

## АНОТАЦІЯ

*Михайловський Я.М.* Прогнозування безпечності та індивідуалізація антикоагулянтної терапії при фібриляції передсердь з урахуванням особливостей гемостазу та чутливості хворих до варфарину. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 «Медицина» (22 Охорона здоров'я). – Запорізький державний медико-фармацевтичний університет МОЗ України, Запоріжжя, 2023.

Запорізький державний медико-фармацевтичний університет МОЗ України, Запоріжжя, 2023.

Дисертація присвячена прогнозуванню безпечності та оптимізації антикоагулянтної терапії при фібриляції передсердь (ФП) шляхом дослідження клінічних особливостей, показників плазмового, тромбоцитарного гемостазу та персоніфікованого підбору дози варфарину (ВФ) з урахуванням поліморфізмів генів CYP2C9, CYP4F2, VKORC1.

На першому етапі дослідження з метою вивчення частоти розповсюдження алельних варіантів генів VKORC1, CYP2C9 та CYP4F2 у мешканців міста Запоріжжя проведено генетичне обстеження 150 умовно здорових волонтерів (середній вік  $44,88 \pm 1,42$ ; чоловіків – 62, жінок – 88), які проходили профілактичний огляд в ННМЦ «Університетська клініка» ЗДМУ.

На другому етапі з метою з метою вивчення ефективності та безпечності проведеного лікування ВФ обстежено 110 хворих з ФП (середній вік  $68,72 \pm 0,79$ ; чоловіків – 57, жінок – 53), які протягом року спостерігалися в антикоагулянтному кабінеті, створеному на базі ННМЦ «Університетська клініка» ЗДМУ. Методом рандомізації хворі з ФП розподілені на дві групи: основна група – 50 хворих з ФП та підбором дози ВФ фармакогенетичним методом, контрольна група – 60 хворих з ФП та традиційним підбором дози

ВФ. Групи були співставні за віком, статтю, характером супутніх захворювань.

За результатами першого етапу дослідження виявлено, що у Запорізькому регіоні найбільш розповсюдженими є поліморфізми генів CYP4F2 (C/C – 56,0%, C/T – 35,3%, T/T – 8,7%) і VKORC1 (G/G – 38,0%, G/A – 50,0%, A/A – 12,0%), тоді як поширеність поліморфізмів CYP2C9\*2 (C/C – 77,3%, C/T – 22,7%, T/T – 0%) і CYP2C9\*3 (A/A – 88,7%, A/C – 10,7%, C/C – 0,6%) значно менша. Висока частота розповсюдження мінорних алелів вищевказаних генів в Запорізькій області свідчить про потенційну доцільність урахування генетичного поліморфізму при дозуванні ВФ.

На другому етапі дослідження встановлено розподіл генотипів у хворих з ФП. Так, у хворих з емпіричним підбором дози ВФ за результатами генотипування гена CYP2C9\*2, гомозиготи за диким алелем (генотип C/C) виявлені у 46 (76,67%) випадках, гетерозиготи (C/T) – у 13 (21,67%), гомозиготи за мутантним алелем (T/T) – у 1 (1,67%) випадку. При дослідженні поліморфізму гена CYP2C9\*3 гомозиготи за диким алелем (A/A) були виявлені у 52 (86,67%) випадках, гетерозиготи (A/C) – у 7 (11,67%), гомозиготи за мутантним алелем (C/C) – у 1 (1,67%) випадку. Поліморфізм гена CYP4F2 був виявлений у 20 (33,33%) пацієнтів, гетерозиготний (C/T) у 18 (30,00%) пацієнтів та гомозиготний за мутантним алелем (T/T) – 2 (3,33%), 40 (66,67%) пацієнтів мали дикий генотип (C/C). Мутацію гена VKORC1 було виявлено у 35 (58,34%) пацієнтів: 28 (46,67%) гетерозиготних (G/A) та 7 (11,67%) гомозиготних (A/A) відповідно. У 25 (41,67%) (G/G) мутацій не виявлено. Такий розподіл був співставним з групою умовно здорових осіб.

