

## БЫСТРЫЕ ТЕМПЫ НАСЫЩЕНИЯ ВАРФАРИНОМ — ПРЕДИКТОР РАЗВИТИЯ ЧРЕЗМЕРНОЙ ГИПОКОАГУЛЯЦИИ. МОДЕРНИЗАЦИЯ АЛГОРИТМА ПОДБОРА ДОЗЫ ВАРФАРИНА

Е.С. Кропачева<sup>1</sup>, Н.Н. Боровков<sup>3</sup>, Т.В. Вавилова<sup>4</sup>, Н.К. Верейна<sup>5</sup>, Н.А. Воробьева<sup>6</sup>, И.С. Галкина<sup>2</sup>, Л.В. Грехова<sup>7</sup>, А.В. Гронтовская<sup>3</sup>, А.Е. Донников<sup>2</sup>, А.Б. Добровольский<sup>1</sup>, Н.И. Жолобова<sup>5</sup>, К.А. Загородникова<sup>4</sup>, Д.А. Затейщиков<sup>8</sup>, О.А. Землянская<sup>1</sup>, И.В. Зотова<sup>8</sup>, Г.А. Колеватова<sup>7</sup>, Н.В. Кох<sup>9</sup>, П.А. Лавринов<sup>6</sup>, Г.И. Лифшиц<sup>9</sup>, О.О. Максимова<sup>2</sup>, М.О. Митрошкина<sup>1</sup>, Е.П. Панченко<sup>1</sup>, А.С. Рогозина<sup>6</sup>, С.П. Синицын<sup>5</sup>, А. Слепухина<sup>9</sup>, О.В. Сироткина<sup>4</sup>, Е.В. Титаева<sup>1</sup>, Д.Ю. Трофимов<sup>2</sup>, О.Г. Федюшина<sup>3</sup>, В.С. Чулков<sup>5</sup>, Г.А. Цветовская<sup>9</sup>

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** варфарин, алгоритм подбора дозы, предикторы чрезмерной гипокоагуляции

В статье на основании данных проспективного наблюдения за больными, получающими терапию варфарином, проанализированы основные факторы, определяющие безопасность подбора поддерживающей дозы препарата. Выявлено, что достижение первого значения МНО  $\geq 2,0$  на 3–5-е сут. начала терапии варфарином достоверно связано с развитием чрезмерной гипокоагуляции (МНО  $\geq 4,0$ ). На основании оценки генотипа выявлена зависимость темпов насыщения варфарином от носительства аллельных вариантов *CYP2C9* и *VKORC1*. Показано, что быстрые темпы достижения антикоагулянтного эффекта в подавляющем большинстве случаев связаны с носительством «неблагоприятного генотипа» (аллельных вариантов *CYP2C9* \*2/\*2, или \*3/\*3, или 2/\*3, или аллельного варианта *AA VKORC1*, или одновременного носительства двух гетерозиготных полиморфизмов *CYP2C9* и *VKORC1*). Учитывая полученные результаты, авторами сделан вывод о высокой практической значимости проведения исследования крови на МНО на 3–5-е сут. от начала терапии. На основании проведенного дискриминантного анализа выявлен клинический предиктор развития чрезмерной гипокоагуляции, обусловленной передозировкой варфарина, — терапия амиодароном. Полученные данные легли в основу модификации существующего алгоритма подбора дозы варфарина.

<sup>1</sup> Институт кардиологии им. А.Л. Мясникова ФГБУ РКНПК МЗ РФ, Москва.

<sup>2</sup> ЗАО «НПФ ДНК-Технология», Москва.

<sup>3</sup> Нижегородская ГМА, кафедра госпитальной терапии.

<sup>4</sup> СПбГМА им. И.И. Мечникова, кафедра госпитальной терапии. Курс клинической лабораторной диагностики.

<sup>5</sup> Челябинская ГМА, кафедра внутренних болезней и эндокринологии, городской отдел патологии гемостаза, ГКБ №11.

<sup>6</sup> Северный филиал ФГУ Гематологического научного центра МЗ и СР РФ, Архангельск.

<sup>7</sup> ОГУЗ «Кировский областной кардиологический диспансер», Вятка.

<sup>8</sup> ФГУ Учебно-научный медицинский центр УДП РФ, Москва.

<sup>9</sup> ИХБФМ СО РАН, лаборатория персонализированной медицины, Новосибирск.

## ВВЕДЕНИЕ

Варфарин, назначаемый для профилактики тромбоэмболических осложнений у больных с фибрилляцией предсердий (ФП), искусственными клапанами и пороками сердца, а также для длительного лечения пациентов, перенесших венозные тромбоэмболические осложнения (ВТЭО), является основным антикоагулянтом для рутинной клинической практики [1–3]. Альтернативой варфарину являются «новые пероральные антикоагулянты», не требующие лабораторного контроля и имеющие лучший профиль безопасности. Однако варфарин не имеет альтернативы у больных с искусственными клапанами сердца, кроме того, накоплен большой клинический опыт его назначения больным с тяжелой сопутствующей патологией (в т. ч. пациентам пожилого возраста, больным с полиорганной патологией и тяжелой почечной недостаточностью). Основной сложностью терапии варфарином для врача является необходимость подбора индивидуальной дозы препарата и опасность развития чрезмерной гипокоагуляции и кровотечений. Понятия «средних доз варфарина» не существует, и предсказать дозу варфарина на основании только клинических факторов невозможно. В настоящее время определен ряд показателей, связанных с развитием чрезмерной гипокоагуляции, требующих уменьшения стартовой дозы варфарина: пожилой возраст, тяжелая печеночная и почечная недостаточность, послеоперационный период, терапия амиодароном. Однако, несмотря на существующий алгоритм титрования дозы, значительная вариабельность доз у разных больных и колебания у одного и того же больного на протяжении терапии представляет подчас для врача большую сложность.

