

Частоты аллелей и генотипов, ассоциированных с чувствительностью к антикоагулянтам из группы антагонистов витамина К, в казахской популяции

Святова Г.С.¹, Березина Г.М.¹, Миербеков Е.М.², Муртазалиева А.В.¹

¹ Республиканское государственное предприятие на праве хозяйственного ведения «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии» Министерства здравоохранения Республики Казахстан, respmgk@mail.ru

² Акционерное общество «Национальный научный центр хирургии им. А.Н. Сызганова», ergali.m1@gmail.com

Изучена популяционная частота аллелей и генотипов *CYP2C9*2* (rs12254292), **3* (rs9332108), **5* (rs1927465) и **6* (rs12254292); *CYP2C19* (rs11187240); *VKORC1* (rs9923231), (rs9934438); *CYP4F2* (rs2108622); *EPHX1* (rs7542242); *GGCX* (rs12616455); *PROC* (rs11887389), ассоциированных с эффективностью антикоагулянтной терапии антагонистами витамина К, в казахской популяции. Популяционную выборку составили 2230 условно здоровых казахов. Показано, что в казахской популяции распределение генотипов изученных 11 полиморфизмов находится в соответствии с равновесием Харди–Вайнберга ($p > 0,05$), за исключением *CYP2C9*3* ($p < 0,05$). Сравнительный анализ показал, что по частотам аллелей *CYP2C9*3*, *CYP2C9*5*, *CYP2C9*6*, неблагоприятных аллелей гена *VKORC1* (rs9923231; rs9934438) и *GGCX* (rs11676382) казахская популяция занимает промежуточное положение между описанными ранее популяциями Европы и Азии. Частота минорных аллелей *CYP2C9*2*, *CYP2C19*, *PROC* (rs2069910) в казахской популяции не имела различий с европейскими популяциями, но достоверно отличается от аналогичных показателей популяции Южной Азии.

Ключевые слова: фармакогенетика, варфарин, цитохромы.

Исследование выполнено в рамках проекта InterPregGen, который был профинансирован 7 рамочной программой Европейской Комиссии по Грантовому соглашению № 282540.

Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Frequency of alleys and genotypes associated with sensitivity to anticoagulants from the group of vitamin K antagonists in the Kazakh population

Svyatova G.S.¹, Berezina G.M.¹, Miyerbekov Y.M.², Murtazaliyeva A.V.¹

¹ Republican State Enterprise on the right of economic management «Scientific Center of Obstetrics, Gynecology and Perinatology» of the Ministry of Health of the Republic of Kazakhstan, respmgk@mail.ru

² Joint Stock Company «National Scientific Center for Surgery. A.N. Syzganova, ergali.m1@gmail.com

The population frequency of alleles and genotypes *CYP2C9*2* (rs12254292), **3* (rs9332108), **5* (rs1927465) и **6* (rs12254292); *CYP2C19* (rs11187240); *VKORC1* (rs9923231), (rs9934438); *CYP4F2* (rs2108622); *EPHX1* (rs7542242); *GGCX* (rs12616455); *PROC* (rs11887389), associated with the effectiveness of anticoagulant therapy with vitamin K antagonists in the Kazakh population was studied. Population sample was 2230 conditionally healthy Kazakhs. In the Kazakh population, the distribution of genotypes of 11 SNPs is in accordance with the Hardy-Weinberg equilibrium ($p > 0.05$), with the exception of *CYP2C9*3* ($p < 0.05$). A comparative analysis showed that the *CYP2C9*3*, *CYP2C9*5*, *CYP2C9*6*, adverse alleles of the gene *VKORC1* (rs9923231; rs9934438) and *GGCX* (rs11676382) alleles frequencies occupy an intermediate position between the previously described populations of Europe and Asia. The frequency of the minor alleles *CYP2C9*2*, *CYP2C19*, *PROC* (rs2069910) in the Kazakh population did not differ from the European populations, but significantly differs from the population of South Asia.

Key words: pharmacogenetics, warfarin, cytochromes.

Введение

Фармакогеномика является важнейшей составной частью персонализированной медицины, которая активно развивается в последние годы и изучает причины индивидуальных различий ответов на разнообразные классы лекарств [1, 2]. Успехи фармакогеномики связаны, в первую очередь, в исследовании ассоциаций гено-

типа и фенотипа при приеме пероральных антикоагулянтов антагонистов витамина К в кардиологии, включая варфарин, аценокумарол и фенпрокумон [2].