Встановлена статистично значуща різниця в добовій дозі ВФ при емпіричному методі підбору залежно від генотипів VKORC1 та CYP4F2, а саме: для пацієнтів з генотипом VKORC1 G/G медіана дози склала 6,25 (5,13; 7,50) мг, з генотипом G/A – 4,75 (3,75; 6,00), з генотипом A/A – 3,00 (2,50;

3,75) мг ( $p < 0,05$ ); для генотипу CYP4F2 медіана дози становила 4,50 (3,25; 6,25) мг, з генотипом C/T – 6,13 (5,00; 7,50), з генотипом T/T – 5,63 (5,00; 6,25) мг ( $p < 0,05$ ). Наявність алеля VKORC1 A збільшувала ймовірність дози ВФ менше 5 мг у 7,00 разів (СІ 1,98 – 24,72;  $p < 0,05$ ), тоді як мутантний алель Т CYP4F2 збільшував ймовірність дози ВФ більше ніж медіана у 6,26 рази (СІ 1,58 – 24,78;  $p < 0,05$ ). Внеску алельних поліморфізмів гена CYP2C9 у дозування ВФ не спостерігалось.

Виявлено, що у хворих з ФП при емпіричному підборі дози ВФ, спостерігалось збільшення частоти реєстрації значення TTR  $< 70\%$  як критерія нестабільності антикоагуляції ( $\chi^2 = 2,35$ ;  $p < 0,05$ ) в підгрупі з балом за шкалою SAMe-TT2R2  $\geq 2$ . Взаємозв'язку TTR з поліморфізмами генів CYP2C9, CYP4F2 та VKORC1 не виявлено. Достовірно підвищувало частоту розвитку надмірної гіпокоагуляції носійство поліморфного алеля А гена VKORC1 ( $\chi^2 = 4,57$ ; RR = 2,14; СІ 1,06 – 4,69;  $p < 0,05$ ) та прийом аміодарону ( $\chi^2 = 3,13$ ; RR = 1,83; СІ 1,01 – 3,35;  $p < 0,05$ ). Геморагічні ускладнення достовірно частіше розвивалися за наявності мутантного алеля А гена VKORC1 ( $\chi^2 = 4,78$ ; RR = 2,14; СІ 1,08 – 4,25;  $p < 0,05$ ), при цьому не виявлено зв'язку між частотою кровотеч та поліморфізмами інших генів і клінічними чинниками. Встановлено, що кумулятивна кінцева точка достовірно частіше виникала у пацієнтів-носіїв поліморфного алеля А гена VKORC1 ( $\chi^2 = 8,74$ ;  $p < 0,05$ ), при цьому ризик її виникнення зростав у 1,87 рази (СІ 1,16 – 3,07;  $p < 0,05$ ).

Нами встановлено, що частота розповсюдженості алельних варіантів генів у хворих основної групи не відрізнялась від умовно здорових та осіб контрольної групи. Так, за результатами генотипування гена CYP2C9\*2, гомозиготні за диким алелем (генотип C/C) виявлені у 45 (90,00%) випадках, гетерозиготи (C/T) – у 5 (10,00%), гомозиготи за мутантним алелем (T/T) – у жодному випадку. При дослідженні поліморфізму гена CYP2C9\*3 гомозиготи за диким алелем (A/A) були виявлені у 46 (92,00%) випадках,

гетерозиготи (A/C) – у 4 (8,00%), гомозиготи за мутантним алелем (C/C) не спостерігались. Поліморфізм гена CYP4F2 був виявлений у 16 (32,00%) пацієнтів, гетерозиготний (C/T) у 13 (26,00%) пацієнтів та гомозиготний за мутантним алелем (T/T) – 3 (6,00%), 34 (68,00%) пацієнтів мали дикий генотип (C/C). Мутацію гена VKORC1 було виявлено у 30 (60,00%) пацієнтів: 23 (46,00%) гетерозигот (G/A) та 7 (14,00%) гомозигот (A/A) відповідно. У 20 (40,00%) (G/G) мутацій не виявлено.