В настоящее время определено, что чувствительность к варфарину в значительной степени

зависит от генотипа больного. Основным ферментом биотрансформации варфарина в печени является изофермент цитохрома P-450 *CYP2C9*, а молекулой-мишенью является витамин K — эпоксид-редуктазный комплекс (*VKORC<sub>1</sub>*). Наличие полиморфизмов *CYP2C9* и субъединицы 1 *VKORC<sub>1</sub>* является одним из факторов, обуславливающих различия в величине индивидуальной поддерживающей дозы варфарина. Пациенты — носители так называемых медленных аллельных вариантов *CYP2C9\*2* и *CYP2C9\*3* и носители генотипа *AA VKORC<sub>1</sub>* (G3673A) обладают повышенным риском кровотечений. У них чаще отмечается развитие чрезмерной гипокоагуляции при меньшей величине поддерживающей дозы варфарина [4–7]. Полученная в последнее десятилетие информация о генетических факторах, определяющих чувствительность к варфарину, позволила предложить фармакогенетический подход к подбору дозы варфарина. Хотя до настоящего времени целесообразность генотипирования перед назначением варфарина не доказана, тем не менее в инструкции по применению варфарина упоминается необходимость уменьшения стартовой дозы варфарина у пациентов — носителей аллельных вариантов *CYP2C9\*2/CYP2C9\*3* или генотипа *AA*, или *GA* по *VKORC<sub>1</sub>*.

В 2013 г. завершилось российское исследование Варфаген, продемонстрировавшее преимущество фармакогенетического подхода в отношении времени достижения целевых значений МНО и уменьшения частоты как бессимптомной, так и сопровождающихся кровотечениями эпизодов чрезмерной гипокоагуляции в первый месяц лечения. Полученные данные позволили поставить следующие дополнительные цели, имеющие значение для практического здравоохранения:

— выявить взаимосвязь между темпами насыщения варфарином и развитием чрезмерной гипокоагуляции (МНО  $\geq 4,0$ );

- проанализировать зависимость динамики повышения МНО от носительства аллельных вариантов *CYP2C9* и *VKORC<sub>1</sub>*;
- выявить генетические и клинические предикторы развития чрезмерной гипокоагуляции, обусловленной передозировкой варфарина.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

**Критерии включения** — в исследование включались больные старше 18 лет, нуждающиеся в длительной антикоагулянтной терапии, ранее не принимавшие варфарин или принимавшие его без достижения целевых значений МНО. Показанием для терапии варфарином служили наличие факторов риска ишемического инсульта у больного с ФП, наличие искусственного клапана сердца, а также профилактика рецидивов ВТЭО после перенесенного тромбоза глубоких вен (ТГВ) или тромбоемболии легочной артерии (ТЭЛА). **Критерии исключения** — традиционные противопоказания к терапии варфарином и состояния, потенциально опасные развитием кровотечений при антикоагулянтной терапии.

**Дизайн** исследования предполагал назначение стартовой дозы варфарина 5 мг в сутки всем пациентам, контроль МНО предусматривался на 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15 и 30-е сут. При необходимости использовался более частый контроль МНО. Продолжительность наблюдения составила 1 мес. Всем пациентам было проведено генотипирование *CYP2C9* и *VKORC<sub>1</sub>*.

**На протяжении периода наблюдения фиксировались следующие события:**

- эпизоды МНО  $\geq 4,0$  при подборе терапевтической дозы варфарина;
- количество дней до первого значения МНО  $\geq 2,0$ ;
- время достижения целевого диапазона МНО (наличие двух близких значений МНО в пределах терапевтического диапазона).

**Генотипирование** *CYP2C9* и *VKORC<sub>1</sub>* было проведено всем пациентам методами, основанными на полимеразной цепной реакции компанией «ДНК-технологии».

**Контроль МНО.** Значения МНО определялись с помощью автоматических анализаторов с использованием пары прибор/реактив: STA/Neoplastin, Sysmex CA-500/Tromborel S и ACL-7000/PT fibrinogen HS plus. Для оценки сопоставимости результатов локального определения МНО на этапе предварительной подготовки к исследованию во всех лабораториях было проведено определение показателя в двух контрольных образцах патоплазмы. Величина отклонения, рассчитанная по формуле  $100 \times (\text{МНО локальное} - \text{МНО среднее}) / \text{МНО среднее}$ , составила  $\pm 9,9\%$  и  $\pm 13,2\%$  для образцов со значением МНО 1,8 и 2,5 соответственно.

**Статистическая обработка результатов.** Статистический анализ данных проводился с использованием системы SAS (Statistical Analysis System). Для оценки достоверности межгрупповых различий был использован непараметрический критерий Манна — Уитни, а также точный критерий Фишера и критерий  $\chi$ -квадрат. Для определения прогностической значимости показателей использовалась процедура пошагового дискриминантного анализа. Использовались общепринятые критерии достоверности различий.

**Клиническая характеристика больных.** Для выполнения данных целей использовались две когорты больных, сопоставимых по полу, возрасту, нозологическим характеристикам. Первую составили 136 пациентов, получавших варфарин по «стандартному алгоритму» (в стартовой дозе 5 мг с последующим титрованием под контролем МНО до достижения индивидуальной дозы) в рамках исследования Варфаген. (В исследовании приняли участие города: Архангельск, Вятка, Москва,

Нижний Новгород, Новосибирск, Санкт-Петербург, Челябинск). Вторую составила ретроспективная когорта больных ( $n = 72$ ), получающих варфарин и находящихся под патронажным наблюдением в РКНПК. Необходимыми условиями включения пациента в ретроспективную группу были стартовая доза варфарина 5 мг, имеющиеся данные о значениях МНО на протяжении 1 мес. и данные о генотипировании *CYP2C9* и *VKORC1*.

Всего в исследование было включено 208 пациентов (100 мужчин и 108 женщин) в возрасте от 23 до 83 лет (средний возраст составил  $65,5 \pm 10,9$  года). Клиническая характеристика больных представлена в *таблице 1*.