Варфарин является одним из наиболее широко используемых антикоагулянтов, но межиндивидуальные различия в реакции с лекарственными средствами, узкий терапевтический диапазон и высокий риск кровоте-

чения или инсульта осложняют его клиническое применение [3]. Метаболизм и антикоагулянтное действие варфарина, по-видимому, контролируются многими генами; наиболее изученными являются полиморфные гены цитохромов P450-2C9 и витамин К эпоксидредуктазы субъединица 1 (*VKORC1*), которые изменяют фармакокинетику и фармакодинамику варфарина.

Полиморфизмы в гене *CYP2C9* существенно влияют на ферментативную активность кодируемого белка *CYP2C9*, в зависимости от фенотипа индивидуумы подразделяются на «быстрые», «средние» и «медленные» метаболизаторы [2]. Описано более 35 различных аллельных вариантов в гене *CYP2C9* [3], наиболее значимыми являются *CYP2C9*2* (rs1799853), *CYP2C9*3* (rs1057910), *CYP2C9*5* (rs28371686) и *CYP2C9*6* (rs9332131), которые снижают ферментативную активность *CYP2C9*, что в 85% случаев является причиной неэффективной терапии антагонистами витамина К [4]. Показано, что ферменты цитохромов, кодируемых генами *CYP2C19* (rs3814637), *CYP4F2* (rs2108622), также оказывают возможное влияние на метаболизм S-варфарина [4, 5].

Варфарин оказывает антикоагулянтное действие, ингибируя эпоксидредуктазу витамина К, каталитическая субъединица которого кодируется геном *VKORC1*, тем самым предотвращая восстановление витамина К из эпоксида витамина К [6]. Хотя молекулярные механизмы влияния полиморфизмов *VKORC1* на реакцию варфарина остаются неясными, многие исследователи показали, что полиморфизм *-1639G* промотора (rs9923231) уменьшает экспрессию печеночного *VKORC1*, что приводит к более низким уровням синтезируемого белка и, в конечном счете, к уменьшению производства активных факторов свертывания крови при носительстве генотипа AA, следовательно, снижает потребность в дозе варфарина [6, 7].

Имеются публикации, что полиморфизмы в генах *CYP2C9* и *VKORC1* суммарно составляют 35–50% вариабельности требований к дозе ПКА для инициирования и поддержания терапевтического эффекта [5]. Кроме того, носители аллелей *CYP2C9*2* или **3* и полиморфизма *VKORC1 -1639G>A* подвергаются более высокому риску кровотечения и требуют более низких средних суточных доз варфарина [1]. Влияние описанных выше генотипов на лекарственный ответ ПКА привело к тому, что U.S. Food and Drug Administration (FDA) выпустила рекомендации по обязательному генотипированию *CYP2C9* и *VKORC1* при назначении варфарина [7].

Помимо генетических факторов на эффективность дозировки варфарина влияют средовые факторы, например, потребление витамина К, возраст и площадь поверхности тела и т.д. [5]. Важно отметить, что представленные в Интернете алгоритмы дозирования варфарина включают в себя ряд этих факторов и варианты генотипов *CYP2C9* и *VKORC1* [5, 8, 9].

Многими исследователями описана значимая меж- и внутриэтническая изменчивость частот аллелей *CYP2C9* и *VKORC1* [10, 11], а также других полиморфизмов, связанных с метаболизмом варфарина. Так, аллель *CYP2C9*2* отсутствует в восточно-азиатских популяциях, тогда как его частота у афроамериканцев и эфиопов достигает 3,2% [13]. Напротив, более высокая частота аллеля *CYP2C9*2* (5–19%) была отмечена в европейских популяциях [10, 11]. Показано, что частота аллелей *CYP2C9*3* значительно ниже в азиатских популяциях (всего 3,3% по сравнению с 4–16% у европейцев) [11, 12]. Описано, что в арабских популяциях внутриэтническая вариабельность частоты аллелей *CYP2C9*2* и **3* составляет от 7% до 21% и от 3% до 9%, соответственно [11, 12].

Полиморфизм *VKORC1 -1639G>A* характеризуется еще более вариабельной популяционной изменчивостью частот аллелей [13]. Показано, что генотип *-1639A*, который наиболее значимо коррелирует с чувствительностью к антагонистам витамина К, чаще встречается в азиатских (частота — 80%), чем в европейских и африканских популяциях (средняя частота — 16–25%) [13, 14]. Частота аллеля *-1639A* гена *VKORC1* в арабских популяциях занимает промежуточное положение и составляет 52–56% [13].

Таким образом, существующие популяционные различия в частотах полиморфизмов генов, оказывающих существенное влияние на индивидуальную чувствительность и безопасность терапии варфарином, требуют незамедлительного проведения масштабных рандомизированных исследований в каждой этнической популяции для проверки точности, безопасности и экономической эффективности включения исследуемых генотипов в оптимизацию антикоагулянтной терапии.

