–273.
 28. Taube J, Halsall D, Baglin T. Influence of cytochrome P-450 CYP2C9 polymorphisms on warfarin sensitivity and risk of over-anticoagulation in patients on long-term treatment. *Blood*. 2000 Sep 1; 96(5):1816–9.
 29. Hermida J, Zarza J, Alberca I, Montes R, Lopez M-L, Molina E, et al. Differential effects of 2C9*3 and 2C9*2 variants of cytochrome P-450 CYP2C9 on sensitivity to acenocoumarol. *Blood* 2002;99:4237–4239.
 30. Михеева Ю.А., Кропачева Е.С., Игнатьев И.В., Сычев Д.А., Добровольский О.Б., Панченко Е.П. Полиморфизм гена цитохрома P4502C9 (CYP2C9) и безопасность терапии варфарином.// Кардиология. – 2008. — Том 48, N 3. – 52–57.
 31. Гиляров М. Ю., Генерозов Э. В., Магомадова М. У., Морошкина С. Ю., Погода Т. В., Саркисова Н. Д., Сулимов В. А., Сыркин А. Л. Факторы, влияющие на дозировку варфарина у пациентов с фибрилляцией предсердий.// Кардиология. – 2008. – Том 48, №5. – 65–68.
 32. Решетняк Т.М., Кондратьева Л.В., Патрушев Н.Л. Варфарин при лечении антифосфолипидного синдрома.// Терапевтический архив.

- 2007. – Том 79, N 5. – 47–54.
33. Лифшиц Г.И., Новикова Я.В. Полиморфные варианты CYP2C9 и VKORC1 у пациентов с патологией венозной системы нижних конечностей.// Амбулаторная хирургия. – 2007. – N 4. – 153–154.
 34. Загорская В.Л., Игнатьев И.В., Кропачева Е.С., Михеева Ю.М., Емельянов Н.В., Сычев Д.А., Панченко Е.П., Кулес В.Г. Полиморфный маркер G3673A гена VKORC1- новый генетический фактор, ассоциированный с развитием геморрагических осложнений при применении непрямых антикоагулянтов.// Клиническая фармакология и фармакоэкономика. – 2008. – №1. – 29–33.
 35. Емельянов Н.В., Кропачева Е.С., Игнатьев И.В., Сычев Д.А., Дмитриев В.А., Панченко Е.П. Полиморфный маркер G-1639(3673)A гена VKORC1, особенности дозирования и побочные эффекты перорального антикоагулянта аценокумарола в московской популяции пациентов с постоянной формой мерцательной аритмии. // Медицинская генетика. – 2009. – №4. – с. 40–43.
 36. Wadelius M, Chen LY, Eriksson N, Bumpstead S, Ghori J, Wadelius C, Bentley D, McGinnis R, Deloukas P. Association of warfarin dose with genes involved in its action and metabolism. *Hum Genet*. 2007 Mar; 121(1):23–34.
 37. Li JH, Xu JQ, Cao XM, Ni L, Li Y, Zhuang YY, Gong JB. Influence of the ORM1 phenotypes on serum unbound concentration and protein binding of quinidine. *Clin Chim Acta*. 2002 Mar; 317(1-2):85–92.
 38. Wang TL, Li HL, Tjong WY, Chen QS, Wu GS, Zhu HT, Hou ZS, Xu S, Ma SJ, Wu M, Tai S. Genetic factors contribute to patient-specific warfarin dose for Han Chinese. *Clin Chim Acta*. 2008 Oct; 396(1-2):76–9.
 39. Lee MT, Chen CH, Chou CH, Lu LS, Chuang HP, Chen YT, Saleem AN, Wen MS, Chen JJ, Wu JY, Chen YT. Genetic determinants of warfarin dosing in the Han-Chinese population. *Pharmacogenomics*. 2009 Dec; 10(12):1905–13.
 40. Kohnke H, Scordo MG, Pengo V, Padriani R, Wadelius M. Apolipoprotein E (APOE) and warfarin dosing in an Italian population. *Eur J Clin Pharmacol*. 2005 Nov; 61(10):781–3.
 41. Kimmel SE, Christie J, Kealey C, Chen Z, Price M, Thorn CF, Brensinger CM, Newcomb CW, Whitehead AS. Apolipoprotein E genotype and warfarin

