

На правах рукописи

Арсланбекова Серминаз Махмудовна

**«Фармакогенетические аспекты антикоагулянтной терапии
варфарином у пациентов после протезирования клапанов сердца в
условиях полифармакотерапии»**

14.01.05 – кардиология;

14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология

Автореферат

Диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2014

Диссертационная работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Научный Центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева» Российской академии медицинских наук.

Научные руководители:

Член-корреспондент РАМН,

Доктор медицинских наук, профессор

Е.З. Голухова

Доктор медицинских наук, профессор

Д.А. Сычев

Официальные оппоненты:

Затейщиков Дмитрий Александрович – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры терапии, кардиологии и функциональной диагностики с курсом нефрологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Учебно-научный медицинский центр» Управления делами Президента Российской Федерации.

Журавлева Марина Владимировна – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Ведущее учреждение – Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита диссертации состоится «27» июня 2014 года в «14.00» часов, на заседании Диссертационного Совета Д 001.015.01 по защите диссертаций при ФГБУ «Научный Центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева» РАМН (121552, Москва, Рублевское шоссе, д. 135, конференц-зал № 2).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «Научный Центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева» РАМН (www.bakulev.ru).

Автореферат разослан «__» _____ 2014 г.

Ученый секретарь Диссертационного Совета,
доктор медицинских наук

Д.Ш. Газизова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Антикоагулянты непрямого действия (АКНД) введены в клиническую практику в середине XX века почти одновременно с эпохой становления хирургического лечения пороков сердца. Антагонисты витамина К и по сей день являются единственными и безальтернативными доступными оральными антикоагулянтами для постоянного лечения пациентов с имплантированными искусственными клапанами сердца (ИКС). Клинические испытания II и III фаз исследований новых прямых (независимых от антитромбина III, селективных) ингибиторов тромбина, которые могли бы претендовать на роль альтернативы АКНД в профилактике тромботических осложнений у пациентов после имплантации ИКС, не увенчались успехом [Van de Werf F., 2012]. В тоже время, существующее для антикоагулянтов терапевтическое окно достаточно узкое. Данный факт особо значим для пациентов с ИКС, поскольку с одной стороны его ограничивает риск развития тромбоэмболий, с другой – кровотечений, составляя до 75% всех послеоперационных осложнений [Koertke H., 2007]. Согласно последним данным это можно объяснить не только поступлением в организм витамина К с пищей, заболеваниями органов ЖКТ, но и сочетанным применением лекарственных средств (ЛС) других групп и генетической предрасположенностью, а именно полиморфизмом гена *CYP2C9* - кодирующего основной фермент биотрансформации АКНД [Шевела А.И., 2008]. Существует более 20 аллельных вариантов для данного гена, но самым распространенным из них является *CYP2C9*1*, так называемый «дикий» тип. Терапевтический диапазон МНО у пациентов с генотипом *CYP2C9*1* достигается при стандартном назначении доз антикоагулянтов. Достаточно часто встречаются

и аллельные варианты «медленного» типа *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3*, ассоциированные с высокой чувствительностью к варфарину. Имеются сообщения, что сочетание генотипирования по *CYP2C9* с фенотипированием (определение активности гена *CYP2C9* с помощью лозартанового теста) может более точно прогнозировать терапевтическую дозу варфарина [Li Z., 2009]. При этом не исключают действие и такого генетического фактора как эпоксид редуктазы витамина K (*VKORC1*), который является молекулой мишени для варфарина и тоже влияет на чувствительность к нему [D'Andrea, 2005].

В связи с этим, в настоящее время актуальна разработка новых комплексных фармакогенетических подходов повышающих безопасность и эффективность терапии АКНД у пациентов после имплантации ИКС в условиях полифармакотерапии и учитывающих полиморфизм генов *VKORC1* и *CYP2C9*, а также активность *CYP2C9*.

Цель исследования: оценить особенности влияния генетических факторов (полиморфизм генов *CYP2C9* и *VKORC1*), активности фермента биотрансформации *CYP2C9* и межлекарственного взаимодействия на антикоагулянтное действие варфарина у пациентов после имплантации искусственных клапанов сердца в раннем и позднем послеоперационном периоде.

Задачи исследования:

1. Определить частоту встречаемости генотипов по полиморфным маркерам генов *CYP2C9* и *VKORC1* (*G3673A*) и их сочетаний, участвующих в метаболизме варфарина, у пациентов кардиохирургического профиля.
2. Сопоставить подобранные дозы варфарина раннего и позднего послеоперационного периода с полиморфизмом генов *CYP2C9* и *VKORC1*(*G3673A*).

3. Оценить влияние полиморфизма гена *CYP2C9* на активность *CYP2C9* по лозартановому тесту у пациентов до имплантации ИКС.

4. По результатам лозартанового теста оценить взаимосвязь между концентрацией активного метаболита *E-3174* и подобранной дозой варфарина в раннем и позднем послеоперационном периоде.

5. Изучить влияние межлекарственного взаимодействия на поддерживающую дозу варфарина в раннем послеоперационном периоде в зависимости от полиморфизма генов *CYP2C9* и *VKORC1(G3673A)*.

Научная новизна диссертации.

Впервые в российской медицине оценено влияние полиморфизма генов *CYP2C9* и *VKORC1* на особенности дозирования и антикоагулянтное действие непрямого антикоагулянта варфарина у пациентов с ИКС в раннем и *позднем* послеоперационном периоде.

Впервые в мире у пациентов с ИКС, по результатам лозартанового теста, выявлена взаимосвязь между концентрацией активного метаболита лозартана в моче и подобранной дозой варфарина в позднем послеоперационном периоде.

Впервые в российской популяции оценено влияние межлекарственного взаимодействия на особенности режима дозирования варфарина в зависимости от генотипов по *CYP2C9* и *VKORC1(G3673A)* у пациентов с ИКС в раннем послеоперационном периоде.