Несмотря на актуальность, популяционные исследования частот описанных ранее полиморфизмов в казахской популяции не проводились. Имеющиеся единичные публикации выполнены на малочисленных выборках и включали только часть из значимых полиморфизмов, описанных в результатах мультицентровых и широкомасштабных геномных ассоциативных (GWAS) исследований [15], что не позволяет использовать представленные в них популяционные частоты для прогнозирования эффективности терапии и схемы дозирования антагонистов витамина К в казахской популяции.

Целью настоящего исследования явилось: изучить популяционную частоту аллелей и генотипов *CYP2C9*2* (rs12254292), **3* (rs9332108), **5* (rs1927465) и **6* (rs12254292); *CYP2C19* (rs11187240); *VKORC1* (rs9923231), (rs9934438); *CYP4F2* (rs2108622); *EPHX1* (rs7542242); *GGCX* (rs12616455); *PROC* (rs11887389), ассоциированных с эффективностью антикоагулянтной терапии, для возможной коррекции алгоритмов дозирования антагонистов витамина К в казахской популяции.

Материалы и методы

Материалом исследования послужила ДНК, выделенная из периферической крови рекрутируемой группы популяционного контроля, которая представлена 2230 условно здоровыми лицами казахской национальности. ДНК рекрутируемых хранится в биобанке «Мирас» Научного центра акушерства, гинекологии и перинатологии Министерства здравоохранения Республики Казахстан (НЦАГиП МЗ РК), который был создан в рамках проекта «Генетические исследования преэклампсии в популяциях Центральной Азии и Европы» InterPregGen 7 рамочной программы Европейской Комиссии по Грантовому соглашению №. 282540.

Биобанк ДНК «Мирас» предназначен для хранения образцов ДНК, содержит геномную и клиническую информацию о более чем 10 000 рекрутированных индивидуумов казахской национальности. Все обследуемые были проконсультированы о целях выполняемого проекта и подписали информированное согласие на участие. Критериями для отбора в группу популяционного контроля являлись: этническая принадлежность — казахи; возраст — 18 лет и старше; дееспособность субъекта принять самостоятельное решение о согласии на участие в проекте. Критерии исключения — наличие в анамнезе подтвержденных медицинскими документами гипертонической болезни, инсульта, сахарного диабета 1, 2 типов, требующих медикаментозного лечения. Разрешение биоэтической комиссии НЦАГиП МЗ РК на проведение молекулярно генетических исследований получено.

Рекрутинг рожениц и/или их мужей проводился проспективным методом в акушерском отделении НЦАГиП, многопрофильной областной больнице Алматинской области и городском Перинатальном центре г. Алматы. Временной период охватывал 2012—2016 гг. Популяционный контроль условно здоровых лиц составили 1244 женщины, не имеющие осложненных беременностей и родов, и 984 их мужей. Средний возраст обследуемых на момент заполнения анкеты и забора крови составил $26,76 \pm 1,61$ года.

Для проведения молекулярно-генетических исследований по выявлению генетических олиморфизмов в казахской популяции, предрасполагающих к развитию осложнений или влияющих на эффективность антикоагулянтной терапии, были использованы следующие методы.

1. Выделение ДНК из периферической крови обследуемых проводилось методом магнитного разделения частиц M-PVA на автоматическом анализаторе Chemagic Prepito (PerkinElmer) с использованием комплекта реагентов Prepito DNA Cyto Pure Kit. Измерение концентрации проводилось на Spectrophotometer NanoDropLite (не менее 50 нг/мкл), с определением степени очистки ДНК с индексом более или равным 1,60.

2. Анализ результатов GWAS исследований проведен по мировым базам данных NCBI [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>], Ensembl [<http://asia.ensembl.org/index.html>], HapMap [<http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/index.html.en>] и 1000 geno-

mes [www.1000genomes.org]. По результатам GWAS и метаанализа [15, 16] изученных популяций мира для проведения последующего независимого репликативного генотипирования в этнически однородной популяции казахов отобраны 11 высокозначимых однонуклеотидных полиморфизмов (SNPs), влияющих на эффективность лекарственного ответа на прием варфарина.

3. Генотипирование каждого индивидуума по ~2,5 млн SNPs проведено с использованием чипов OmniChip 2,5 M Illumina в Геномном центре DECODE Iceland в рамках проекта InterPregGen по Грантовому соглашению №. 282540. Панель полиморфизмов Illumina Omni2.5-8 Chip включает частые и редкие популяционные варианты SNP из проекта 1000 геномов с минимальной частотой минорного аллеля ($MAF > 1,0\%$) для различных популяций мира.