Валідність фармакогенетичного підбору дози ВФ у пацієнтів з ФП підтверджувалась співставністю медіан та прямим кореляційним зв'язком між розрахованою та терапевтичною дозою ВФ ( $r=+0,57$ ;  $p<0,05$ ). Надалі з метою уточнення прогностичної цінності фармакогенетичного методу підбору пацієнти з ФП були розподілені на 4 групи відповідно до квантилів остаточної терапевтичної дози ВФ: перша група ( $n = 15$ ) –  $\leq 3,75$  мг, друга ( $n = 14$ ) –  $3,75-5,25$  мг, третя ( $n = 9$ ) –  $5,25-6,00$  мг, четверта ( $n = 12$ ) –  $> 6,00$  мг. Встановлено, що у хворих з ФП I-III квантилів розрахована та фактична дози також були співставними ( $p>0,05$ ), проте у пацієнтів IV квантилю розрахована доза ВФ була вірогідно нижчою за терапевтичну –  $6,15$  (4,88; 6,53) мг проти  $7,00$  (6,25; 7,66) мг відповідно ( $p<0,05$ ). Середня абсолютна та відносна помилки прогнозу були достовірно вищими для пацієнтів з ФП, які потребували високої добової дози ВФ, що свідчило про меншу точність алгоритму Gage та співавт. у цій когорті хворих. У групі фармакогенетичного підбору терапевтична доза ВФ достовірно менше відрізнялась від ініціальної дози, про що свідчили менші абсолютна та відносна помилки прогнозу у порівнянні з контрольною групою ( $1,05 \pm 0,14$  мг проти  $1,51 \pm 0,14$  мг та  $20,62 \pm 2,87$  % проти  $33,78 \pm 3,85$  % відповідно;  $p<0,05$ ).

При дослідженні показників тромбоцитарного та коагуляційного гемостазу нами встановлено, що у хворих з ФП при фармакогенетичному методі підбору дози ВФ достовірно нижчі ступінь (на 24,00%), час (на 3 хв 16 с) та швидкість за 30 с (на 19,50 %/хв) АДФ-індукованої агрегації

тромбоцитів порівняно з групою хворих з традиційним підбором дози, при цьому показники адреналін-індукованої агрегації тромбоцитів між групами вірогідно не відрізнялись. Концентрація D-димера у хворих з ФП була співставною у групах з фармакогенетичним та емпіричним методом підбору дози, проте встановлено зменшення частки хворих з підвищеним рівнем D-димера в групі фармакогенетичного підбору дози ВФ.

Доведено, що у хворих з ФП та фармакогенетичним методом підбору дози ВФ зменшувалися частота та ризик розвитку кумулятивної кінцевої точки ( $\chi^2 = 7,01$ ; RR = 0,60; CI 0,40 – 0,90;  $p < 0,05$ ) та окремих її складових: епізодів надмірної гіпокоагуляції ( $\chi^2 = 5,11$ ; RR = 0,50; CI 0,27 – 0,94;  $p < 0,05$ ) та кровотеч ( $\chi^2 = 9,57$ ; RR = 0,41; CI 0,22 – 0,77;  $p < 0,05$ ) у порівнянні з емпіричним підбором дози ВФ, при цьому групи були співставні за показником TTR. Взаємозв'язку TTR, епізодів надмірної гіпокоагуляції та геморагічних ускладнень з клінічними та генетичними чинниками у хворих з ФП на тлі антикоагулянтної терапії ВФ при фармакогенетичному підборі не виявлено. Водночас факторами ризику розвитку кумулятивної кінцевої точки при фармакогенетичному підборі дози ВФ були жіноча стать ( $\chi^2 = 3,89$ ; RR = 1,92; CI 1,08 – 3,44;  $p < 0,05$ ) та ожиріння ( $\chi^2 = 10,74$ ; RR = 2,61; CI 1,49 – 4,57;  $p < 0,05$ ) за відсутності впливу мутації гена VKORC1.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше за результатами одномоментного поперечного дослідження встановлено, що у Запорізькому регіоні найбільш розповсюдженими є поліморфізми генів CYP4F2 і VKORC1, тоді як поширеність поліморфізмів CYP2C9\*2 і CYP2C9\*3 значно менша; уточнено, що такий розподіл генотипів є співставним із європейською та загальноукраїнською популяціями.