Практическая значимость работы

Показана необходимость определения носительства генотипов *CYP2C9* и *VKORC1(G3673A)* всем пациентам перед имплантацией ИКС, которым планируется назначение варфарина. Пациентам, планируемым назначению варфарина определение носительства генотипов *CYP2C9* целесообразно дополнять определением активности *CYP2C9* (по лозартановому тесту).

В раннем послеоперационном периоде у кардиохирургических больных с генотипами *CYP2C9*1/*1* и *VKORC1-G3673A(GG/GA)* необходимо учитывать взаимодействие варфарина с антимикробными препаратами (антибиотиками, противогрибковыми средствами), амиодароном, преднизолоном и другими ЛС, которые также могут оказывать влияние на процессы биотрансформации. После отмены сопутствующей терапии, влияющей на биотрансформацию варфарина, у этой категории больных целесообразно проводить более строгий контроль МНО с последующей коррекцией дозы АКНД.

Положения, выносимые на защиту

Режим дозирования варфарина у пациентов с ИКС зависит от генотипов по *CYP2C9* и *VKORC1(G3673A)* только в позднем, но не в раннем послеоперационном периоде.

Низкая концентрация лозартана в моче (менее 2500 нг/мл по лозартановому тесту) до имплантации ИКС выявляет низкую активность *CYP2C9*1/*1*, что ассоциировано с подбором более низких доз варфарина в позднем послеоперационном периоде.

Массивная полифармакотерапия в раннем послеоперационном периоде влияет на режим дозирования варфарина у пациентов с генотипами *CYP2C9*1/*1* и *GG/GA* по полиморфному маркеру *G3673A* гена *VKORC1*.

Реализация результатов работы

Научные положения и практические рекомендации, сформулированные в диссертации, внедрены в клиническую практику и нашли применение в отделениях кардиохирургического профиля ФГБУ «НЦ ССХ им. А.Н. Бакулева» РАМН. Результаты, полученные при выполнении диссертационного исследования, можно рекомендовать в клиническую практику кардиохирургических и кардиологических стаци-

онеров, занимающихся лечением больных с ИКС. Полученные данные также могут быть использованы в клинико-фармакологических исследованиях для изучения фармакокинетического и фармакодинамического взаимодействия варфарина с другими лекарственными препаратами.

Публикации результатов исследования

По теме диссертации опубликовано 14 научных работ, в том числе 5 статей в ведущих рецензируемых научных изданиях, определенных ВАК.

Апробация диссертационного материала

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на ежегодном XVII всероссийском съезде сердечно-сосудистых хирургов НЦССХ им. А.Н.Бакулева РАМН (Москва, 2010, 2011 и 2013 гг.). На международном конгрессе по персонализированной медицине в феврале 2012 г. (г. Флоренция, Италия). На второй конференции Европейской ассоциации предиктивной, профилактической и персонализированной медицины «фармакогеномика: от клетки к клинике» в сентябре 2013 г. (Лиссабон). На конгрессе европейской ассоциации прогнозирования, профилактики и индивидуализации медицины (Брюссель) в сентябре 2013 г. На первом заседании Балтийского общества физиологов (г. Каунас, Литва), май 2013 г.

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 133 страницах машинописи. Состоит из введения, обзора литературы, клинической характеристики больных и методов исследования, результатов собственных исследований, главы, посвященной обсуждению результатов исследования и заключению, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Список литературы включает 135 источников, в том числе 30 отече-

ственных и 105 зарубежных. Иллюстративный материал представлен 54 диаграммами, 4 схемами, 29 таблицами и 1 графиком.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Клиническая характеристика пациентов и методы исследования.

В исследование вошло 76 пациентов с протезированием митрального и/или аортального клапанов сердца механическими протезами второго и третьего поколения (35 двухстворчатых и 41 дисковых протеза). Оперативное лечение проводилось с 2006 по 2011 год включительно. Сроки послеоперационного наблюдения за пациентами составили от 6 месяцев до 5 лет. Возраст больных колебался от 12 до 70 лет; средний возраст составил $45,5 \pm 13,8$ лет. Клиническая характеристика групп пациентов в зависимости от полиморфизма генов *CYP2C9* и *VKORC1* представлена в таблице 1.

Таблица 1. Клиническая характеристика групп и характер выполненного хирургического вмешательства пациентов в зависимости от полиморфизма генов *CYP2C9* и *VKORC1*

Показатели	I группа (n=52) CYP2C9*1/*1	II группа (n=24) CYP2C9 не*1/*1	III группа (n=63) G3673A (GG/GA)	IV группа (n=13) G3673A(AA)
Возраст (годы)*	45±13	46±16	45±14	46±13
Пол (муж/жен) б-ых	28/24	12/12	32/31	8/5
Вес/кг*	76±14	76±11	75±13	79±14
АГ б-ых/%	12/25	5/25	14/22	3/23
ИБС б-ых/%	5/9	3/12	6/9	2/15
ФП б-ых/%	16/30	9/37	21/33	4/30
Врожденные пороки б-ых/%	20/38	14/58	29/46	5/38
Приобретенные пороки б-ых/%	32/61	10/41	33/52	8/61
Имплантация АК б-ых/%	21/40	11/41	26/39	6/46
Имплантация МК б-ых/%	25/48	12/45	32/49	6/38
Имплантация АК+МК б-ых/%	6/9	1/4	5/8	1/7

*-среднее ± среднее стандартное отклонение

Критерии включения пациентов для клинических исследований:
жители Европейской части России; пациенты с приобретёнными и врождёнными пороками сердца до имплантации ИКС и в раннем по-

слеоперационном периоде; пациенты с имплантированными ИКС, по поводу приобретённых или врождённых пороков сердца, оперированные более 6 месяцев назад; пациенты, принимающие варфарин в течение всего периода после оперативного лечения.