Контроль качества генотипирования проведен с исключением SNP с MAF (minimal allele frequency) ниже 1%, call rate <98%, SNP с отклонением от равновесия Харди—Вайнберга ($p \geq 1 \times 10^{-6}$) также были исключены [15, 16];

4. Статистическая обработка полученных результатов проведена с использованием статистической программы PLINK, (software for genome-wide association analysis) — это открытый полный набор инструментов для изучения ассоциаций генома, разработанный для проведения широкомасштабных геномных исследований эффективным, с точки зрения вычислений, способом. PLINK сфокусирован только на анализе данных генотипов/фенотипов и не поддерживает предыдущие этапы исследования [17]. Статистическая оценка значимости для каждого SNP проведена методом χ^2 или аналогичным показателем. Оценка соответствия полученных частот генотипов закону равновесия Харди—Вайнберга вычислялась с использованием функции HWE test программы PLINK.

Результаты

Генетическая вариабельность составляет основу фенотипической изменчивости человека и имеет огромное значение для объяснения индивидуальных различий в подверженности к многофакторным заболеваниям и определения метаболических путей, вовлеченных в прогрессирование патологических процессов. Для определения клинико-диагностической значимости полиморфизмов генов в эффективности антикоагулянтной терапии в казахской популяции необходимо проведение молекулярно-генетических исследований их частотных характеристик в популяционном контроле.

Были изучены популяционные особенности распределения частот генотипов и аллелей полиморфизмов *CYP2C9**2 (rs12254292), *3 (rs9332108), *5 (rs1927465) и *6 (rs12254292); *CYP2C19* (rs11187240); *VKORC1* (rs9923231), (rs9934438); *CYP4F2* (rs2108622); *EPHX1* (rs7542242); *GGCX* (rs12616455); *PROC* (rs11887389) в казахской популяции. Популяционный контроль представлен 2230 условно здоровыми казаками.

В табл. 1 представлены значимые SNPs, отобранные по мировым базам GWAS и оказывающие влияние на дозировку варфарина. Указаны идентификатор (SNP Identifier), расположение полиморфизма на хромосоме — физическое расстояние в спаренных основаниях (base-pair position — bp).

Как представлено в табл. 1, из 11 анализируемых значимых полиморфизмов — три входили в панель SNPs Illumina Omni2.5-8 Chip, восемь полиморфизмов анализировались по сцепленным rs с LD = 1,0.

Распределение частот аллелей и генотипов в казахской популяции, полученное в результате статистической обработки в программе PLINK с использованием функции HWE test, представлено в табл. 2. Как видно из табл. 2, частоты минорных аллелей в исследуемой выборке казахов составили: *CYP2C9*2* — 3,7%; *3 — 6,5%; *5 — 3,2%; и *6 — 11,2%; *VKORC1(-1639G>A)* — 29,3%; (*1173C>T*) — 29,3%; *CYP4F2* — 32,4%; *EPHX1* — 37,4%; *GGCX* — 3,8%; *PROC* — 31,8%; *CYP2C19* — 17,1%. Наименьшая популяционная частота минорного аллеля —

Таблица 1

Генетические характеристики SNPs генов, ассоциированных с эффективностью антикоагулянтной терапии антагонистами витамина К (по данным GWAS) [28]

Название гена	Хромосома	rs	Позиция
<i>CYP2C9*2</i>	10q23.33	rs1799853	96702047
<i>CYP2C9*3</i>	10q23.33	rs1057910	96741053
<i>CYP2C9*5</i>	10q23.33	rs28371686	96741058
<i>CYP2C9*6</i>	10q23.33	rs9332131	96709038
<i>VKORC1 (-1639G>A)</i>	16p11.2	rs9923231	31107689*
<i>VKORC1 (1173C>T)</i>	16p11.2	rs9934438	31104878*
<i>CYP4F2</i>	19p13.12	rs2108622	15990431*
<i>EPHX1</i>	1q42.12	rs2292566	226019653
<i>GGCX</i>	2p11.2	rs11676382	85777633
<i>PROC</i>	2q14.3	rs2069910	128177974
<i>CYP2C19</i>	10q23.33	rs3814637	96521045

Примечание. * — входили в панель SNPs Illumina Omni 2.5-8 Chip

Таблица 2

Соответствие распределения генотипов равновесию Харди—Вайнберга по SNP полиморфизмов генов, ассоциированных с эффективностью антикоагулянтной терапии, в казахской популяции