- dosing among Caucasians and African Americans. *Pharmacogenomics J.* 2008 Feb; 8(1):53–60.
42. Lal S, Sandanaraj E, Jada SR, Kong MC, Lee LH, Goh BC, Lee SC, Chowbay B. Influence of APOE genotypes and VKORC1 haplotypes on warfarin dose requirements in Asian patients. *Br J Clin Pharmacol.* 2008 Feb; 65(2):260–4.
 43. Visser LE, Trienekens PH, De Smet PA, Vulto AG, Hofman A, van Duijn CM, Stricker BH. Patients with an ApoE epsilon4 allele require lower doses of coumarin anticoagulants. *Pharmacogenet Genomics.* 2005 Feb; 15(2):69–74.
 44. McDonald MG, Rieder MJ, Nakano M, Hsia CK, Rettie AE. CYP4F2 is a vitamin K1 oxidase: An explanation for altered warfarin dose in carriers of the V433M variant. *Mol Pharmacol.* 2009 Jun; 75(6):1337–46.
 45. Caldwell MD, Awad T, Johnson JA, Gage BF, Falkowski M, Gardina P, Hubbard J, Turpaz Y, Langaee TY, Eby C, King CR, Brower A, Schmelzer JR, Glurich I, Vidaillet HJ, Yale SH, Qi Zhang K, Berg RL, Burmester JK. CYP4F2 genetic variant alters required warfarin dose. *Blood.* 2008 Apr 15; 111(8):4106–12.
 46. Borgiani P, Ciccacci C, Forte V, Sirianni E, Novelli L, Bramanti P, Novelli G. CYP4F2 genetic variant (rs2108622) significantly contributes to warfarin dosing variability in the Italian population. *Pharmacogenomics.* 2009 Feb; 10(2):261–6.
 47. Pérez-Andreu V, Roldán V, Antón AI, García-Barberá N, Corral J, Vicente V, González-Conejero R. Pharmacogenetic relevance of CYP4F2 V433M polymorphism on acenocoumarol therapy. *Blood.* 2009 May 14; 113(20):4977–9.
 48. Takeuchi F, McGinnis R, Bourgeois S, Barnes C, Eriksson N, Soranzo N, Whittaker P, Ranganath V, Kumanduri V, McLaren W, Holm L, Lindh J, Rane A, Wadelius M, Deloukas P. A genome-wide association study confirms VKORC1, CYP2C9, and CYP4F2 as principal genetic determinants of warfarin dose. *PLoS Genet.* 2009 Mar; 5(3):e1000433.
 49. Pautas E, Moreau C, Gouin-Thibault I, Golmard JL, Mahé I, Legendre C, Taillandier-Héliche E, Durand-Gasselín B, Houllier AM, Verrier P, Beaune P, Lorient MA, Siguret V. Genetic factors (VKORC1, CYP2C9, EPHX1, and CYP4F2) are predictor variables for warfarin response in very elderly,