Критерии исключения: непостоянный приём варфарина в течение всего периода после имплантации ИКС; ФВ левого желудочка менее 30%; сопутствующий сахарный диабет 1 и 2 типа; онкологические заболевания и алкоголизм в анамнезе; инфекционные осложнения (медиастинит, пневмония); отказ пациента от участия в исследовании; противопоказания к применению варфарина или лозартана согласно инструкции.

Для профилактики тромботических и тромбоэмболических осложнений, все пациенты на 2-4 сутки после имплантации ИКС получали варфарин, производитель - Никомед Дания АиС. Доза варфарина подбиралась по стандартной схеме, начиная с 5 мг/сутки, корректировалась в соответствии со значениями МНО. В раннем послеоперационном периоде, по показаниям, пациенты получали ЛС необходимые для профилактики и лечения послеоперационных осложнений. Все пациенты получали антибактериальные препараты, ингибиторы протонного насоса, гепарины, диуретики, нестероидные противовоспалительные средства, противогрибковые препараты получали 41 (57,7%) пациентов, амиодарон, 33 (46,5%) пациента, преднизолон 15 (21%), дигоксин 14 (19,7%), аспирин и статины 8 (11%) пациентов. Также по показаниям все пациенты получали дополнительные ЛС, такие как мезим, хилак форте, церукал и др.

В соответствии с Федеральным руководством по использованию ЛС, препаратами, влияющими на биотрансформацию варфарина, в нашем исследовании, считались: амиодарон, преднизолон, флукона-

зол и антибактериальные препараты. Влияние антибактериальной терапии (антибиотики, флуконазол), амиодарона и преднизолона, на терапевтические дозы варфарина подобранные в раннем послеоперационном периоде, изучалось в условиях полифармакотерапии.

Нами было проведено как ретроспективное (43 больных), так и проспективное (33 больных) наблюдение за пациентами, принимающими варфарин после имплантации ИКС. Пациентам, вошедшим в проспективное исследование, дополнительно проводился лозартановый тест (рисунок 1). В данное исследование вошли пациенты от 19 до 70 лет, их средний возраст составил $46,7 \pm 14,8$ лет.

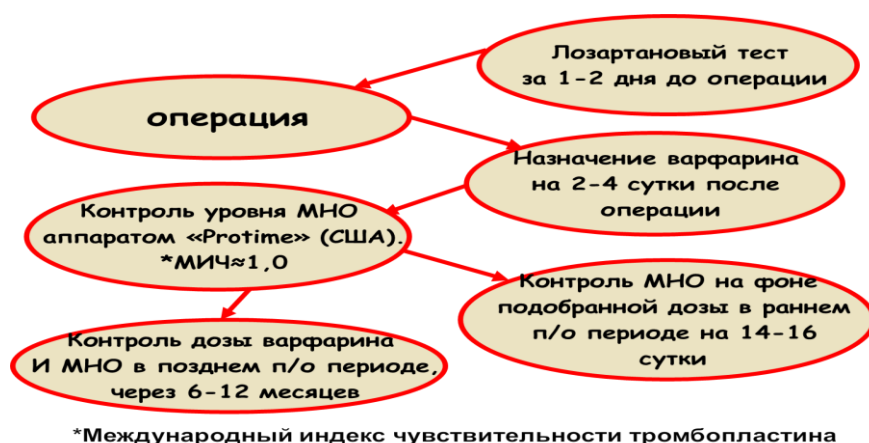


Рисунок 1. Дизайн исследования группы пациентов с проспективным наблюдением

Генетический полиморфизм *CYP2C9* и *VKORC1* определялся методом полимеразной цепной реакции с анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПЦР-ПДРФ), предварительно выделив ДНК из лейкоцитов крови. Активность *CYP2C9* оценивали по концентрации метаболита лозартана (*E-3174*) в моче (собиралась в течение 8 часов) после однократного приема лозартана (Лозап (Zentiva, Словацкая Республика)) в дозе 50 мг. Концентрация *E-3174* определялась методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Статистическая обработка данных выполнена на персональном компьютере с помощью пакета прикладных программ «GraphPad InStat».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЯ

Значение полиморфизма генов *CYP2C9* и *VKORC1* (G3673A) для оптимизации антикоагулянтной терапии в условиях полифармакотерапии

Для достижения поставленных задач мы определили частоту встречаемости аллелей и генотипов по полиморфным маркерам генов *CYP2C9* и *VKORC1*(G3673A), и их сочетаний у пациентов кардиохирургического профиля. Частота генотипов *CYP2C9**1/*2, *CYP2C9**1/*3, *CYP2C9**2/*3 и G3673A(AA) гена *VKORC1*, ассоциированных с высокой чувствительностью к варфарину, составила 21,1%, 9,2%, 1,3% и 17,1%, соответственно. Сочетание генотипов *CYP2C9**1/*2 и G3673A(AA) встречалась в 23,1% случаев. Следующим этапом дозы варфарина подобранные в раннем послеоперационном периоде на фоне полифармакотерапии, мы сравнили с дозами варфарина подобранными в позднем послеоперационном периоде, после отмены ЛС, влияющих на метаболизм варфарина (n=59). Не зависимо от генетических особенностей у пациентов в раннем послеоперационном периоде терапевтические дозы варфарина были достоверно ниже, чем в позднем послеоперационном периоде ($4,4 \pm 1,8$ мг vs $5,6 \pm 2,1$ мг, $p=0,001$) (рисунок 2).

Генетический анализ показал, что у пациентов с аллельными вариантами *CYP2C9**1/*1 и *CYP2C9**1/*2 в раннем послеоперационном периоде терапевтические дозы варфарина были достоверно ниже по сравнению с поздним послеоперационным периодом ($4,4 \pm 1,8$ мг vs $5,5 \pm 2,1$ мг, $p=0,003$), ($4,4 \pm 1,7$ мг vs $6,2 \pm 2,4$ мг, $p=0,05$).