Основным показанием для назначения варфарина являлась фибрилляция предсердий —

таких пациентов в исследовании было 69,7%. В соответствии с современными представлениями о стратификации риска пациенты нашего исследования могут быть отнесены к категории высокого риска инсульта. Средний балл по шкале CHA<sub>2</sub>DS<sub>2</sub>-VASc составил  $3,4 \pm 1,3$ . Вторым по частоте встречаемости показанием для назначения варфарина был перенесенный ТГВ или ТЭЛА (23,6% пациентов). Среди факторов риска сердечно-сосудистых осложнений наиболее часто встречалась артериальная гипертония (у подавляющего большинства пациентов) и ИБС, имевшаяся практически у каждого третьего больного. Наличие сопутствующих заболеваний печени или почек с нарушением функции суммарно встречалось не более чем у 15% пациентов.

**ТАБЛИЦА 1. Клиническая характеристика больных, включенных в исследование**

Показатель	Всего
Возраст, лет (M ± SD)	65,5 ± 10,9
Возраст >75 лет (%)	10,6
Мужчины/женщины (%)	48,1/51,9
Фибрилляция предсердий (%)	69,7
Тромбоз глубоких вен/тромбоз эмболия легочной артерии (%)	23,6
Искусственный клапан сердца (%)	4,3
Тромбоз левого желудочка (%)	2,4
Для больных с ФП средний балл по шкале CHA <sub>2</sub> DVA <sub>2</sub> Sc-Vasc (M ± SD)	3,4 ± 1,3
Наличие ИИ/ТИА/СЭ в анамнезе (%)	17,3
Хроническая сердечная недостаточность (%)	12,5
ИБС (острый коронарный синдром в анамнезе или стабильная стенокардия в настоящее время) (%)	29,3
Сахарный диабет (%)	12,5
Артериальная гипертония (%)	82,7
Заболевание печени, сопровождающееся снижением белково-синтетической функции или повышением гепатоспецифических ферментов (%)	3,8
ХПН (снижение СКФ <60 мл/мин) (%)	8,6
Любое заболевание почек в анамнезе (%)	16,8
Сопутствующая терапия дигоксином (%)	9,6
Сопутствующая терапия амиодароном (%)	11,54
<i>ИИ — ишемический инсульт, ТИА — транзиторная ишемическая атака, СЭ — системные эмболии, ХПН — хроническая почечная недостаточность.</i>	

**ТАБЛИЦА 2. Распределение генотипов *CYP2C9* и *VKORC1* у пациентов, включенных в исследование**

Генотип	<i>CYP2C9</i>						Всего <i>VKORC1</i>
	*1/*1	*1/*2	*1/*3	*2/*2	*2/*3	*3/*3	
<i>VKORC1</i>							
G/G	29,8	7,2	3,37	0,48	0,96	0	41,9
G/A	30,3	8,17	4,33	2,4	1,44	0	46,64
A/A	6,73	1,92	0,96	0,48	0,96	0,48	11,53
Всего	66,83	17,29	8,66	3,36	3,36	0,48	100
<i>CYP2C9</i>							(99,98)

Всем пациентам, включенным в исследование, было проведено генотипирование *CYP2C9* и *VKORC1*, результаты которого представлены в таблице 2. Большинство пациентов, включенных в исследование (66,83%), являлись носителями генотипа *CYP2C9\*1*. Наиболее частыми аллельными вариантами были *CYP2C9 1\*2* и *CYP2C9 1\*3*, на долю которых пришлось 26%. Частота аллельных вариантов \*2\*2, \*2\*3 и \*3\*3, как и в других исследованиях, была невелика и составила 7,2%.

При оценке генотипа *VKORC1* было выявлено, что наиболее частыми аллельными вариантами гена являются *GA* и *GG*, на долю которых приходится 46,64 и 41,9% соответственно. Частота гомозиготного полиморфизма генотипа *AA VKORC1* составила 11,53%.

Предшествующие исследования [7–9] показали, что из всех возможных вариаций полиморфизмов наиболее значимыми в отношении риска развития чрезмерной гипокоагуляции и геморрагических осложнений являются гомозиготные полиморфизмы или сочетания гетерозиготных полиморфизмов: аллельные варианты *CYP2C9 \*2\*2*, или \*3\*3, или \*2\*3, или аллельный вариант *AA VKORC1*, или одновременное носительство двух гетерозиготных полиморфизмов *CYP2C9* и *VKORC1*. Процент таких больных в нашем исследовании составил 29,31%, что позволило нам объединить эту категорию, назвав ее условно «неблагоприятный генотип».

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При анализе значений МНО у больных, получавших варфарин в соответствии со стандартным алгоритмом с начальной дозой 5 мг в сутки, было выявлено, что развитие чрезмерной гипокоагуляции в течение первого месяца отмечалось у 26,9%. В данный параметр включались как бессимптомные эпизоды повышения МНО, так и сопровождавшиеся развитием кровотечений. Практически половина эпизодов была бессимптомная, а частота всех кровотечений (и больших, и малых), связанных с передозировкой варфарина, в первый месяц терапии составила 12%. Частота больших кровотечений, произошедших при МНО  $\geq 4,0$ , составила 3,8%.

С целью поиска предикторов развития чрезмерной гипокоагуляции при подборе дозы варфарина был проведен пошаговый дискриминантный анализ. По результатам однофакторного анализа из всех изученных клинических и генетических показателей было отобрано восемь, значение *p* для которых было  $< 0,2$ : возраст  $> 65$  лет, генотип *AA VKORC1*, аллельные варианты *CYP2C9\*2* и *CYP2C9\*3*, сочетание генотипа *CYP2C9\*1* и *GG VKORC1*, «неблагоприятный генотип» (аллельные варианты *CYP2C9 \*2\*2*, или \*3\*3, или \*2\*3, или аллельный вариант *AA VKORC1*, или одновременное носительство двух гетерозиготных полиморфизмов

*CYP2C9* и *VKORC1*), терапия амиодароном, ХПН, хроническая сердечная недостаточность. Вышеперечисленные признаки были включены в пошаговый дискриминантный анализ, по результатам которого было определено следующее. Генетическими предикторами чрезмерной гипокоагуляции при подборе дозы варфарина являются генотип AA *VKORC1*, «неблагоприятный генотип», аллельные варианты *CYP2C9* 2\*2, или 2\*3, или 3\*3 и отсутствие одновременного носительства вариантов GG *VKORC1* и *CYP2C9*1\*1. Клиническим предиктором была терапия амиодароном в течение 30 дней до назначения варфарина (независимо от дозы и способа введения) (табл. 3).