- frail inpatients. *Clin Pharmacol Ther.* 2010 Jan; 87(1):57–64.
50. Zhang JE, Jorgensen AL, Alfirevic A, Williamson PR, Toh CH, Park BK, Pirmohamed M. Effects of CYP4F2 genetic polymorphisms and haplotypes on clinical outcomes in patients initiated on warfarin therapy. *Pharmacogenet Genomics.* 2009 Oct; 19(10):781–9.
 51. Loebstein R, Vecsler M, Kurnik D, Austerweil N, Gak E, Halkin H, Almog S. Common genetic variants of microsomal epoxide hydrolase affect warfarin dose requirements beyond the effect of cytochrome P450 2C9. *Clin Pharmacol Ther.* 2005 May; 77(5):365–72.
 52. Chen LY, Eriksson N, Gwilliam R, Bentley D, Deloukas P, Wadelius M. Gamma-glutamyl carboxylase (GGCX) microsatellite and warfarin dosing. *Blood.* 2005 Nov 15; 106(10):3673–4.
 53. Kimura R, Miyashita K, Kokubo Y, Akaiwa Y, Otsubo R, Nagatsuka K, Otsuki T, Okayama A, Minematsu K, Naritomi H, Honda S, Tomoike H, Miyata T. Genotypes of vitamin K epoxide reductase, gamma-glutamyl carboxylase, and cytochrome P450 2C9 as determinants of daily warfarin dose in Japanese patients. *Thromb Res.* 2007; 120(2):181–6.
 54. Cha PC, Mushiroda T, Takahashi A, Saito S, Shimomura H, Suzuki T, Kamatani N, Nakamura Y. High-resolution SNP and haplotype maps of the human gamma-glutamyl carboxylase gene (GGCX) and association study between polymorphisms in GGCX and the warfarin maintenance dose requirement of the Japanese population. *J Hum Genet.* 2007; 52(10):856–64.
 55. Rai AJ, Udar N, Saad R, Fleisher M. A multiplex assay for detecting genetic variations in CYP2C9, VKORC1, and GGCX involved in warfarin metabolism. *Clin Chem.* 2009 Apr; 55(4):823–6.
 56. Ohno M, Yamamoto A, Ono A, Miura G, Funamoto M, Takemoto Y, Otsu K, Kouno Y, Tanabe T, Masunaga Y, Nonen S, Fujio Y, Azuma J. Influence of clinical and genetic factors on warfarin dose requirements among Japanese patients. *Eur J Clin Pharmacol.* 2009 Nov; 65(11):1097–103.
 57. Rieder MJ, Reiner AP, Rettie AE. Gamma-glutamyl carboxylase (GGCX) tagSNPs have limited utility for predicting warfarin maintenance dose. *J Thromb Haemost.* 2007 Nov; 5(11):2227–34.
 58. Lubitz SA, Scott SA, Rothlauf EB, Agarwal A, Peter I, Doheny D, van der Zee S, Jaremkó M, Yoo C, Desnick RJ, Halperin JL. Comparative

- performance of gene-based warfarin dosing algorithms in a multiethnic population. *J Thromb Haemost.* 2010 May; 8(5):1018–26.
59. Cadamuro J, Dieplinger B, Felder T, Kedenko I, Mueller T, Haltmayer M, Patsch W, Oberkofler H. Genetic determinants of acenocoumarol and phenprocoumon maintenance dose requirements. *Eur J Clin Pharmacol.* 2010 Mar; 66(3):253–60.
60. Sconce EA, Khan TI, Wynne HA, Avery P, Monkhouse L, King BP, Wood P, Kesteven P, Daly AK, Kamali F. The impact of CYP2C9 and VKORC1 genetic polymorphism and patient characteristics upon warfarin dose requirements: proposal for a new dosing regimen. *Blood.* 2005 Oct 1; 106(7):2329–33.
61. Takahashi H, Echizen H. Pharmacogenetics of CYP2C9 and interindividual variability in anticoagulant response to warfarin. *Pharmacogenomics J.* 2003; 3(4):202–14.
62. Tham LS, Goh BC, Nafziger A, Guo JY, Wang LZ, Soong R, Lee SC. A warfarin-dosing model in Asians that uses single-nucleotide polymorphisms in vitamin K epoxide reductase complex and cytochrome P450 2C9. *Clin Pharmacol Ther.* 2006 Oct; 80(4):346–55.
63. Gage BF, Eby C, Johnson JA, Deych E, Rieder MJ, Ridker PM, Milligan PE, Grice G, Lenzini P, Rettie AE, Aquilante CL, Grosso L, Marsh S, Langae T, Farnett LE, Voora D, Veenstra DL, Glynn RJ, Barrett A, McLeod HL. Use of pharmacogenetic and clinical factors to predict the therapeutic dose of warfarin. Use of pharmacogenetic and clinical factors to predict the therapeutic dose of warfarin. *Clin Pharmacol Ther.* 2008 Sep; 84(3):326–31.
64. Сычев Д.А., Антонов И.М., Кропачева Е.С., Панченко Е.П. Какой из алгоритмов дозирования варфарина, основанных на результатах фармакогенетического тестирования, подходят российским пациентам? // Кардиология. – 2010. – №4. – с. 35–37.
65. Caraco Y, Blotnick S, Muszkat M (2008) CYP2C9 genotype-guided warfarin prescribing enhances the efficacy and safety of anticoagulation: a prospective randomized controlled study. *Clin Pharmacol Ther.* 2008. 83:460–470.
66. Klein TE, Altman RB, Eriksson N, Gage BF, Kimmel SE, Lee MT, Limdi NA, Page D, Roden DM, Wagner MJ, Caldwell MD, Johnson JA (2009) Estimation of the warfarin dose with clinical and pharmacogenetic data. *N Engl J Med* 2009. 360:753–764.
67. Epstein RS, Moyer TP, Aubert RE, O Kane DJ, Xia F, Verbrugge RR, Gage BF, Teagarden JR. Warfarin genotyping reduces hospitalization rates results from the MM-WES (Medco-Mayo Warfarin Effectiveness study). *J Am Coll Cardiol.* 2010 Jun 22; 55(25):2804–12.
68. Huang SW, Chen HS, Wang XQ, Huang L, Xu DL, Hu XJ, Huang ZH, He Y, Chen KM, Xiang DK, Zou XM, Li Q, Ma LQ, Wang HF, Chen BL, Li L, Jia YK, Xu XM. Validation of VKORC1 and CYP2C9 genotypes on interindividual warfarin maintenance dose: a prospective study in Chinese patients. *Pharmacogenet Genomics.* 2009 Mar; 19(3):226–34.
69. Wadelius M, Chen LY, Lindh JD, Eriksson N, Ghori MJ, Bumpstead S, Holm L, McGinnis R, Rane A, Deloukas P. The largest prospective warfarin-treated cohort supports genetic forecasting. *Blood.* 2009 Jan 22; 113(4):784–92.
70. Сычев Д.А., Антонов И.М., Игнатъев И.В., Наумова Ю.В., Дмитриев В.А., Кропачева Е.С., Добровоский О.Б., Панченко Е.П., Ташенова А.И., Кукес В.Г. Антикоагулянтное действие и безопасность применения варфарина при его дозировании, основанном на результатах фармакогенетического тестирования: результаты первого российского проспективного исследования. // Кардиология. – 2010. – №5. – с. 42–46.
71. You JH, Chan FW, Wong RS, Cheng G. The potential clinical and economic outcomes of pharmacogenetics-oriented management of warfarin therapy - a decision analysis. *Thromb Haemost.* 2004 Sep; 92(3):590–7.
72. Laufs U, Nef H, Möllmann H, Custodis F, Böhm M. Clinical trial updates and hotline sessions presented at the Scientific Session 2007 of the American Heart Association. *Clin Res Cardiol.* 2008 Jan; 97(1):1–11.
73. Герасимова К.В., Авксентьева М.В., Сычев Д.А. Оценка экономического преимущества фармакогенетического подхода к дозированию варфарина по сравнению с традиционным // Биомедицина. – №3. – с. 39–41
74. Ray T: FDA updates warfarin labeling with PGx-guided dosing ranges. *Pharmacogenomics Reporter* 3 February 2010.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1.