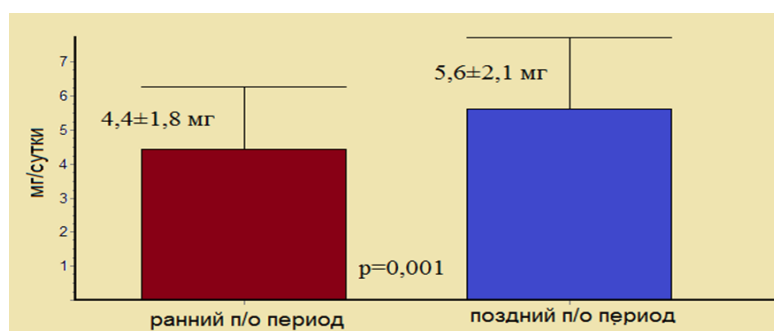


Рисунок 2. Подобранные дозы варфарина у пациентов с ИКС не зависимо от генотипов *CYP2C9* в раннем и в позднем послеоперационных (п/о) периодах

У пациентов с аллельным вариантом *CYP2C9**1/*3 терапевтические дозы варфарина подобранные в раннем и в позднем послеоперационном периоде достоверно не отличались ($3,2 \pm 1,8$ мг vs $3,6 \pm 1,2$ мг, $p=0,6$).

Подбор более низких доз варфарина у пациентов с аллельными вариантами *CYP2C9**1/*1 и *CYP2C9**1/*2 в раннем послеоперационном периоде по сравнению с поздним послеоперационным периодом можно объяснить влиянием дополнительных ЛС на биотрансформацию варфарина через ингибирование активности *CYP2C9*. В тоже время, дополнительные ЛС обуславливают подбор более низких доз варфарина, в основном у пациентов с генотипом *CYP2C9**1/*1 и в меньшей степени у пациентов с генотипом *CYP2C9**1/*2, но не у пациентов-носителей генотипа *CYP2C9**1/*3, у которых изначально имеется генетически детерминированная и более низкая активность изофермента *CYP2C9*, которая видимо уже не способна снижаться под действием ингибиторов.

По полиморфному маркеру *G3673A* гена *VKORC* у пациентов с генотипом *AA*, терапевтические дозы варфарина как в раннем, так и в позднем послеоперационном периоде были достоверно ниже по сравнению с терапевтическими дозами варфарина у объединенной группы

пациентов с генотипами *GA-GG* ($3,1 \pm 1,4$ мг vs $4,8 \pm 1,8$ мг, $p=0,002$), ($3,5 \pm 1,1$ мг vs $6,0 \pm 2,0$ мг, $p<0,001$) (рисунок 3а,б).

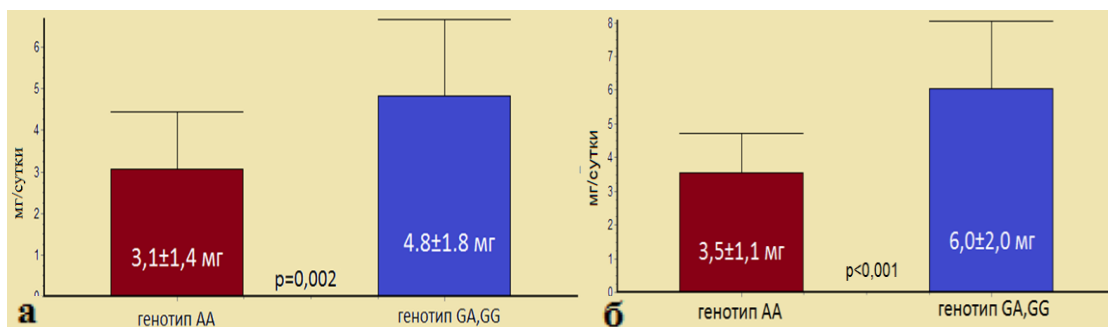


Рисунок 3. Терапевтическая доза варфарина подобранная у пациентов с генотипами *G3673A(AA)* и *G3673A(GG/GA)* а) ранний послеоперационный период б) поздний послеоперационный период

У объединенной группы пациентов с генотипами *GG* и *GA*, доза варфарина подобранная в раннем послеоперационном периоде была достоверно ниже по сравнению с дозой варфарина подобранной в позднем послеоперационном периоде ($4,7 \pm 1,8$ мг vs $6,0 \pm 2,0$ мг, $p<0,001$) (рисунок 4). Данные различия, возможно, связаны с тем, что некоторые ЛС вступают не только в фармакокинетическое, но и в фармакодинамическое (на уровне молекулы-мишени) взаимодействие с варфарином.

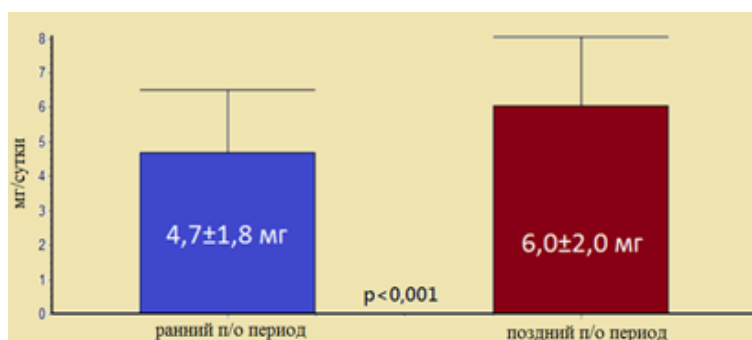


Рисунок 4. Терапевтические дозы варфарина подобранные у объединенной группы пациентов с генотипами *GG* и *GA* в раннем и в позднем послеоперационном периоде