С целью выявления взаимосвязи между темпами насыщения варфарином и развитием чрезмерной гипокоагуляции (МНО  $\geq 4,0$ ) нами была проанализирована зависимость развития чрезмерной гипокоагуляции от времени достижения целевых значений МНО. Было выявлено, что в группе пациентов, имевших значения МНО  $\geq 4,0$  в период подбора дозы варфарина, достоверно быстрее происходило достижение антикоагулянтного эффекта. У этих больных в среднем первое значение МНО  $\geq 2,0$  регистрировалось на  $4,35 \pm 1,71$  сут. против  $10,2 \pm 5,07$  сут. среди больных, не имев-

ших эпизодов чрезмерной гипокоагуляции ( $p = 0,03$ ).

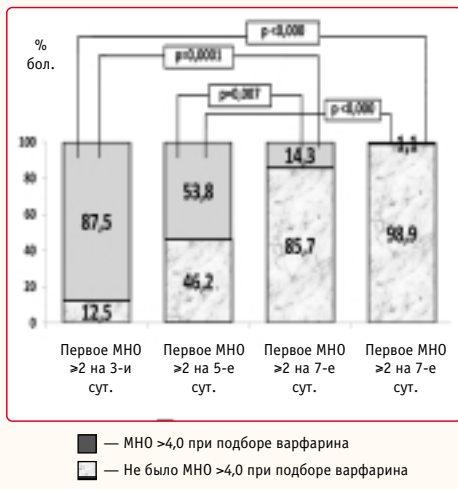
Таким образом, обнаружив, что у пациентов с быстрым темпом насыщения варфарина достоверно чаще наступает чрезмерная гипокоагуляция, мы отдельно проанализировали частоту развития эпизодов МНО  $\geq 4,0$  при подборе дозы варфарина у больных при достижении первого значения МНО  $\geq 2,0$  на 3-й, 5-й, 7-й день и более соответственно (рис. 1).

Была выявлена достоверная зависимость между временем достижения значения МНО  $\geq 2,0$  и частотой эпизодов развития чрезмерной гипокоагуляции при подборе дозы варфарина. Достоверно чаще чрезмерная гипокоагуляция в начале лечения отмечалась у больных, имевших первое значение МНО  $\geq 2,0$  на 3-и и 5-и сут. Наибольший процент случаев (87,5%) МНО  $\geq 4,0$  при подборе дозы варфарина был отмечен у больных, первое значение МНО  $\geq 2$  у которых достигалось на 3-и сут. Достижение значения МНО  $\geq 2,0$  на 7-е сут. сопровождалось развитием чрезмерной гипокоагуляции (МНО  $\geq 4,0$ ) лишь у 14,3% случаев, а наименьший процент значений МНО  $\geq 4,0$  (1,1%) отмечался у больных, первое значение МНО  $\geq 2,0$  было зарегистрировано спустя 7 и более дней от начала лечения (рис. 1).

**ТАБЛИЦА 3. Предикторы развития чрезмерной гипокоагуляции (МНО  $\geq 4,0$ ) при подборе дозы варфарина**

Дискриминантный анализ		
Признак	F-remove	p-level
Генотип AA <i>VKORC1</i>	14,08	0,0001
Терапия амиодароном в течение 30 дней до назначения варфарина (независимо от дозы и способа введения)	8,09	0,004
Отсутствие одновременного носительства аллельных вариантов GG <i>VKORC1</i> и аллельного варианта <i>CYP2C9</i> 1*1	5,97	0,015
«Неблагоприятный генотип» (аллельные варианты <i>CYP2C9</i> *2/*2, или *3/*3, или 2/*3, или аллельный вариант AA <i>VKORC1</i> , или одновременное носительство двух гетерозиготных полиморфизмов <i>CYP2C9</i> и <i>VKORC1</i> )	4,15	0,042
Аллельные варианты <i>CYP2C9</i> 2*2, или 2*3, или 3*3	3,91	0,048

**РИСУНОК 1. Зависимость развития передозировки варфарина (МНО  $\geq 4,0$ ) при подборе дозы от времени достижения значения МНО  $\geq 2,0$**



Предполагая наличие влияния генотипа пациента на темпы насыщения варфарином, нами была проанализирована зависимость темпов достижения антикоагулянтного эффекта от генотипа *CYP2C9* и *VKORC1*.

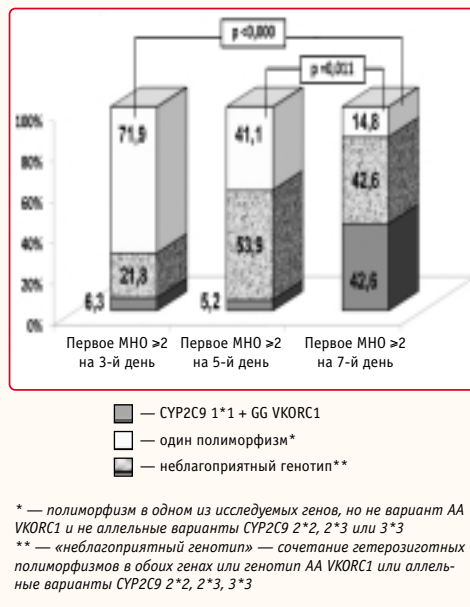
Была выявлена достоверная зависимость между генотипом и темпами насыщения варфарином. Достижение первого МНО  $\geq 2,0$  на 3-и и 5-и сут. было обусловлено носительством «неблагоприятного генотипа» (аллельных вариантов *CYP2C9* \*2, *CYP2C9* \*3, или аллельного варианта AA *VKORC1*, или одновременного носительства двух гетерозиготных полиморфизмов *CYP2C9* и *VKORC1*). Практически две трети пациентов (71,9%), имевших первое значение МНО  $\geq 2,0$  на 3-и сут. терапии, были носителями «неблагоприятного генотипа», что было достоверно больше, чем число подобных пациентов среди достигнувших первого значения МНО  $\geq 2,0$  на 7-й день и более. Подобная достоверная зависимость была выявлена и для больных, достигнувших первого значения МНО  $\geq 2,0$  на

5-е сут. В этой группе 41,1% пациентов являлись носителями «неблагоприятного генотипа».