Схематический алгоритм применения фармакогенетического тестирования для персонализации дозирования варфарина у пациентов в условиях реальной клинической практики.

Этап 1. Определить у пациента показания к применению варфарина (см. раздел 2.3).

- Если показаний для применения варфарина нет, проведение фармакогенетического тестирования не целесообразно.
- Если показания для применения варфарина имеются, необходимо определить риск развития кровотечений.

Этап 2. Определить у пациента риск развития кровотечений при применении варфарина по шкалам CRUSADE или HEMORR₂HAGES (см. раздел 3.1), исходя из модифицируемых и немодифицируемых факторов, имеющих у пациента.

- Если рассчитанный по указанным шкалам риск развития кровотечений расценивается как высокий или очень высокий, выполнение фармакогенетического тестирования обязательно.
- Если рассчитанный по указанным шкалам риск развития кровотечений расценивается как очень низкий, низкий или умеренный, то следует рассмотреть возможность выполнения фармакогенетического тестирования, т.е. фармакогенетическое тестирование желательно, но не обязательно.

Этап 3. Собрать информацию о пациенте для интерпретации результатов фармакогенетического тестирования по алгоритму Gage (возраст, пол, раса, рост, вес, отношение к курению, показание для назначения варфарина, исходное МНО, целевое значение МНО — середина терапевтического диапазона МНО, наличие заболевания печени, прием амиодарона и его доза, прием статинов, противогрибковых ЛС, сульфаниламидов), заполнить бланк направления на фармакогенетическое тестирование с соответствующей информацией о пациенте (см. Приложение 3).

Этап 4. Взять кровь у пациента для выполнения фармакогенетиче-

ского тестирования и транспортировать ее в лабораторию в соответствии с правилами сбора и транспортировки биологического материала (см. Приложение 3).