Розширено наукові дані щодо частоти поліморфізмів генів CYP2C9, CYP4F2, VKORC1 у хворих з ФП. Уточнено різницю в добовій дозі ВФ залежно від генотипів. Виявлено, що при емпіричному методі підбору у хворих з ФП наявність алеля А гена VKORC1 вірогідно збільшує ймовірність

дозы ВФ меньше 5 мг у 7,00 разів ( $p < 0,05$ ). Разом з тим мутантний алель Т гена CYP4F2 збільшує ймовірність дози ВФ більше, ніж медіана, у 6,26 рази ( $p < 0,05$ ). При цьому внеску алельних поліморфізмів гена CYP2C9 у дозування ВФ не встановлено. Доповнено наукові дані щодо взаємозв'язку клінічних та генетичних чинників зі стабільністю антикоагуляції та розвитком геморагічних ускладнень у хворих з ФП при підборі дози ВФ емпіричним методом. Вперше встановлено, що достовірний вплив на розвиток кумулятивної кінцевої точки, що включала епізоди надмірної гіпокоагуляції та кровотечі, при емпіричному підборі дози ВФ чинить поліморфізм гена VKORC1.

Підтверджено валідність фармакогенетичного підбору дози ВФ у пацієнтів з ФП, про що свідчить співставність медіан та прямий кореляційний зв'язок між розрахованою та терапевтичною дозою ВФ. При цьому точність алгоритму Gage та співавт. знижується для пацієнтів, що потребують високої щоденної дози ВФ. Доведено, що у хворих основної групи терапевтична доза ВФ достовірно менше відрізняється від ініціальної дози.

Вперше оцінено стан тромбоцитарного та коагуляційного гемостазу у хворих з ФП залежно від способу підбору дози ВФ та встановлено, що в групі фармакогенетичного методу підбору достовірно нижчі ступінь, час, швидкість за 30 с АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів та спостерігається зменшення частки хворих з підвищеним рівнем D-димера порівняно з групою традиційного підбору дози.

Вперше виявлено, що у хворих з ФП та фармакогенетичним методом підбору дози ВФ достовірно зменшується частота та ризик розвитку кумулятивної кінцевої точки у порівнянні з емпіричним підбором дози ВФ. Уточнено переваги фармакогенетичного методу підбору дози ВФ щодо зменшення кількості та ризику виникнення епізодів надмірної гіпокоагуляції. Вперше доведено нівелювання впливу ендо- та екзогенних чинників при індивідуалізованому підборі дози ВФ, про що свідчить відсутність взаємозв'язку TTR, епізодів надмірної гіпокоагуляції та геморагічних

ускладнень з клінічними та генетичними факторами у хворих з ФП на тлі антикоагулянтної терапії ВФ при фармакогенетичному підборі на відміну від групи хворих з емпіричним підбором дози. Вперше виявлено, що факторами ризику розвитку кумулятивної кінцевої точки, яка включає епізоди надмірної гіпокоагуляції та геморагічні ускладнення, у хворих з ФП при фармакогенетичному методі підбору дози ВФ протягом року спостереження є жіноча стать та ожиріння за відсутності впливу мутації гена *VKORC1*.

**Практичне значення одержаних результатів.** Рекомендовано у хворих з ФП при підборі дози ВФ емпіричним методом для прогнозування незадовільного контролю МНВ ( $TTR < 70\%$ ) проводити оцінювання за шкалою *SAMe-TT2R2*, тоді як при підборі дози ВФ фармакогенетичним методом застосування шкали *SAMe-TT2R2* з цією метою вважати недоцільним. Запропоновано для використання у клінічній практиці з метою прогнозування епізодів надмірної гіпокоагуляції ( $MNV > 4$ ) при підборі дози ВФ емпіричним методом враховувати супутній прийом аміодарону, який підвищує ризик у 1,83 рази, та визначати поліморфізм гена *VKORC1*, який підвищує ризик у 2,14 рази. Запропоновано у хворих з ФП при підборі дози ВФ емпіричним методом для прогнозування ризику розвитку геморагічних ускладнень визначати поліморфізм гена *VKORC1*, при наявності мутантного алеля якого ризик збільшується у 2,14 рази. Обґрунтовано доцільність та впроваджено в клінічну практику спосіб фармакогенетичного підбору дози ВФ у хворих з ФП в умовах динамічного довготривалого спостереження в антикоагулянтному кабінеті з визначенням показників тромбоцитарного та коагуляційного гемостазу з метою зменшення епізодів надмірної гіпокоагуляції та ризику розвитку кровототеч.