В результате исследования также было изучено влияние полифармакотерапии на подобранную дозу варфарина в раннем послеоперационном периоде у пациентов с полиморфизмом генов *CYP2C9* и

VKORC1(G3673A). Пациенты после имплантации ИКС по показаниям получали от 6 до 15 наименований ЛС, этот показатель в среднем составил 11 ЛС. Рассчитав среднее количество ЛС, мы разделили пациентов на две группы: принимающие 10 и менее и 11 более ЛС. Как и следовало ожидать, у пациентов с аллельным вариантом *CYP2C9*1/*1* при приеме 11 и более ЛС доза варфарина была достоверно ниже, чем у пациентов принимающих 10 и менее ЛС ($p=0,04$) (рисунок 5). В тоже время у объединенной группы пациентов с медленным метаболизмом варфарина (генотипы *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3*) количество ЛС не влияло на терапевтическую дозу варфарина.

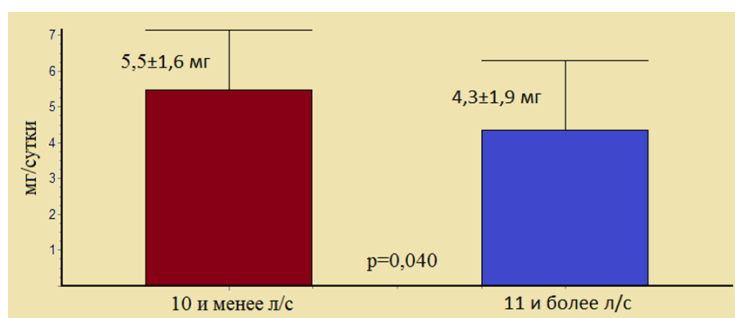


Рисунок 5. Подобранные дозы варфарина у пациентов с аллельным вариантом *CYP2C9*1/*1*, принимающих 10 и менее и 11 и более ЛС в раннем послеоперационном периоде

Методом расчета линейного коэффициента корреляции Пирсона была получена слабая, но достоверная корреляция между подобранными дозами варфарина и количеством ЛС, у пациентов не зависимо от генетических особенностей ($r=-0,2$, $p=0,04$). После генетического анализа данная корреляция сохранялась только у пациентов-носителей генотипов *CYP2C9*1/*1* ($r=-0,3$, $p=0,02$) и *VKORC1-G3673A(GG/GA)* ($r=-0,2$, $p=0,04$).

Некоторые ЛС могут изменять метаболизм варфарина за счет влияния на систему цитохрома *P450*. В частности, к таким ЛС относятся ингибиторы *CYP2C9* (антибактериальные ЛС и амиодарон) [Седов А.Н. и соавт., 2009]. Слабая, но достоверная корреляция была вы-

явлена между дозами варфарина подобранными в раннем послеоперационном периоде и длительностью антибактериальной терапии у пациентов с аллельным вариантом *CYP2C9*1/*1* в условиях полифармакотерапии ($r=-0,3$, $p=0,03$). Сравнительный анализ показал, что у пациентов с аллельным вариантом *CYP2C9*1/*1* подобранные дозы варфарина на фоне приема амиодарона достоверно ниже, чем у пациентов не принимавших амиодарон в раннем послеоперационном периоде ($3,9\pm1,7$ мг vs $5,5\pm1,7$ мг, $p<0,01$) (рис. 7а). У пациентов с аллельным вариантом *CYP2C9-не*1/*1* принимавших и не принимавших амиодарон достоверных различий между подобранными дозами варфарина не наблюдалось ($4,4\pm1,8$ vs $3,5\pm1,5$ мг, $p=0,1$). Прием варфарина в сочетании с преднизолоном, у пациентов с аллельными вариантами *CYP2C9*1/*1* в раннем послеоперационном периоде, приводил к подбору более низких доз варфарина по сравнению с дозами варфарина пациентов не принимавших преднизолон ($3,6\pm1,5$ мг vs $5,1\pm1,9$ мг, $p=0,02$) (рисунок 7б). Также у пациентов принимавших преднизолон в раннем послеоперационном периоде дозы варфарина были достоверно ниже, по сравнению с дозами варфарина подобранными в позднем послеоперационном периоде, после отмены преднизолона ($3,6\pm1,5$ мг vs $6,3\pm1,7$ мг, $p=0,001$, $n=11$).

У объединенной группы пациентов с генотипами *GG* и *GA* на фоне приема амиодарона, преднизолона и флуконазола терапевтические дозы варфарина были достоверно ниже, чем после отмены данных препаратов ($p=0,01$, $p=0,001$ и $p=0,004$). Однако, нужно отметить, что у пациентов с аналогичными генотипами, не принимающих изолировано амиодарон или преднизолон, доза варфарина подобранная в раннем послеоперационном периоде также была достоверно ниже по сравнению с поздним послеоперационным периодом ($p=0,02$ и

$p=0,02$). Возможно, данные различия были связаны с приемом большего количества ЛС, взаимодействующих с варфарином на фармакодинамическом уровне.