Этап 5. Получить результат фармакогенетического тестирования: генотипы пациента по *CYP2C9* и *VKORC1*.

Этап 6. Рассчитать поддерживающую дозу варфарина по алгоритму Gage с помощью on-line калькулятора на интернет-сайте <http://www.warfarindosing.org> или программы «PharmSuite», загруженной с сайта <http://pharmsuite.ru> (см. раздел 4.1): ввести информацию о выявленных генотипах по *CYP2C9* и *VKORC1*, а также другие характеристики пациента, занесенные в бланк направления.

Этап 7. Назначить варфарин в расчетной поддерживающей дозе. Если расчетная поддерживающая доза варфарина менее 2,5 мг в сутки, то в 1 и 2 дни рекомендуется назначить двойную расчетную дозу, а с 3-го дня — расчетную поддерживающую.

Этап 8. В последующие дни корректировать дозу варфарину по показателям МНО в соответствии с инструкцией по его медицинскому применению (Таблица 2).

ПРИЛОЖЕНИЕ 2.

Информированное согласие пациента на проведение фармакогенетического тестирования.

Фамилия, имя отчество пациента: _____

Дата рождения: _____

1. Я согласен на сохранение генетических данных, полученных в ходе фармакогенетического исследования, в форме отчета и на электронных носителях в закодированной форме и на их передачу любым организациям, привлеченным в дальнейшем для проведения научной оценки данных.
2. Я также позволяю исследователям изучать личные сведения обо мне, полученные исследователем, особенно касающиеся моего здоровья, в случае необходимости установления соответствия исследования требованиям к его проведению при условии сохранения конфиденциальности. В связи с этим я освобождаю исследователя от его/ее обязанности наблюдения за пациентом в условиях конфиденциальности.
3. До моего сведения доведено, что я могу в любое время отказаться от участия в фармакогенетическом исследовании. В случае моего отказа от участия в исследовании я согласен на использование сведений, полученных до этого момента, без упоминания моего имени.
4. Я согласен на изучение возможных связей между моими клиническими и генетическими данными. Настоящее согласие распространяется также на обозначенные данные, связанные с другими сведениями из иных источников.
5. Я согласен, чтобы мои анализы или ДНК были сохранены в течение, по крайней мере, 10 лет или до тех пор, пока не будет израсходован весь биоматериал для исследований. В течение этого времени могут проводиться контрольные или дополнительные фармакогенетические исследования с целями, описанными в данной Информации для пациентов, например, для последующих новых научных открытий. Я также понимаю, что поскольку мои

данные и образцы ДНК будут обезличены, меня нельзя будет более идентифицировать по ним.

7. Я проинформирован о следующих положениях закона: в случае моего отказа от дальнейшего участия в исследовании все учреждения, зарегистрировавшие мои личные данные, особенно сведения о моем здоровье, должны немедленно проверить необходимость зарегистрированных данных в соответствии с пунктами 1–3. Сведения, которые не потребуются в дальнейшем, будут по возможности сразу уничтожены. Как только образец моей ДНК будет обезличен, он не может быть уничтожен, поскольку невозможно будет определить, является ли он моим.

ЗАЯВЛЕНИЕ ИССЛЕДОВАТЕЛЯ

Настоящим я заявляю, что детально разъяснил пациенту цели, задачи, методику проведения фармакогенетического исследования, его преимущества и недостатки. Я ответил на все вопросы пациента.

Дата

Подпись исследователя

ФИО исследователя / уполномоченного представителя (печатными буквами):

ЗАЯВЛЕНИЕ ПАЦИЕНТА

Настоящим я подтверждаю, что прочитал информированное согласие для пациентов. Я согласен на проведение фармакогенетического тестирования по CYP2C9 и VKORC1.

Дата

Подпись пациента

Пациенту выдан экземпляр информации для пациентов и подписанный протокол информированного согласия. Другой оригинал остается у исследователя в архиве исследовательской организации. Соглашение не распространяется на ситуации, когда для его заключения необходимо участие третьего лица (в случае, если пациент не может читать) или законных представителей пациента.