Название гена	rs	MAF	N	A1	A2	GENO	O(НЕТ)	E(НЕТ)	p
<i>CYP2C9*2</i>	rs1799853	0,03722	2228	T	C	3/94/1209	0,06833	0,07003	0,3396
<i>CYP2C9*3</i>	rs1057910	0,06522	2221	C	T	0/167/1134	0,1326	0,1238	0,02798
<i>CYP2C9*5</i>	rs28371686	0,03255	2218	T	C	8/156/1138	0,1207	0,121	0,7879
<i>CYP2C9*6</i>	rs9332131	0,1122	2228	T	C	3/94/1209	0,06833	0,07003	0,3396
<i>VKORC1 (-1639G>A)</i>	rs9923231	0,2936	2228	G	T	100/537/669	0,4067	0,4016	0,7432
<i>VKORC1 (1173C>T)</i>	rs9934438	0,2933	2230	C	A	100/537/670	0,4063	0,4013	0,7433
<i>CYP4F2</i>	rs2108622	0,3242	2228	T	C	139/546/621	0,4241	0,4401	0,2625
<i>CYP2C19</i>	rs3814637	0,1718	2228	G	A	8/196/1102	0,1551	0,1558	0,8325
<i>PROC</i>	rs2069910	0,3179	2230	G	T	0/140/1167	0,104	0,0986	0,168
<i>GGCX</i>	rs11676382	0,03814	2228	G	A	22/322/962	0,2549	0,2415	0,1019
<i>EPHX1</i>	rs2292566	0,3742	2226	T	C	99/513/692	0,4056	0,404	0,9352

Примечание. rs — идентификатор полиморфизма (SNP Identifier); MAF — частота минорного аллеля; N- число прогенотипированных; A1 и A2 — аллели; GENO — число выявленных генотипов; O (НЕТ) — ожидаемая гетерозиготность по равновесию Харди—Вайнберга; E (НЕТ) — наблюдаемая гетерозиготность по равновесию Харди—Вайнберга; p — наблюдаемая достоверность различий.

3,2% обнаружена для полиморфизма гена *CYP2C9*5*, наибольшая — 37,4% для носительства *EPHX1 T* аллеля. Необходимо отметить, что нами не было выявлено ни одного носителя аллеля *CYP2C9*3* и аллеля *PROC G* в гомозиготном состоянии, что согласуется с результатами некоторых описанных ранее популяций [13, 14].

В медицинской генетике закон Харди — Вайнберга позволяет оценить популяционный риск генетически обусловленных многофакторных заболеваний, поскольку каждая популяция обладает собственным аллелофондом и, соответственно, разными частотами неблагоприятных аллелей [16]. Материалы табл. 2 свидетельствуют, что в казахской популяции для всех изученных полиморфизмов распределение генотипов находится в соответствии с равновесием Харди—Вайнберга ($p > 0,05$), за исключением *CYP2C9*3* ($p < 0,03$).

Для экстраполяции полученных нами результатов аллельных и генотипических частот, изученных 11 полиморфизмов на популяцию казахов, нами рассчитан минимально требуемый объем популяционной выборки. Расчет проведен с использованием калькулятора размера выборки [18]. С учетом частоты встречаемости минорного аллеля в популяции, при выборе уровня доверия 80% и расчете доверительного интервала, минимально требуемая выборка для достоверной оценки частоты аллелей и генотипов *CYP2C9*2* (rs12254292), *3

(rs9332108), *5 (rs1927465) и *6 (rs12254292); *CYP2C19* (rs11187240); *VKORC1* (rs9923231), (rs9934438); *CYP4F2* (rs2108622), *EPHX1* (rs7542242), *GGCX* (rs12616455), *PROC* (rs11887389) полиморфизмов в казахской популяции составляет от 940 до 970 субъектов [19].

В табл. 3 приведены результаты проведенного сравнительного анализа аллельных частот 11 SNPs генов, ассоциированных с эффективностью антикоагулянтной терапии антагонистами витамина К, в казахской популяции с описанными ранее популяциями. Частоты аллелей по изученным ранее популяциям мира, представлены по данным базы 1000 геномов третьей фазы [19]. Обращает на себя внимание, что объем исследованной нами популяционной выборки оказался самым высоким, что свидетельствует о достоверности результатов и возможности их экстраполяции на всю популяцию казахов.

Частота популяционного носительства неблагоприятного аллеля *T* в гене *CYP2C9*2* (rs1799853) в исследуемой выборке составила 3,7%, что оказалось достоверно ниже аналогичного показателя для популяций Южной Азии — 6,1% ($p < 0,005$). Достоверных различий не обнаружено с популяционной частотой аллеля *CYP2C9*2* в популяциях России, Европы, Восточной Азии и опубликованными ранее популяционными частотами в казахской популяции ($p > 0,05$).