Обратная зависимость была выявлена у больных, первое значение МНО  $\geq 2,0$  которых было зафиксировано на 7-е сут. или более от начала терапии варфарином. Подавляющее большинство пациентов имели или сочетание «дикого» генотипа *CYP2C9* и *VKORC1*, или наличие одного гетерозиготного полиморфизма. А число пациентов — носителей «неблагоприятного генотипа» в этой подгруппе было всего лишь 14,8% (рис. 2).

Таким образом, было выявлено, что быстрые темпы насыщения варфарином приводят к

**РИСУНОК 2. Зависимость достижения целевых значений МНО от генотипа**



развитию чрезмерной гипокоагуляции, а результаты однофакторного анализа продемонстрировали, что причиной этого является в большинстве случаев носительство полиморфных аллельных вариантов *CYP2C9* и *VKORC1*.

Для проверки значимости выявленной взаимосвязи и поиска предикторов достижения первого МНО  $\geq 2,0$  на 3-и и 5-и сут. был проведен пошаговый дискриминантный анализ (табл. 4).

Предикторами достижения первого значения МНО  $\geq 2,0$  на 3-и сут. терапии варфарином, приводящего к развитию чрезмерной гипokoагуляции, были следующие показатели: генотип *AA VKORC<sub>1</sub>* как в сочетании с любым аллельным вариантом *CYP2C9*, так и сочетании с аллельным вариантом *CYP2C9\* 1\*1* и терапия амиодароном.

Предикторами достижения первого значения МНО  $\geq 2,0$  на 5-е сут. терапии варфарином, приводящего к развитию чрезмерной гипokoагуляции, были следующие показатели: генотип *AA VKORC<sub>1</sub>*, аллельные варианты *CYP2C9 2\*2*, или *2\*3*, или *3\*3*, отсутствие одновременно носительства вариантов *GG VKORC<sub>1</sub>* и *1\*1 CYP2C9* и терапия амиодароном.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Несмотря на появление новых пероральных антикоагулянтов, для рутинной клинической

практики варфарин по-прежнему остается основным препаратом. Однако около трети — половины больных не получают пероральные антикоагулянты при наличии абсолютных показаний [2]. Причиной неназначения варфарина является не только риск кровотечений, но и сложность подбора индивидуальной дозы препарата.

Основной зоной риска является начало терапии. Несмотря на существующий алгоритм, частота развития передозировки варфарина, как бессимптомной, так и осложненной развитием кровотечений, в период подбора индивидуальной дозы остается высокой [10–14]. Среди наших пациентов, не являющихся искусственной выборкой, а представляющих собой стандартную когорту больных на приеме у врача-кардиолога, развитие чрезмерной гипokoагуляции в течение первого месяца отмечалось у 26,9% больных.

Проведенный многофакторный пошаговый дискриминантный анализ подтвердил значение генетических факторов в развитии передозировки варфарином в начале терапии, что согласуется с данными других авторов [15–18]. При этом носительство полиморфных аллель-

**ТАБЛИЦА 4. Предикторы первого значения МНО  $\geq 2,0$  на 3-и и 5-е сут. терапии варфарином, приводящие к развитию чрезмерной гипokoагуляции**

Признак	F-remove	p-level
<b>Предикторы первого МНО <math>\geq 2,0</math> на 3-и сут. терапии варфарином</b>		
Генотип <i>AA VKORC<sub>1</sub></i> в сочетании с любым аллельным вариантом <i>CYP2C9</i>	51,9	0,0000
Сочетание генотипа <i>AA VKORC<sub>1</sub></i> и аллельного варианта <i>CYP2C9*1*1</i>	20,7	0,0000
Терапия амиодароном в течение 30 дней до назначения варфарина (независимо от дозы и способа введения)	4,75	0,03
<b>Предикторы первого МНО <math>\geq 2,0</math> на 5-е сут. терапии варфарином</b>		
Отсутствие одновременного носительства аллельных вариантов <i>GG VKORC<sub>1</sub></i> и аллельного варианта <i>CYP2C9*1*1</i>	12,43	0,0005
Генотип <i>AA VKORC<sub>1</sub></i> в сочетании с любым аллельным вариантом <i>CYP2C9</i>	12,1	0,0006
Аллельные варианты <i>CYP2C9 2*2</i> , или <i>2*3</i> , или <i>3*3</i>	11,56	0,0008
Терапия амиодароном в течение 30 дней до назначения варфарина (независимо от дозы и способа введения)	9,5	0,002



ных вариантов *CYP2C9* и *VKORC<sub>1</sub>* достаточно распространено. Среди пациентов, включенных в наше исследование, частота генотипов *CYP2C9\*2* и *CYP2C9\*3* составила 26%, а частота генотипа AA *VKORC<sub>1</sub>* — 11,53%, что согласуется с рядом других работ, выполненных как в РФ, так и в странах Европы и Северной Америке [4, 17, 19–20]. Частота носительства наиболее неблагоприятного в отношении безопасности терапии сочетания полиморфизмов *CYP2C9* и *VKORC<sub>1</sub>*, условно названного «неблагоприятный генотип», составила 29,31%.

Наряду с известными фактами о связи носительства аллельных вариантов *CYP2C9* и *VKORC<sub>1</sub>* с развитием чрезмерной гипокоагуляции и кровотечения проведенный дискриминантный анализ выявил клинический предиктор передозировки варфарина. Им оказалась терапия амиодароном. Амиодарон имеет ряд клинических особенностей, принципиально важных для терапии варфарином. Амиодарон является ингибитором ряда изоферментов (*CYP2C9*, *CYP2D6*, *CYP3A4*, *CYP3A5*, *CYP3A7*), наиболее важным из которых для терапии варфарином является *CYP2C9* — основной фермент его биотрансформации. Для амиодарона характерны длительный период полувыведения и большая индивидуальная вариабельность, так, после продолжительного перорального приема средний  $T_{1/2}$  составляет 40 дней. При внутривенном введении амиодарона его активность достигает максимума через 15 мин и исчезает через 4 ч после введения. Однако концентрация амиодарона в крови быстро снижается за счет поступления его в ткани, откуда он выводится постепенно. Данные о взаимном влиянии двух препаратов не являются открытием. Работы о механизме взаимодействия варфарина и амиодарона появились еще в 90-х гг. [21–23], а ретроспективный анализ [21] продемонстрировал необходимость снижения суточной дозы варфарина на 6–65% у больных, принимающих

амиодарон. Субанализ исследования ARISTORLE [24] показал, что у пациентов, принимавших варфарин совместно с амиодароном, достоверно меньший процент значений МНО находился в пределах терапевтического диапазона.