ПРИЛОЖЕНИЕ 3.**Образцы врачебного направления и заключения фармакогенетического тестирования для персонализации дозирования варфарина.****А. Направление на фармакогенетическое исследование для выбора индивидуальной дозы варфарина.**

ФИО пациента _____ № истории болезни _____
 Отделение _____ Палата _____ Койка _____
 ФИО направившего врача, подпись _____
 Дата взятия образца крови _____

ИНФОРМАЦИЯ О ПАЦИЕНТЕ

Возраст _____ лет Пол (нужное подчеркнуть) М/Ж
 Раса (нужное подчеркнуть) европеоидная/монголоидная/негроидная
 Вес _____ кг Рост _____ см
 Отношение к курению в настоящее время (нужное подчеркнуть)
 курит/не курит
 Показание к применению варфарина (нужное подчеркнуть)
 Фибрилляция предсердий
 Тромбоз глубоких вен голени
 Протезированный клапан (или клапаны) сердца
 Другое показание (указать какое) _____
 Исходное МНО (до применения оральных антикоагулянтов)

 Целевое (желаемое) МНО _____
 Заболевания печени (нужное подчеркнуть) Нет / Есть
 Прием амиодарона (кордарона) в настоящее время (нужное подчеркнуть)
 Нет / Да в дозе _____ мг/сутки
 Прием статины в настоящее время (нужное подчеркнуть)
 Нет / Да, укажите какого _____
 Прием противогрибкового препарата в настоящее время (нужное подчеркнуть)
 Нет / Да, укажите какого _____
 Прием сульфаниламида в настоящее время
 Нет / Да, укажите какого _____

**ВНИМАНИЕ!
ИНСТРУКЦИЯ ПО ВЗЯТИЮ КРОВИ**

Венозная кровь отбирается в пробирку с антикоагулянтом ЭДТА (с синей крышкой), закрывается крышкой и тщательно перемешивается (10 переворотов пробирки), далее пробирка маркируется, указываются фамилия и инициалы пациента. Пробирка с кровью доставляется в лабораторию или замораживается в морозильной камере до момента передачи в лабораторию. В лабораторию образцы крови доставляются вместе с направлением.

РАЗМОРАЖИВАНИЕ ПРОБИРКИ С КРОВЬЮ ИСКЛЮЧЕНО!**НЕ ДОПУСКАЕТСЯ КОНТАКТА ВЗЯТОЙ КРОВИ С ГЕПАРИНОМ!****Б. Результаты фармакогенетического исследования для выбора индивидуальной дозы варфарина.**

ФИО пациента _____ № истории болезни _____
 Отделение _____ Палата _____ Койка _____
 ФИО направившего врача _____
 Дата взятия образца крови _____

При генотипировании у больного выявлены следующие комбинации аллелей:

Изучаемый ген	Генотип (нужное обвести)					
<i>CYP2C9</i>	*1/*1	*1/*2	*1/*3	*2/*2	*3/*3	*2/*3
<i>VKORC1</i>	-1639GG		-1639GA		-1639AA	

Для расчета рекомендуемой дозы варфарина на основании результатов фармакогенетического исследования также были использованы следующие индивидуальные характеристики пациента:

Возраст _____ лет Пол (нужное подчеркнуть) М / Ж
 Раса (нужное подчеркнуть) европеоидная / монголоидная / негроидная
 Вес _____ кг
 Рост _____ см

Отношение к курению в настоящее время (нужное подчеркнуть)

курит

не курит

Показание к применению варфарина (нужное подчеркнуть)

Фибрилляция предсердий

Тромбоз глубоких вен голеней

Протезированный клапан (или клапаны) сердца

Другое показание (указать какое) _____

Исходное МНО (до применения не прямых антикоагулянтов) _____

Целевое (желаемое) МНО _____

Заболевание печени (нужное подчеркнуть) Нет / Есть

Прием амиодарона (кордарона) в настоящее время (нужное подчеркнуть)

Нет / Да в дозе _____ мг/сутки

Прием статина в настоящее время (нужное подчеркнуть)

Нет / Да, укажите какого _____

Прием противогрибкового препарата в настоящее время (нужное подчеркнуть) Нет / Да, укажите какого _____

Прием сульфаниламида в настоящее время

Нет / Да, укажите какого _____

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.