**Публікації:** За темою дисертаційного дослідження опубліковано 14 наукових праць, з них 7 статей, з яких 4 – у фахових виданнях України категорії А та журналах, що включені до міжнародної наукометричної бази Web of Science, 7 тез доповідей, 8 робіт – без співавторів.

*Ключові слова: аритмії, фібриляція передсердь, антикоагулянтна терапія, варфарин, фармакогенетика, поліморфізм, гени, прогнозування, ризик, геморагічні ускладнення.*

## ABSTRACT

Mykhailovskyi Y.M. Prediction of safety and individualization of anticoagulant therapy in atrial fibrillation taking into account peculiarities of hemostasis and sensitivity of patients to warfarin. – Qualifying scientific work as a manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy, specialty 222 "Medicine" (22 Health care). – Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia, 2023.

Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia, 2023.

The dissertation is dedicated to the prediction of safety and optimization of anticoagulant therapy in atrial fibrillation (AF) by studying clinical features, indicators of plasma and platelet hemostasis and personalized warfarin (WF) dosing taking into account polymorphisms of the CYP2C9, CYP4F2, VKORC1 genes.

At the first stage of the study, with the aim of investigating the frequency of incidence of allelic variants of the VKORC1, CYP2C9 and CYP4F2 genes in residents of the city of Zaporizhzhia, a genetic examination of 150 relatively healthy volunteers (average age  $44.88 \pm 1.42$ ; men – 62, women – 88), who underwent preventive examination at Medical Educational and Scientific Center "University Clinic" ZSMU was carried out.

At the second stage, in order to study the effectiveness and safety of AF treatment, 110 patients with AF were examined (average age  $68.72 \pm 0.79$ ; men – 57, women – 53), who were observed for a year in the anticoagulant therapy



monitoring office created on the base of Medical Educational and Scientific Center "University Clinic" ZSMU. Using the method of stratified randomization, patients with AF were divided into two groups: the main group - 50 patients with AF and WF dosing using the pharmacogenetic method, the control group - 60 patients with AF and traditional WF dosing method. The groups were comparable in terms of age, sex, and nature of concomitant diseases.

According to the results of the first stage of the study, it was found that in Zaporizhzhia region the most common types of polymorphisms were that of the genes CYP4F2 (C/C - 56.0%, C/T - 35.3%, T/T - 8.7%) and VKORC1 (G/G - 8.0%, G/A - 50.0%, A/A - 12.0%), while the prevalence of CYP2C9\*2 polymorphisms (C/C - 77.3%, C/T - 22.7 %, T/T - 0%) and CYP2C9\*3 (A/A - 88.7%, A/C - 10.7%, C/C - 0.6%) was significantly lower. The high prevalence of minor alleles of the above-mentioned genes in Zaporizhzhia region indicates the potential feasibility of taking into account genetic polymorphisms in the WF dosing.

At the second stage of the study, the distribution of genotypes in patients with AF was established. Thus, in patients with empirical WF dosing method based on the genotyping results of the CYP2C9\*2 gene, homozygotes for the wild allele (genotype C/C) were found in 46 (76.67%) cases, heterozygotes (C/T) in 13 (21, 67%), homozygotes for the mutant allele (T/T) - in 1 (1.67%) case. When studying the CYP2C9\*3 gene polymorphism, homozygotes for the wild allele (A/A) were found in 52 (86.67%) cases, heterozygotes (A/C) in 7 (11.67%), homozygotes for the mutant allele (C /C) - in 1 (1.67%) case. CYP4F2 gene polymorphism was detected in 20 (33.33%) patients, heterozygous (C/T) in 18 (30.00%) patients and homozygous for the mutant allele (T/T) - 2 (3.33%), 40 (66.67%) of patients had a wild genotype (C/C). VKORC1 gene mutation was detected in 35 (58.34%) patients: 28 (46.67%) heterozygous (G/A) and 7 (11.67%) homozygous (A/A), respectively. No mutations were detected in 25 (41.67%)

(G/G). This distribution was comparable to a group of relatively healthy individuals.