Однако различные способы приема (внутривенный или пероральный, как постоянный, так и с целью купирования пароксизма ФП) часто приводят к недоучету врачом всех аспектов терапии. Часто врачами и самими пациентами постоянный прием интерпретируется как ежедневная пероральная терапия. Это приводит к недооценке внутривенного введения амиодарона и самостоятельного его перорального приема больными с целью купирования аритмии. Учитывая длительность и зависимость периода полувыведения амиодарона от ряда клинических характеристик (возраст, почечная функция, масса тела), в качестве показателя для пошагового дискриминантного анализа в нашем исследовании учитывался любой прием амиодарона (как пероральный, так и внутривенный), в том числе пероральный прием в дозе 600 мг и выше хотя бы однократно за 30 дней до начала терапии варфарином, а также прекращение ежедневной терапии амиодароном в течение месяца до начала приема варфарина.

Полученный результат подтверждает значимость оценки врачом всех аспектов терапии амиодароном и необходимость объяснения пациенту взаимодействия варфарина и амиодарона с целью избежать развития чрезмерной гипокоагуляции.

Несмотря на то что достижение антикоагулянтного эффекта при терапии варфарином происходит медленно, есть пациенты, у которых первые значения МНО  $\geq 2,0$  отмечаются уже на 3–5-е сут. Однако быстрое насыщение варфарином имеет негативные последствия: у пациентов, имевших значения МНО  $\geq 4,0$  в период подбора дозы варфарина, в среднем первое значение МНО  $\geq 2,0$  регистрировалось на

4,35 ± 1,71 дня против 10,2 ± 5,07 дня среди больных, не имевших эпизодов чрезмерной гипокоагуляции.

Была выявлена зависимость между скоростью достижения антикоагулянтного эффекта и безопасностью терапии. Достоверно чаще чрезмерная гипокоагуляция в начале лечения отмечалась у больных, имевших первое значение МНО ≥2,0 на 3-и и 5-и сут. Таких больных среди них было 87,5% и 53,8% соответственно. А наиболее безопасным подбор терапии был для пациентов, у которых первое значение МНО ≥2,0 отмечалось лишь к началу 2-й нед.

Почему же у некоторых больных насыщение варфарином происходит так быстро, что приводит к передозировке препарата и развитию чрезмерной гипокоагуляции?

В настоящее время является доказанным, что различия в величине индивидуальной поддерживающей дозы варфарина обусловлены генотипом основного фермента биотрансформации *CYP2C9* и молекулы-мишени *VKORC<sub>1</sub>*. Носительство «медленных» аллельных вариантов *CYP2C9\*2* и *CYP2C9\*3* приводит к снижению скорости биотрансформации варфарина и ассоциируется с низкой поддерживающей дозой варфарина [4, 6–9]. А для пациентов — носителей генотипа AA *VKORC<sub>1</sub>* характерно снижение экспрессии гена, кодирующего *VKORC<sub>1</sub>*, что также обуславливает потребность в низких дозах варфарина [5–7, 18]. Учитывая, что нагрузочная доза варфарина стандартна для всех больных, можно предположить, что она может оказаться гораздо выше дозы, требуемой пациенту — носителю полиморфных аллелей, и в таком случае произойдет передозировка варфарина, проявляющаяся повышением МНО и кровотечением.

Полученные результаты подтверждают эту гипотезу. Практически две трети пациентов (71,9%), имевших первое значение МНО ≥2,0 на 3-и сут. терапии, и 41,1% среди имевших первое МНО ≥2,0 на 5-е сут. были носителями «небла-

гоприятного генотипа». Полученные данные согласуются с работами, продемонстрировавшими, что наиболее значимыми в отношении риска развития чрезмерной гипокоагуляции и геморрагических осложнений являются носители гомозиготных полиморфизмов в любом из указанных генов или сочетания носительства гетерозиготных полиморфизмов *CYP2C9* и *VKORC<sub>1</sub>* [7–9, 18, 20].

Наиболее безопасными были темпы насыщения варфарином, продемонстрированные пациентами, не имеющими полиморфных аллелей (носителями так называемого дикого генотипа). Обращает на себя внимание, что в отсутствие генетических нарушений чувствительности к варфарину число пациентов, имевших первое МНО ≥2,0 на 3-и и 5-е сут., чрезвычайно мало — 6,3% и 5,2% соответственно. Данный факт еще раз подтверждает, что варфарин является препаратом для создания медленной антикоагуляции, что и происходит у больных, не имеющих генетически обусловленных нарушений чувствительности к варфарину.

Для проверки значимости выявленной взаимосвязи и поиска предикторов достижения первого МНО ≥2,0 на 3-и и 5-е сут., был проведен пошаговый дискриминантный анализ, подтвердивший высокую значимость генетически обусловленных нарушений метаболизма варфарина и терапии амиодароном.