Таблица 3

Сравнительный анализ аллельных частот 11 SNP полиморфизмов генов, ассоциированных с эффективностью антикоагулянтной терапии антагонистами витамина К, в популяциях мира

Популяция	N	MAF	χ^2	p
<i>CYP2C9*2</i> rs1799853				
Казахстан	2228	0,037		
Казахстан [20]	437	0,02	2,870	0,091
Россия [21]	345	0,02	2,304	0,130
Европа [19]	1006	0,037	0,004	0,950
Восточная Азия [19]	1008	0,042	0,336	0,562
Южная Азия [19]	978	0,061	8,395*	<0,005
<i>CYP2C9*3</i> rs1057910				
Казахстан	2221	0,065		
Казахстан [20]	444	0,03	8,063*	<0,005
Россия [21]	345	0,09	2,523	0,113
Европа [19]	1006	0,073	0,593	0,442
Восточная Азия [19]	1008	0,033	13,744*	<0,001
Южная Азия [19]	978	0,110	19,060*	<0,001
<i>CYP2C9*5</i> rs28371686				
Казахстан	2218	0,032		
Казахстан [20]	105	0	3,415	0,065
Европа [19]	1006	0,124	113,918*	<0,001
Восточная Азия [19]	1008	0,002	28,210*	<0,001
Южная Азия [19]	978	0,035	0,110	0,741

Популяция	N	MAF	χ^2	p
<i>CYP2C9*6 rs9332131</i>				
Казахстан	2228	0,112		
Казахстан [20]	277	0	30,845*	<0,001
Европа [19]	1006	0,223	48,643*	<0,001
Восточная Азия [19]	1008	0,015	79,255*	<0,001
Южная Азия [19]	967	0,136	3,295	0,070
<i>VKORC1 (-1639G>A) rs9923231</i>				
Казахстан	2228	0,293		
Казахстан [20]	90	0,31	0,070	0,792
Европа [19]	1006	0,388	16,212*	<0,001
Восточная Азия [19]	1008	0,885	379,907*	<0,001
Южная Азия [19]	978	0,145	55,098*	<0,001
<i>VKORC1 (1173C>T) rs9934438</i>				
Казахстан	2230	0,293		
Казахстан [20]	276	0,28	0,141	0,708
Россия [21]	346	0,13	25,477*	<0,001
Европа [19]	1006	0,388	16,319*	<0,001
Восточная Азия [19]	1008	0,885	380,483*	<0,001
Южная Азия [19]	978	0,145	54,940*	<0,001
<i>CYP4F2 rs2108622</i>				
Казахстан	2228	0,324		
Казахстан [20]	284	0,30	0,388	0,534
Россия [21]	346	0,28	1,398	0,237
Европа [19]	1006	0,290	2,200	0,139
Восточная Азия [19]	1008	0,214	26,622*	<0,001
Южная Азия [19]	978	0,413	15,324*	<0,001
<i>CYP2C19 rs2069910</i>				
Казахстан	2228	0,171		
Европа [19]	1006	0,145	2,920	0,088
Восточная Азия [19]	1008	0,312	60,205*	<0,001
Южная Азия [19]	978	0,358	95,876*	<0,001
<i>PROC rs2069910</i>				
Казахстан	2230	0,317		
Европа [19]	1006	0,309	0,146	0,703
Восточная Азия [19]	1008	0,289	1,892	0,169
Южная Азия [19]	978	0,530	63,359*	<0,001
<i>GGCX rs11676382</i>				
Казахстан	2228	0,038		
Казахстан [20]	266	0,03	0,940	0,333
Европа [19]	1006	0,080	26,168*	<0,001
Восточная Азия [19]	1008	0,004	29,923*	<0,001
Южная Азия [19]	978	0,027	2,915	0,088

Таблица 3 (окончание)

Популяция	N	MAF	χ^2	p
<i>EPHX1</i> rs2292566				
Казахстан	2226	0,374		
Европа [19]	1006	0,363	0,200	0,655
Восточная Азия [19]	1008	0,361	0,266	0,607
Южная Азия [19]	978	0,323	3,027	0,082

Как представлено в табл. 3, частота аллеля *C* гена *CYP2C9*3* (rs1057910) в изученной нами казахской популяции составила 6,5%, что достоверно не отличалось от популяций России, Европы ($p > 0,05$), но достоверно превышала опубликованные ранее результаты на малых выборках казахов и популяций Восточной Азии ($p < 0,005$). Достоверно чаще аллель *C* гена *CYP2C9*3* встречается в популяциях Южной Азии — 11,0% ($p < 0,005$). Полученные результаты показали, что казахская популяция по частоте аллелей *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3* занимает промежуточное положение между европейскими и южно-азиатскими популяциями.