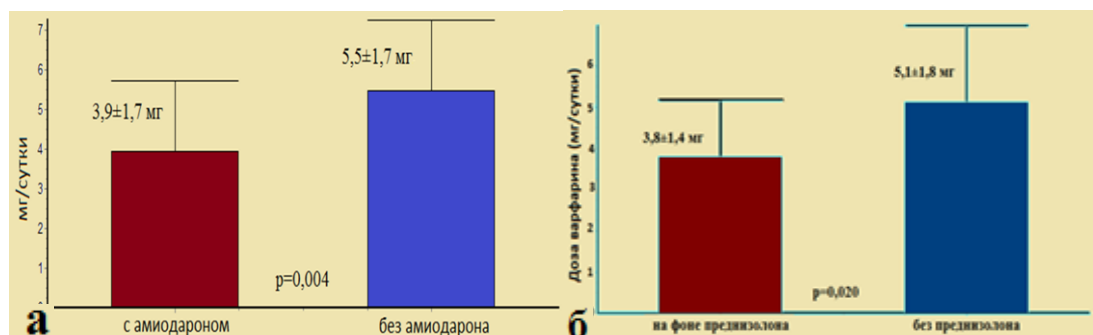


Рисунок 7. Терапевтические дозы варфарина подобранные у пациентов с аллельным вариантом *CYP2C9**1/*1 в раннем послеоперационном периоде: а) принимавших и не принимавших амиодарон; б) принимавших и не принимавших преднизолон

Изучение влияния полиморфизма гена *CYP2C9* на активность *CYP2C9* с помощью лозартанового теста

В последние годы для определения фенотипических особенностей пациентов проводятся лекарственные пробы, позволяющие определить активность того или иного механизма метаболизма конкретного ЛС. Так, с помощью лозартанового теста можно определить активность гена *CYP2C9* участвующего в метаболизме варфарина.

По результатам корреляционного анализа было выявлено, что у пациентов в позднем послеоперационном периоде не зависимо от полиморфизма гена *CYP2C9*, уровень активного метаболита *E-3174* положительно коррелировал с подобранными дозами варфарина ($r=0,4$, $p=0,03$) (рисунок 9), тогда как в раннем послеоперационном периоде уровень активного метаболита *E-3174* не влиял на терапевтическую дозу варфарина. После распределения пациентов в зависимости от генотипов *CYP2C9**1/*1 и *CYP2C9*-не*1/*1 данная корреляция сохранялась только у пациентов с генотипом *CYP2C9**1/*1 ($r=0,4$, $p=0,05$).



Рисунок 9. Корреляция между дозой варфарина в позднем послеоперационном (п/о) периоде и концентрацией активного метаболита (*E-3174*) в моче у пациентов не зависимо от полиморфизма гена *CYP2C9*

В результате полученных данных можно предположить, что у пациентов в раннем послеоперационном периоде сочетание большого количества ЛС приводят к сложным фармакодинамическим и фармакокинетическим процессам, изменяющим данные процессы у варфарина. После отмены сопутствующей терапии естественные процессы биотрансформации варфарина восстанавливаются и у пациентов с более интенсивным выведением активного метаболита лозартана, наблюдается необходимость к повышению дозы варфарина.

Методом точного критерия Фишера мы сравнили дозы варфарина подобранные в раннем и в позднем послеоперационном периоде у пациентов в зависимости от концентрации активного метаболита *E-3174* в моче (менее и более 2500 нг/мл). В позднем послеоперационном периоде у пациентов с концентрацией метаболита *E-3174* менее 2500 нг/мл подобранная доза варфарина была достоверно ниже, чем у пациентов с концентрацией метаболита *E-3174* более 2500 нг/мл не зависимо от полиморфизма гена *CYP2C9* ($p=0,03$) (рисунок 10).

В результате анализа непараметрическим методом Манна-Уитни в позднем послеоперационном периоде у всех пациентов не зависимо от генетического полиморфизма *CYP2C9*, доза варфарина при концентрации *E-3174* менее 2500 нг/мл была достоверно ниже, чем у паци-

ентов с концентрацией *E-3174* более 2500 нг/мл ($4,55 \pm 2,0$ vs $6,312 \pm 2,23$ мг, $p=0,05$) (рисунок 11а). После генотипирования данное различие было свойственно только пациентам с аллельным вариантом *CYP2C9*1/*1*, но не пациентам с аллельными вариантами *CYP2C9-не*1/*1* ($4,54 \pm 1,5$ мг vs $6,281 \pm 1,4$ мг, $p=0,02$) (рисунок 11б).

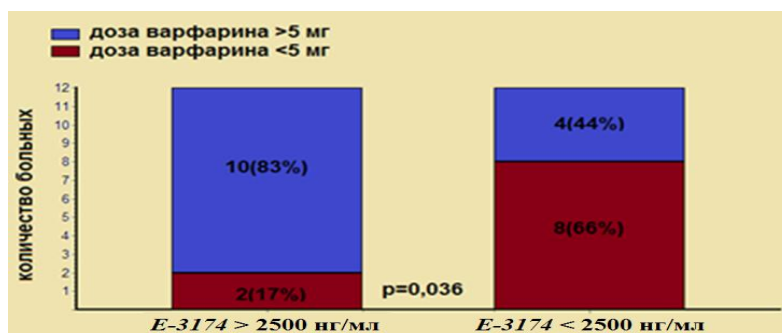


Рисунок 10. Распределение пациентов, не зависимо от генетических особенностей, по уровню концентрации метаболита (*E-3174*), в зависимости от подобранной дозы варфарина в позднем послеоперационном периоде

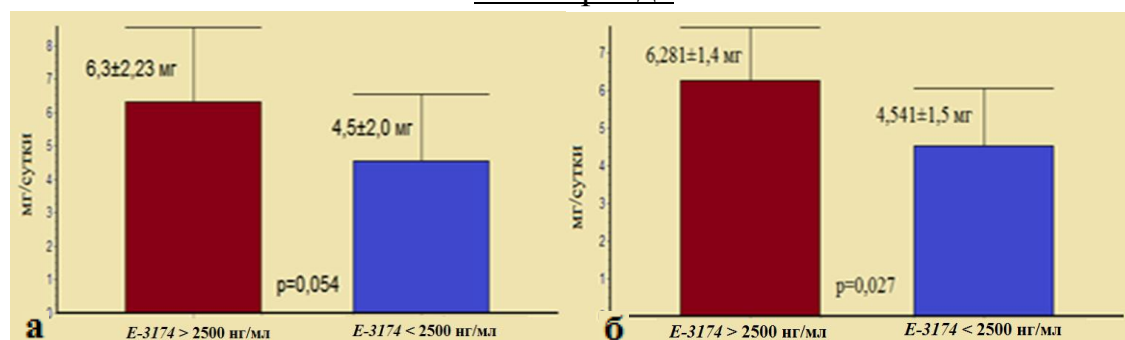


Рисунок 11. Терапевтические дозы варфарина подобранные в позднем п/о периоде у пациентов в зависимости от концентрации метаболита *E-3174* в моче: а) все пациенты; б) с аллельным вариантом *CYP2C9*1/*1*