Интересным представляется факт, что достижение первого МНО ≥2,0 на 3-и сут. терапии варфарином, приводящее к чрезмерной гипокоагуляции, обусловлено в первую очередь генотипом AA *VKORC<sub>1</sub>*. Данный показатель имел значение не только при его сочетании с аллельными вариантами *CYP2C9*, но и при самостоятельной оценке (в сочетании с аллельным вариантом *CYP2C9\*1\*1*). В качестве генетических предикторов для достижения МНО ≥2,0 на 5-е сут. терапии, приводящего к чрезмерной гипокоагуляции, имели значение как генотип AA *VKORC<sub>1</sub>*, так и аллель-

**ТАБЛИЦА 5. Алгоритм подбора дозы варфарина (таблетки по 2,5 мг)\***

<i>Первые 2–3 дня — 2 таблетки (5 мг) однократно вечером после ужина</i>		
3–4-й день	МНО <1,5	Увеличить суточную дозу на 1/4 табл. Контроль МНО через 2 дня
	МНО 1,5–2,0	Оставить суточную дозу без изменений. Контроль МНО через 2 дня
	МНО ≥2,0	Пропустить 1–2 приема варфарина. Возобновить прием при МНО 2,0–2,5 в дозе 1 табл. Контроль МНО через 1–2 дня
	МНО >3,0	Пропустить 2 приема варфарина. Возобновление приема МНО 2,0–2,5 в дозе 1/2 табл. Контроль МНО через 1–2 дня
5–6-й день	МНО <1,5	Увеличить суточную дозу на 1/2 табл. Контроль МНО через 2 дня
	МНО 1,5–2,0	Увеличить суточную дозу на 1/4 табл. Контроль МНО через 2 дня
	МНО 2,0–2,5	Оставить суточную дозу без изменений. Контроль МНО через 2 дня
	МНО 2,5–3,0	Увеличить суточную дозу на 1/4 табл. Контроль МНО через 2 дня
	МНО >3,0	Пропустить 1–2 приема варфарина. Возобновить прием при МНО 2,0–2,5 в дозе 1 табл. Контроль МНО через 1–2 дня
7–8-й день	МНО <1,5	Увеличить суточную дозу на 1/2 табл. Контроль МНО через 2 дня
	МНО 1,5–2,0	Увеличить суточную дозу на 1/4 табл. Контроль МНО через 2 дня
	МНО 2,0–3,0	Оставить суточную дозу без изменений. Контроль МНО через 2 дня
	МНО >3,0	Пропустить 1–2 приема варфарина. Возобновить прием при МНО 2,0–2,5, уменьшив дозу на 1/2 табл. Контроль МНО через 1–2 дня
<i>Дальнейшее МНО 1 раз в 2–3 дня с использованием алгоритма 7–8-го дня</i>		
<b>Дополнения к алгоритму подбора дозы варфарина</b>		
<p>Меньшие стартовые дозы (2,5–3,75 мг) рекомендуются больным:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>— старше 75 лет;</li> <li>— имеющим низкую массу;</li> <li>— хроническую сердечную недостаточность;</li> <li>— почечную недостаточность;</li> <li>— в раннем послеоперационном периоде;</li> <li>— при исходном нарушении функции печени;</li> <li>— при совместном приеме амиодарона*. При оценке значимости амиодарона необходимо учитывать любой способ его приема (как пероральный, так и внутривенный); также учитывается пероральный в дозе 600 мг и выше хотя бы однократно за 30 дней до назначения варфарина, а также прекращение постоянной терапии амиодароном в течение 1 мес. до назначения варфарина.</li> </ul>		
<p>* Доза варфарина считается подобранной при получении двух близких последовательных значений МНО в целевом диапазоне.</p>		

ные варианты CYP2C9 2\*2, или 2\*3, или 3\*3 и отсутствие одновременного носительства вариантов GG VKORC<sub>1</sub> и 1\*1 CYP2C9.

Терапия амиодароном, продемонстрировавшая высокую значимость в развитии чрезмер-

ной гипокоагуляции, подтвердила свою роль в механизмах данного явления, оказавшись клиническим предиктором быстрых темпов насыщения — достижения первого МНО ≥2,0 на 3-и и 5-е сут.

Таким образом, проведенный пошаговый дискриминантный анализ подтверждает, что передозировка варфарина обусловлена быстрыми темпами насыщения и связана с носительством аллельных вариантов генов *CYP2C9* и *VKORC1*, определяющих значимое нарушение чувствительности к варфарину, и сопутствующей терапией амиодароном. Проведенный анализ подтверждает необходимость анализа МНО на 3-и и 5-е сут. от начала терапии, что позволяет клинически предположить генетически обусловленные серьезные нарушения метаболизма варфарина.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ ВЫВОДЫ

— Достижение первого значения МНО  $\geq 2,0$  на 3-и и 5-е сут. начала терапии варфарином достоверно связано с развитием чрезмерной гипокоагуляции (МНО  $\geq 4,0$ ).

— Быстрые темпы достижения антикоагулянтного эффекта в подавляющем большинстве случаев связаны с носительством «неблагоприятного генотипа» (аллельных вариантов *CYP2C9* \*2/\*2, или \*3/\*3, или 2/\*3, или аллельного варианта *AA VKORC1*, или одновременного носительства двух гетерозиготных полиморфизмов *CYP2C9* и *VKORC1*).

— Анализ МНО на 3–5-е сут. от начала терапии имеет высокую практическую значимость, так как позволяет, увидев значение МНО  $\geq 2$ , клини-

чески предположить наличие генетически обусловленных серьезных нарушений метаболизма варфарина.

— Терапия амиодароном обуславливает быстрые темпы насыщения варфарином и является предиктором чрезмерной гипокоагуляции (МНО  $\geq 4,0$ ). При оценке значимости амиодарона необходимо учитывать любой способ его приема (пероральный, внутривенный), а также пероральный прием амиодарона в дозе 600 мг и выше хотя бы однократно за 30 дней до назначения варфарина, а также прекращение постоянной терапии амиодароном в течение 1 мес. до назначения варфарина.

## МОДЕРНИЗАЦИЯ АЛГОРИТМА ПОДБОРА ДОЗЫ ВАРФАРИНА

На основании полученных результатов, свидетельствующих о прямой зависимости развития чрезмерной гипокоагуляции от темпов насыщения варфарином, нами были внесены изменения в существующий алгоритм подбора дозы варфарина. Изменения коснулись коррекции дозы варфарина на 3–4-е и 5–6-е сут. Принципиальным изменением является уменьшение суточной дозы варфарина в случае получения значений МНО  $\geq 2,0$  на 3-и сут., а также ее неизменность при значениях МНО на 3–4-е сут. в пределах 1,5–2,0 (табл. 5).