Частота аллелей *CYP2C9*5* и *CYP2C9*6* в исследованной нами популяции казахов составила 3,2% и 11,2% соответственно. В информационной базе 1000 геномов аллельная частота этих полиморфизмов составила 0%, в связи с чем сравнительный анализ проведен по описанным ранее европейским и азиатским популяциям [19]. Частота аллеля *C* *CYP2C9*5* в казахской популяции не отличалась от южно-азиатских популяций, но оказалась достоверно ниже, чем в европейских популяциях — 12,4% ($p < 0,001$). Аллель *CYP2C9*6* встретился в популяции казахов с частотой 11,2%, что не превышало его частоту в популяциях Южной Азии — 13,6%, но оказалось достоверно ниже европейских популяций — 22,3% и достоверно выше, чем в популяциях Восточной Азии — 1,5% ($p < 0,001$). В описанной ранее выборке казахов аллели *CYP2C9*5* и *CYP2C9*6* не были обнаружены, что объясняется малым объемом исследованной выборки.

Частоты аллеля *G* полиморфизма *VKORC1* (-1639G>A) и аллеля *C* полиморфизма *VKORC1* (1173(6484)C>T) в казахской популяции составили 29,3% и не имели достоверных отличий, что подтверждает их сцепленное наследование. Их популяционная частота оказалась достоверно ниже частоты их носительства в представленных в табл. 3 популяциях мира ($p < 0,001$).

Как видно из табл. 3, частота носительства аллеля *T* полиморфизма *CYP4F2* в казахской популяции составила 32,4%, что достоверно не отличается от изученной ранее выборки казахов и популяций России (28,0%) и Европы (29,0%), но достоверно ниже аналогичного показателя в южно-азиатских популяциях (41,3%) и выше его частоты в популяциях Восточной Азии — 21,4% ($p < 0,001$).

Популяционная частота носительства аллеля *G* полиморфизма rs2069910 гена *CYP2C19* в исследованной нами казахской популяции составила 17,1%, что сопоставимо с европейскими популяциями, но оказалась достоверно ниже его популяционной частоты в восточно-азиатских — 31,2% и южно-азиатских популяциях — 35,8% ($p < 0,001$).

Частота аллеля *G* полиморфизма rs2069910 гена *PROC* в казахской популяции составила 31,7%, не отличалась от аналогичного показателя в популяциях Европы — 30,9% и достоверно чаще отмечена в популяциях Южной Азии — 53,0% ($p < 0,001$).

Как продемонстрировано в табл. 3, частота аллеля *G* rs11676382 гена *GGCX* в казахской популяции составила 3,8%, что не имело достоверных различий с изученными ранее популяциями казахов и южно-азиатскими популяциями ($p > 0,05$), достоверно превышала его частоту в популяциях Восточной Азии — 0,4% и оказалась достоверно ниже его носительства в европейских популяциях — 8,0% ($p < 0,001$).

Однородную частоту носительства аллеля *T* rs2292566 *EPHX1* продемонстрировали все популяции, представленные в табл. 3. Достоверных различий в их популяционных частотах не обнаружено ($p > 0,05$).

Полученные результаты свидетельствуют об особой популяционной структуре казахов, сформированной в результате эволюционных и миграционных процессов, отражающей историческое и географическое положение казахской популяции.

Таким образом, проведенные нами молекулярно-генетические исследования 11 значимых полиморфизмов, оказывающих влияние на эффективность терапии варфарином, показали:

1. По частотам аллелей *CYP2C9*3*, *CYP2C9*5*, *CYP2C9*6*, неблагоприятных аллелей гена *VKORC1* (rs9923231; rs9934438) и *GGCX* (rs11676382) казахская популяция занимает промежуточное положение между описанными ранее популяциями Европы и Азии. Популяционная частота аллеля *T* полиморфизма *CYP4F2* (rs2108622) занимает промежуточное положение между популяциями Восточной и Южной Азии, достоверных различий в популяционных частотах аллеля *T* rs2292566 *EPHX1* не обнаружено.

2. Частота минорных аллелей *CYP2C9*2*, *CYP2C19*, *PROC* (rs2069910) в казахской популяции не имела различий с европейскими популяциями, но достоверно от-

личалась от аналогичных показателей популяции Южной Азии.

3. В казахской популяции для всех изученных полиморфизмов распределение генотипов находится в соответствии с равновесием Харди—Вайнберга ($p > 0,05$), за исключением *CYP2C9*3* ($p < 0,03$).

4. Полученные результаты свидетельствуют о необходимости проведения репликативного генотипирования пациентов-казахов по 9 значимым полиморфизмам *CYP2C9*2* (rs12254292), *3 (rs9332108), *5 (rs1927465) и *6 (rs12254292); *CYP2C19* (rs11187240); *VKORC1* (rs9923231), *CYP4F2* (rs2108622); *GGCX* (rs12616455); *PROC* (rs11887389) до начала терапии варфарином для оптимизации сроков подбора требуемой дозы препарата и предотвращения геморрагических осложнений.