С учетом результатов фармакогенетического исследования (выявление генотипа _____ гена CYP2C9 и генотипа _____ гена VKORC1), а также других индивидуальных характеристик пациента, при целевом МНО _____ рекомендуемая начальная доза варфарина составляет _____ мг/сутки, далее доза подбирается по МНО в соответствии с инструкцией по медицинскому применению варфарина.

ВНИМАНИЕ!

Применение варфарина в рекомендованной начальной дозе не заменяет контроль МНО!

ПРИЛОЖЕНИЕ 4.

Препараты, применение которых требует дополнительной коррекции дозы варфарина.

Следует усилить контроль безопасности терапии (из-за увеличения риска развития кровотечений) путем увеличения частоты измерения МНО с коррекцией дозы варфарина в сторону ее снижения при одновременном применении варфарина со следующими препаратами (при отмене этих препаратов также под контролем МНО следует повысить дозу варфарина):

Аллопуринол, амиодарон, азапропазон, азитромицин, альфа- и бета-интерферон, амитриптилин, безафибрат, витамин А, витамин Е, глибенкламид, глюкагон, гемфиброзил, гепарин, грепафлоксацин, даназол, декстропропексифен, диазоксид, дигоксин, дизопирамид, дисульфирам, зафирлукаст, индометацин, ифосфамид, итраконазол, кетоконазол, кларитромицин, клофибрат, кодеин, левамизол, ловастатин, метолазон, метотрексат, метронидазол, миконазол (в том числе в форме геля для полости рта), налидиксовая кислота, норфлоксацин, офлоксацин, омепразол, оксифенбутазон, парацетамол (особенно после 1-2 недель постоянного приема), пароксетин, пироксикам, прогуганил, пропafenон, пропранолол, противогриппозная вакцина, рокситромицин, сертралин, симвастатин, сульфазуразол, сульфаметизол, сульфаметоксазол-триметоприм, сульфafenазол, сульфинпиразон, сулиндак, стероидные гормоны (анаболические и/или андрогенные), тамоксифен, тегафур, тестостерон, тетрациклины, тиениловая кислота, толметин, трастузумаб, троглитазон, фенитоин, фенилбутазон, фенофибрат, фепазон, флуконазол, флуоксетин, фторурацил, флувастатин, флувоксамин, флутамид, хинин, хинидин, хлоралгидрат, хлорамфеникол, цефекоксид, цефамандол, цефалексин, цефменоксим, цефметазол, цефоперазон, цефуроксим, циметидин, ципрофлоксацин, циклофосфамид, эритромицин, этлопозид, этанол (включая алкогольные напитки и алкоголь-содержащие ЛС), а также фитопрепараты, содержащие гинкго (Ginkgo biloba), чеснок (Allium sativum), дягиль лекарственный (Angelica sinensis), папайя (Carica papaya), шалфей (Salvia miltiorrhiza). При отмене этих препаратов следует также под контролем МНО повысить дозу варфарина.

Следует усилить контроль эффективности применения варфарина путем измерения МНО через день с коррекцией дозы варфарина в сторону ее повышения при одновременном применении варфарина со следующими препаратами (при отмене этих препаратов для профилактики кровотечений следует снизить дозу варфарина под контролем МНО):

Азатиоприн, аминоглутетимид, барбитураты, вальпроевая кислота, витамин С, витамин К, глутетимид, гризеофульвин, диклоксациллин, дизопирамид, карбамазепин, колестирамин, коэнзим Q10, меркаптопурин, месалазин, миансерин, митотан, нафциллин, примидон, ретиноиды, ритонавир, рифампицин, рофекоксиб, спиронолактон, сукральфат, тразодон, феназон, хлордиазепоксид, хлорталидон, циклоспорин, а также фитопрепараты, содержащие женьшень (*Panax ginseng*) или зверобой (*Hypericum perforatum*).

Благодарности.

Выражаю искреннюю благодарность моим коллегам, без которых было бы невозможно проведение наших исследований в области клинической фармакогенетики оральных антикоагулянтов: акад. РАМН, проф. Кукесу В.Г., к.б.н. Игнатьеву И.В., проф. Раменской Г.В., проф. Панченко Е.П., к.м.н. Кропачевой Е.С., к.б.н. Казакову Р.Е., к.м.н. Емельянову Н.В., к.м.н. Антонову И.М., к.м.н. Загорской В.Л., к.м.н. Михеевой Ю.А., к.м.н. Булытовой Ю.М.

[illegible]