Концентрацию метаболита *E-3174* в моче мы сравнили у пациентов с низкими (менее 5 мг) и высокими (более 5 мг) дозами варфарина. Не зависимо от полиморфизма гена *CYP2C9* в позднем послеоперационном периоде, концентрация метаболита *E-3174* была достоверно ниже у пациентов с дозами варфарина менее 5 мг (3341 ± 1214 нг/мл vs 2205 ± 981 нг/мл, $p=0,02$). К данным различиям также были предрасположены носители генотипа *CYP2C9*1/*1* ($p=0,08$). Достоверных

различий между концентрацией активного метаболита *E-3174* в моче и подобранной дозой варфарина в раннем послеоперационном периоде у пациентов с генотипами *CYP2C9*1/*1* и *CYP2C9-не*1/*1* получено не было ($p=0,6$ и $p=0,3$ соответственно).

Отсутствие взаимосвязи между концентрацией метаболита в моче и дозой варфарина в раннем послеоперационном периоде можно объяснить взаимодействием большого количества ЛС с варфарином не только на уровне биотрансформации (влияние на активность *2C9*), но и по типу фармакокинетического взаимодействия на уровнях всасывания, связи с белками плазмы крови, выведения почками, а также по типу фармакодинамического взаимодействия. В позднем послеоперационном периоде количество ЛС сокращается, вероятность взаимодействия снижается, остается неизменным генетический фактор, поэтому корреляция между метаболитом лозартана и дозой варфарина становится достоверной.

Выводы

1. У больных с имплантированными искусственными клапанами сердца частота генотипов *CYP2C9*1/*2*, *CYP2C9*1/*3*, *CYP2C9*2/*3* и *G3673A(AA)* гена *VKORC1*, ассоциированных с высокой чувствительностью к варфарину, составляет 21,1%, 9,2%, 1,3% и 17,1% соответственно. Частота встречаемости генотипов *CYP2C9*1/*2* и *G3673A(AA)* в сочетании составляет - 23,1%.

2. В раннем послеоперационном периоде величина средней терапевтической дозы варфарина достоверно ниже у пациентов с генотипом *CYP2C9*1/*3* по сравнению с пациентами-носителями генотипа *CYP2C9*1/*1* ($p=0,05$). В позднем послеоперационном периоде терапевтические дозы варфарина ниже у пациентов с генотипом

*CYP2C9*1/*3* по сравнению с пациентами-носителями генотипов *CYP2C9*1/*1* и *CYP2C9*1/*2* ($p=0,007$ и $p=0,01$).

3. Пациентам с генотипом *G3673A(AA)* как в раннем, так и в позднем послеоперационном периоде требуются более низкие дозы варфарина, чем пациентам с генотипами *G3673A(GA/GG)* ($p=0,002$ и $p<0,001$).

4. Влияния полиморфизма гена *CYP2C9* на активность *CYP2C9*, оцененную по концентрации лозартана и его метаболита *E-3174* в моче, при выполнении лозартанового теста у пациентов перед имплантацией искусственных клапанов сердца не выявлено.

5. Концентрация активного метаболита *E-3174* в моче менее 2500 нг/мл по результатам лозартанового теста у пациентов с генотипом *CYP2C9*1/*1* с чувствительностью 87% и специфичностью 66% прогнозирует «выход» на низкие дозы варфарина (менее 5 мг/сутки) в позднем послеоперационном периоде [$OR=14$ ID95% 1,135-172,75].

6. У пациентов с генотипом *CYP2C9*1/*1* в раннем послеоперационном периоде, принимающих 11 и более лекарственных средств, терапевтическая доза варфарина достоверно ниже по сравнению с пациентами, получающими 10 и менее лекарственных средств ($p=0,04$). Длительная антибактериальная терапия у пациентов с имплантированными искусственными клапанами сердца в раннем послеоперационном периоде умеренно коррелирует с дозами варфарина ($r=0,3$, $p=0,03$).

7. У пациентов с генотипом *CYP2C9*1/*1* в раннем послеоперационном периоде на фоне приема амиодарона, флуконазола и преднизолона отмечаются достоверно низкие терапевтические дозы варфарина по сравнению с поздним послеоперационным периодом после отмены данных ЛС ($p=0,02$, $p=0,04$ и $p=0,001$, соответственно).

Практические рекомендации

1. Пациентам перед имплантацией искусственных клапанов сердца рекомендовано фармакогенетическое тестирование по *CYP2C9*, *VKORC1* и определение активности *CYP2C9* с помощью лозартанового теста для прогноза эффективного и безопасного режима дозирования варфарина в раннем и позднем послеоперационном периоде.

2. В раннем послеоперационном периоде у пациентов с генотипами *CYP2C9**1/*1 и *G3673A* (*GG* и *GA*) необходимо учитывать взаимодействие варфарина с антимикробными препаратами (антибиотиками, противогрибковыми средствами), амиодароном, преднизолоном и другими ЛС, которые также могут оказывать влияние на процессы биотрансформации варфарина. При назначении или отмене препаратов, влияющих на метаболизм варфарина, у этой категории больных целесообразно проводить более частый контроль МНО с последующей коррекцией дозы АКНД.