5. Цитохромы *CYP2C9*, помимо варфарина, метаболизируют целый ряд лекарственных препаратов самого различного спектра действия (нестероидные противовоспалительные средства — ибупрофен, диклофенак, пироксикам; противосудорожные — фенитоин) и потенцируют их действие, что требует обязательного генотипирования пациентов при полимедикации для профилактики фармакогенетических осложнений.

Список литературы

1. V. G. Manolopoulos, G. Ragia, and A. Tavridou. Pharmacogenomics of oral antidiabetic medications: current data and pharmacogenomic perspective. *Pharmacogenomics*. Aug;12(8):1161-91.
2. V. G. Manolopoulos, G. Ragia, and A. Tavridou. Pharmacogenetics of coumarinic oral anticoagulants. *Pharmacogenomics* 2010 Apr; 11(4):493-6.
3. <http://www.cypalleles.ki.se/cyp2c9.htm>.
4. Wadelius M, Chen LY, Eriksson N, etc. Association of warfarin dose with genes involved in its action and metabolism. *Hum Genet*. 2007 Mar; 121(1):23-34.
5. 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.
6. L. Bodin, C. Verstuyft, D. A. Tregouet et al. Cytochrome P450 2C9 (CYP2C9) and vitamin K epoxide reductase (VKORC1)

genotypes as determinants of acenocoumarol sensitivity. *Blood*. 2005 Jul 1;106(1):135-40.

7. <http://www.fda.gov/downloads/NewsEvents/Newsroom/MediaTranscripts/ucm123583.pdf>.

8. Zhu Y., Shennan M., Reynolds K.K., Johnson N.A., Herrnberger M.R., Valdes R., Jr., Linder M.W. Estimation of warfarin maintenance dose based on VKORC1 (-1639 G>A) and CYP2C9 genotypes. *Clin Chem*. 2007 Jul;53(7):1199-205.

9. <http://warfarindosing.org/Source/Home.aspx>

10. H. Schelleman, N. A. Limdi, and S. E. Kimmel. Ethnic differences in warfarin maintenance dose requirement and its relationship with genetics. *Br J Clin Pharmacol*. 2010 Sep; 70(3): 393-399

11. K. Arvanitidis, G. Ragia, M. Iordanidou et al. Genetic polymorphisms of drug-metabolizing enzymes CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 and CYP3A5 in the Greek population. *Fundam Clin Pharmacol*. 2007 Aug;21(4):419-26.

12. R. A. Mirghani, G. Chowdhary, and G. Elghazali. Distribution of the major Cytochrome P450 (CYP) 2C9 genetic variants in a Saudi population. *Fundam Clin Pharmacol*. 2007 Aug;21(4):419-26.

13. L. Yang, W. Ge, F. Yu, and H. Zhu. Impact of VKORC1 gene polymorphism on interindividual and interethnic warfarin dosage requirement — a systematic review and meta analysis. *Thromb Res*. 2010 Apr;125(4):e159-66.

14. E. Efrati, H. Elkin, E. Sprecher, and N. Krivoy. Distribution of CYP2C9 and VKORC1 risk alleles for warfarin sensitivity and resistance in the Israeli population. *Biomed Res Int*. 2013; 2013: 315980.

15. Price, A.L. Principal components analysis corrects for stratification in genome-wide association studies. *Nat Genet*. 2006 Aug;38(8):904-9.

16. www.oege.org/software/Hardy-Weinbergequilibriumcalculator

17. Minoli A Perera, Larisa H Cavallari, Nita A Limdi, et al. Genetic variants associated with warfarin dose in African-American individuals: a genome-wide association study. *Lancet*. 2013 Aug 31; 382(9894):790-796.

18. <http://www.calculator.net/sample-size-calculator.html?ty-pe=1&cl=80&ci=1.52&pp=32&ps=&x=0&y=0>

19. <http://www.internationalgenome.org/>

20. Iskakova AN, Romanova Voronina AA, Voronina EN, Sikhayeva NS, Belozerceva AB, et al. (2014) Allele Frequency and Genotype Distribution of 9 SNPs in the Kazakh Population. *J Pharmacogenomics Pharmacoproteomics* 5:129.

21. Корчагина РП. Полиморфизм генов биотрансформации ксенобиотиков (CYP2C9, CYP4F2, CYP2D6, GSTM1, GSTT1) и гена VKORC1 в популяциях коренных этносов северной Сибири. Диссертация кандидата биологических наук: 03.02.07. Новосибирск 2012