A statistically significant difference in the daily dose of WF with the empirical dosing method was established depending on the VKORC1 and CYP4F2 genotypes, namely: for patients with the VKORC1 G/G genotype, the median dose was 6.25 (5.13; 7.50) mg, with the G/A genotype – 4.75 (3.75; 6.00), with the A/A genotype – 3.000 (2.50; 3.75) mg ( $p < 0.05$ ); for the CYP4F2 genotype, the median dose was 4.5 (3.25; 6.25) mg, with the C/T genotype – 6.13 (5.00; 7.50), with the T/T genotype - 5.63 (5.00; 6,25) mg. The presence of the VKORC1 A allele increased the probability of a WF dose of less than 5 mg by 7.00 times (CI 1.98-24.72;  $p < 0.05$ ), while the CYP4F2 mutant T allele increased the probability of a WF dose greater than the median by 6.26 times ( CI 1.58 – 24.78). The contribution of allelic polymorphisms of the CYP2C9 gene to the dosage of WF was not observed.

It was found that in patients with AF with empirical WF dosing, there was an increase in the frequency of registration of TTR values  $< 70\%$  as a criterion for anticoagulation instability ( $\chi^2 = 2.35$ ;  $p < 0.05$ ) in the subgroup with a score on the SAME-TT2R2 scale  $\geq 2$ . No correlation between TTR and CYP2C9, CYP4F2 and VKORC1 gene polymorphisms was detected. The frequency of the development of excessive hypocoagulation was significantly increased by carrying the polymorphic allele A of the VKORC1 gene ( $\chi^2 = 4.57$ ; RR = 2.14; CI 1.06 – 4.69;  $p < 0.05$ ) and taking amiodarone ( $\chi^2 = 3.13$ ; RR = 1.83, CI 1.01 – 3.35,  $p < 0.05$ ). Hemorrhagic complications developed significantly more frequently in the presence of the mutant allele A of the VKORC1 gene ( $\chi^2 = 4.78$ ; RR = 2.14; CI 1.08 – 4.25;  $p < 0,05$ ), while there was no relationship found between the frequency of bleeding and polymorphisms of other genes and clinical factors. It was established that the cumulative endpoint occurred significantly more often in patients carrying the polymorphic allele A of the VKORC1 gene ( $\chi^2 = 8.74$ ;  $p < 0.05$ ), while the risk of its occurrence increased by 1.87 times (CI 1.16 – 3.07).

We established that the frequency of allelic variants of genes in the patients of the main group did not differ from that of relatively healthy individuals and individuals of the control group. Thus, according to the genotyping results of the CYP2C9\*2 gene, homozygotes for the wild allele (genotype C/C) were found in 45 (90.00%) cases, heterozygotes (C/T) in 5 (10.00%), homozygotes for the mutant allele (T/T) – in no case. When studying the CYP2C9\*3 gene polymorphism, homozygotes for the wild allele (A/A) were found in 46 (92.00%) cases, heterozygotes (A/C) in 4 (8.00%), homozygotes for the mutant allele (C /C) were not observed.

CYP4F2 gene polymorphism was detected in 16 (32.00%) patients, heterozygous (C/T) in 13 (26.00%) patients and homozygous for the mutant allele (T/T) – in 3 (6.00%), 34 (68.00%) patients had the wild genotype (C/C). VKORC1 gene mutation was detected in 30 (60.00%) patients: 23 (46.00%) heterozygotes (G/A) and 7 (14.00%) homozygotes (A/A), respectively. No mutations were detected in 20 (40.00%) (G/G).