## ИСТОЧНИКИ

1. Диагностика и лечение фибрилляции предсердий. Рекомендации РКО, ВНОА и АССХ. *Российский кардиологический журнал*, 2014, №4. Приложение 3.
2. Camm A.J., Lip G.Y.H., Raffaele De Caterina ESC GUIDELINES 2012 focused update of the ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation An update of the 2010 ESC Guidelines for the management of atrial fib-

- rillation Developed with the special contribution of the European Heart Rhythm Association fibrillation. *European Heart Journal*, 2012, ; 33: 2719–2747.
3. Guyatt GH1, Akl EA, Crowther M et al American College of Chest Physicians Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis Panel Executive summary: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest*. *Chest*, 2012, Feb, ; 141 (2 Suppl): 7S–47S.

4. Lee CR, Goldstein JA, Pieper JA. Cytochrome P450 2C9 polymorphisms: a comprehensive review of the in-vitro and human data. *Pharmacogenetics*, 2002; 2: 251–63.
5. Rieder M.J., Reiner A.P., Gage B.F. et al. «Effect of VKORC1 haplotypes on transcriptional regulation and warfarin dose.» *N Engl J Med*. 2005; 352(22): 2285–93.
6. Sconce EA1, Khan TI, Wynne HA et al The impact of CYP2C9 and VKORC1 genetic polymorphism and patient characteristics upon warfarin dose requirements: proposal for a new dosing regimen. *Blood*. 2005; 106(7): 2329–33.
7. Takeuchi F, McGinnis R, Bourgeois S, et al. A genome-wide association study confirms VKORC1, CYP2C9, and CYP4F2 as principal genetic determinants of warfarin dose. *PLoS Genet*. 2009; 5(3): e1000433.
8. Панченко Е.П., Михеева Ю.А., Сычев Д.А. с соавт. Новый подход к повышению безопасности лечения варфарином (результаты фармакогенетического исследования). *Кардиологический Вестник*. 2008, №2. Том III (XV): 38–44.
9. Cooper GM, Johnson JA, Langaee TY et al A genome-wide scan for common genetic variants with a large influence on warfarin maintenance dose. *Blood*. 2008; 112(4): 1022–7.
10. Palareti G, Leali N, Coccheri S, Poggi M, et al. «Hemorrhagic complications of oral anticoagulant therapy: results of a prospective multicenter study ISCOAT (Italian Study on Complications of Oral Anticoagulant Therapy).» *G Ital Cardiol.*, 1997; , 27(3): 231-43.
11. Gorter JW. «Major bleeding during anticoagulation after cerebral ischemia: patterns and risk factors. Stroke Prevention in Reversible Ischemia Trial (SPIRIT). European Atrial Fibrillation Trial (EAFT) study groups.» *Neurology*, 1999; 53(6): 1319–27.
12. Fihn SD, McDommel M, Martin D et al. «Risk factors for complications of chronic anticoagulation. A multicenter study. Warfarin Optimized Outpatient Follow-up Study Group.» *Ann Intern Med*, 1993; 118(7): 511–20.
13. Mhairi Copland, BSc, MBChB, MRCP; Isobel D. Walker, MD, FRCP, FRCPath; R. Campbell Tait, BSc, FRCP, MRCPPath. «Oral Anticoagulation and Hemorrhagic Complications in an Elderly Population With Atrial Fibrillation» *Arch Intern Med*, 2001, Vol. 161 (№17).
14. Van dar Meer FJ, Rosendaal FR, van den Broucke JP et al. «Bleeding complications in oral anticoagulant therapy: an analysis of risk factors.» *Arch Intern Med*. 1993; 153: 1557–1562.
15. Epstein RS, Moyer TP, Aubert RE, et al. Warfarin genotyping reduces hospitalization rates results from the MM-WES (Medco-Mayo Warfarin Effectiveness study). *J Am Coll Cardiol*, 2010; 55: 2804–2812.
16. Anderson JL, Horne BD, Stevens SM, et al. A randomized and clinical effectiveness trial comparing two pharmacogenetic algorithms and standard care for individualizing warfarin dosing (CoumaGen-II). *Circulation*, 2012; 125: 1997–2005.
17. Sofya Pchelina, Olga Sirotkina, Anastasiya Taraskina et al. The frequency of cytochrome p4502C9 genetic variants in Russian population and their associations with individual sensitivity to warfarin therapy. *Thrombosis Research*, (2005), 115: 199–203.
18. Загорская В.Л., Игнатъев И.В., Кропачева Е.С., Михеева Ю.М., Емельянов Н.В., Сычев Д.А., Панченко Е.П., Кукес 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.
19. Сироткина О.В., Улитина А.С., Тараскина А.Е. с соавт. 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, №6: 24–31.
20. Михеева Ю.А., Кропачева Е.С., Игнатъев И.В. с соавт. Полиморфизм гена цитохрома P4502C9(CYP2C9) и безопасность терапии варфарином. *Кардиология*, 2008, №3, 77–83.
21. McDonald MG, Au NT, Wittkowsky AK, Rettie AE. Warfarin-amiodarone drug-drug interactions: determination of [I(u)/K(I,u) for amiodarone and its plasma metabolites. *Clin Pharmacol Ther*, 2012; 91(4): 709–1.
22. Heimark LD1, Wienkers L, Kunze K, et al The mechanism of the the interaction interaction between between amiodarone amiodarone and and warfarin warfarin in humans. *Clin Pharmacol Ther. Clin Pharmacol Ther*; 1992; 51(4): 398–407.
23. Holbrook AM1, Pereira JA, Labiris R, et al Systematic overview of warfarin and its drug and food interactions. *Arch Intern Med. Arch Intern Med*, 2005; 165(10): 1095–106.
24. Flaker G, Lopes RD, Hylek E et al Amiodarone, anticoagulation, and clinical events in patients with atrial fibrillation: insights from the ARISTOTLE trial. *J Am Coll Cardiol. J Am Coll Cardiol*, 2014; 64(15): 1541–50.