3. В клинической практике следует учитывать, что:

- генетически детерминированные аллельные варианты *CYP2C9**3 и *G3673A(AA)*, а также низкая активность *CYP2C9* прогнозирует «выход» на низкие дозы варфарина у пациентов после имплантации искусственных клапанов сердца;
- аллельные варианты *CYP2C9**1/*1, *CYP2C9**1/*2, *G3673A(GA)* и *G3673A(GG)* в раннем послеоперационном периоде на фоне полифармакотерапии прогнозируют «выход» на низкие дозы варфарина по сравнению с поздним послеоперационным периодом.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ

1. Голухова Е.З. Оптимизация и факторы риска антикоагулянтной терапии у пациентов после протезирования клапанов

- сердца. / Голухова Е.З., Сычёв Д.А., Арсланбекова С.М. XVII Всероссийский съезд сердечно-сосудистых хирургов. // Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН. №3, 2010. - с. 228
2. Sychev D.A. Relationship between maintenance warfarin dose and the number drugs used in conjunction with in patients after heart valve replacement: value of *CYP2C9* genotype. / Sychev D.A., Arslanbekova S.M., Kazakov R.E., Dmitriev V.A., Polikarpova O.A., Golukhova E.Z. // The EPMA Jornal – 2011. - Vol. 2 (1): p. 124.
 3. Голухова Е.З. Особенности дозирования варфарина в раннем послеоперационном периоде после протезирования клапанов сердца. XVII Всероссийский съезд сердечно-сосудистых хирургов. / Голухова Е.З., Арсланбекова С.М., Казаков Р.С., Сычев Д.А. // Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН. №6, 2011. - с. 244
 4. Голухова Е.З. Фармакогенетические основы, определяющие нежелательные лекарственные реакции у кардиохирургических больных принимающих варфарин. / Голухова Е.З., Сычёв Д.А., Арсланбекова С.М. // «Креативная кардиология», 2011 №1, - с. 20-27.
 5. Arslanbekova S. Evolution *CYP2C9* Activity for Prediction Estimated Warfarin Dose at Heart Surgery Russian Patients. / Arslanbekova S., Kasakov R., Sychev D., Smirnov V., Raman-skaya G, Goluhova E. // Up Close and Personalized International Congress on Personalized Medicine. 2-5 February 2012, Florence, Italy. p. 102.
 6. Голухова Е.З. Роль активности основного фермента метаболизма варфарина *CYP2C9* в режиме дозирования варфарина у

- пациентов после протезирования клапанов сердца. / Голухова Е.З., Арсланбекова С.М., Сычев Д.А., Смирнов В.В., Казаков Р.Е. // XVII ежегодная сессия НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН. Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН. №3, 2013. - с.91.
7. Арсланбекова С.М. Прогнозирование величины поддерживающей дозы варфарина у пациентов кардиохирургического профиля в позднем послеоперационном периоде с помощью «лозартанового теста». // XVII ежегодная сессия НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН с Всероссийской конференцией молодых ученых. Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН. №3, 2013. - с. 615.
 8. Сычев Д. Межлекарственные взаимодействия и полипрагматизация в практике врача. / Сычев Д., Отделенов В., Данилина К., Аникин Г., Арсланбекова С. // «Врач», 2013 №5, с. 5-9.
 9. Арсланбекова С.М. Оценка активности *CYP2C9* с помощью «лозартанового теста» для оптимизации антикоагулянтной терапии варфарином у больных после протезирования клапанов сердца. / Арсланбекова С.М., Сычев Д.А., Голухов Е.З. // «Молекулярная медицина», 2013 №3, - с. 29-31.
 10. Sychev D.A. Possibilities of warfarin metabolism enzyme *CYP2C9* analysis for safe patients' anticoagulant therapy after the cardiac valve replacement. / Sychev D.A., Arslanbekova S.M., Kuznetsova E.V., Golukhova E.Z., Kazakov R.E. // Second ESPT Conference "Pharmacogenomics: From Cell to Clinic" Lisbon, September 26–28, 2013, p. 44.
 11. Голухова Е.З. Особенности дозирования варфарина в условиях полифармакотерапии у пациентов после имплантации ис-

- кусственных клапанов сердца. / Голухова Е.З., Арсланбекова С.М., Сычев Д.А., Кузнецова Е.В. // «Креативная кардиология». - 2013, №1, - с. 58-65.
12. Арсланбекова С.М. Взаимосвязь особенностей дозирования варфарина с активностью *CYP2C9*, оцененной по содержанию лозартана и его метаболита *E3174* в моче, у пациентов с механическими протезами клапанов сердца. / Арсланбекова С.М. Сычев Д.А., Казаков Р.Е., Смирнов В.В., Кузнецова Е.В., Голухова Е.З. // «Кардиология». №12, 2013, - с. 34-37.
13. Arslanbekova S.M. Polymorphic DNA marker G3673A of gene *VKORC1* and the maintenance dose of warfarin in conditions of polypharmacy for patients with mechanical cardiac valves in early postoperative period. / Arslanbekova S.M., Sychev D.A., Kazakov R.E., Kuznetsova E.V., Golukhova E.Z. // 1st meeting of the Baltic physio-logical so-cieties. Kaunas, Lithuania. May 10-11, 2013, p. 6.
14. Арсланбекова С.М. Влияние генетических факторов на особенности режима дозирования варфарина и активности основного фермента его биотрансформации *CYP2C9*, оцененной по концентрации метаболита лозартана *E-3174* в моче, у пациентов после имплантации искусственного клапана сердца. / Арсланбекова С.М., Сычев Д.А., Смирнов В.В., Казаков Р.Е., Кузнецова Е.В., Голухова Е.З. // XIX Всероссийский съезд сердечно-сосудистых хирургов. Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН. №6, 2013 г., - с. 244.