The validity of the pharmacogenetic WF dosing in patients with AF was confirmed by the comparability of medians and a direct correlation between the calculated and the therapeutic dose of WF ( $r=+0.57$ ;  $p<0.05$ ). Further, in order to clarify the prognostic value of the pharmacogenetic method of selection, patients with AF were divided into 4 groups according to the quartiles of the final therapeutic dose of AF: the first group ( $n = 15$ ) –  $\leq 3.75$  mg, the second ( $n = 14$ ) – 3.75-5.25 mg, the third ( $n = 9$ ) – 5.25-6.00 mg, the fourth ( $n = 12$ ) –  $> 6.00$  mg. It was established that in patients with AF of the I-III quartiles, the calculated and actual doses were also comparable ( $p>0.05$ ), however, in patients of the IV quartile, the calculated dose of WF was probably lower than the therapeutic dose - 6.15 (4.88; 6,53) mg versus 7.00 (6.25, 7.66) mg, respectively ( $p<0.05$ ). The mean absolute and relative errors of prediction were significantly higher for patients with AF who required a high daily dose of WF, suggesting a lower accuracy of the Gage et al. algorithm in this cohort of patients. In the pharmacogenetic dosing

group, the therapeutic dose of WF differed significantly less from the initial dose, as evidenced by smaller absolute and relative prediction errors compared to the control group ( $1.05 \pm 0.14$  mg vs.  $1.51 \pm 0.14$  mg and  $20.62 \pm 2.87\%$  versus  $33.78 \pm 3.85\%$ , respectively;  $p < 0.05$ ).

When studying indicators of platelet and coagulation hemostasis, we found that in patients with AF, with the pharmacogenetic method of WF dosing, significantly lower degree (by 24.00%), time (by 3 min 16 s) and speed in 30 s (by 19.50 %/ min) of ADP-induced platelet aggregation was observed compared to the group of patients with traditional dose selection, while the indicators of adrenaline-induced platelet aggregation probably did not differ between the groups. The concentration of D-dimer in patients with AF was comparable in the groups with pharmacogenetic and empirical dose selection methods, however there was a decrease in the proportion of patients with an elevated level of D-dimer found in the group of pharmacogenetic WF dose selection.

It has been proven that in patients with AF and pharmacogenetic WF dosing method there was a decrease in frequency and risk of development of a cumulative end point ( $\chi^2 = 7.01$ ; RR = 0.60; CI 0.40 – 0.90;  $p < 0.05$ ) and of its individual components: episodes of excessive hypocoagulation ( $\chi^2 = 5.11$ ; RR = 0.50; CI 0.27 – 0.94;  $p < 0.05$ ) and bleeding ( $\chi^2 = 9.57$ ; RR = 0.41; CI 0.22 – 0.77;  $p < 0.05$ ) compared with empirical selection of the WF dose, while the groups were comparable in terms of TTR. There was no relationship between TTR, episodes of excessive hypocoagulation and hemorrhagic complications with clinical and genetic factors in patients with AF on the background of anticoagulant therapy with WF with pharmacogenetic selection. At the same time, the risk factors for the development of the cumulative end point in the pharmacogenetic selection of the dose of WF were female gender ( $\chi^2 = 3.89$ ; RR = 1.92; CI 1.08 – 3.44;  $p < 0.05$ ) and obesity ( $\chi^2 = 10.74$ ; RR = 2.61; CI 1.49 – 4.57;  $p < 0.05$ ) in the absence of the influence of the VKORC1 gene mutation.

**Scientific novelty of the obtained results.** For the first time, based on the results of a one-time cross-sectional study, it was established that in Zaporizhzhia region polymorphisms of the CYP4F2 and VKORC1 genes are the most common, while the prevalence of CYP2C9\*2 and CYP2C9\*3 polymorphisms is much lower; it was specified that this distribution of genotypes is comparable to European and all-Ukrainian populations.

Scientific data regarding frequency of CYP2C9, CYP4F2, VKORC1 gene polymorphisms in patients with AF have been expanded. The difference in the daily dose of WF depending on the genotypes has been clarified. It was found that with the empirical selection method in patients with AF, the presence of the A allele of the VKORC1 gene is likely to increase the probability of WF dose of less than 5 mg by 7.00 times, while the mutant T allele of the CYP4F2 gene increases the probability of WF dose greater than the median by 6.26 times. At the same time, the contribution of allelic polymorphisms of the CYP2C9 gene to the dosage of WF has not been established. Scientific data regarding the relationship of clinical and genetic factors with the stability of anticoagulation and the development of hemorrhagic complications in patients with AF and empirical WF dosing method have been added. For the first time, it was established that the polymorphism of the VKORC1 gene exerts a reliable influence on the development of the cumulative end point, which included episodes of excessive hypocoagulation and bleeding, in patients with AF and empirical WF dosing method.

The validity of the pharmacogenetic selection of the dose of WF in patients with AF was confirmed, as evidenced by the comparability of the medians and the direct correlation between the calculated and therapeutic dose of WF. At the same time, the accuracy of the algorithm of Gage et al. is decreased for patients requiring a high daily dose of WF. It has been proven that in patients of the main group, the therapeutic dose of WF differs significantly less from the initial dose.

For the first time, the state of platelet and coagulation hemostasis in patients with AF was assessed depending on the method of WF dosing, and it was

established that in the group of the pharmacogenetic dosing, the degree, time, and speed of ADP-induced platelet aggregation were significantly lower in 30 seconds and a decrease in the proportion of patients with an increased level of D-dimer was observed compared to the group of traditional dose adjustment.

For the first time, it was found that in patients with AF, the frequency and risk of development of the cumulative endpoint significantly decreased with the pharmacogenetic method of WF dosing compared to the empirical WF dosing. The advantages of the pharmacogenetic method of WF dosing in terms of reduction of the number and risk of episodes of excessive hypocoagulation have been clarified. For the first time, the leveling of the influence of endo- and exogenous factors during the individualized WF dosing has been proven, as evidenced by the absence of a relationship between TTR, episodes of excessive hypocoagulation, and hemorrhagic complications with clinical and genetic factors in patients with AF on the background of anticoagulant therapy with WF with pharmacogenetic dosing, in contrast to groups of patients with empirical dosing. For the first time, it was found that the risk factors for the development of the cumulative end point, which includes episodes of excessive hypocoagulation and hemorrhagic complications in patients with AF using the pharmacogenetic method of WF dosing during a year of observation, are female gender and obesity in the absence of the influence of the VKORC1 gene mutation.

**Practical significance of the obtained results.** It is recommended that patients with AF should be assessed using the SAME-TT2R2 scale when selecting the dose of WF using empirical method for prediction of the unsatisfactory INR control ( $TTR < 70\%$ ), however the SAME-TT2R2 scale for this purpose should be considered impractical in case of pharmacogenetic WF dosing method. It is proposed in clinical practice to take into account the concomitant use of amiodarone, which increases the risk by 1.83 times and to determine the polymorphism of the VKORC1 gene, which increases the risk by 2.14 times, for the purpose of predicting episodes of excessive hypocoagulation ( $INR > 4$ ) when

selecting the dose of WF using an empirical method. It is proposed to determine the polymorphism of the VKORC1 gene in patients with AF when selecting the dose of WF using the empirical method to predict the risk of developing hemorrhagic complications, which increases by 2.14 times in the presence of a mutant allele.

The expediency of the pharmacogenetic WF dosing method in patients with AF under conditions of dynamic long-term observation in the anticoagulation monitoring office with the determination of indicators of platelet and coagulation hemostasis in order to reduce episodes of excessive hypocoagulation and the risk of bleeding was substantiated and introduced into clinical practice.

**Publications:** Based on the dissertation materials, 14 scientific works were published, including 7 articles (4 articles were published in specialized Ukrainian journals of category A and those indexed in the "Web of Science" database) and 7 report abstracts. Eight works are without co-authors.

**Key words:** *arrhythmias, atrial fibrillation, anticoagulant therapy, warfarin, pharmacogenetics, polymorphism, genes, prediction, risk, hemorrhagic complications.*

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

**Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:**

1. Kolesnyk, M. Y., & Mykhailovskyi, Y. M. (2021). Frequencies of polymorphisms in genes affecting the pharmacokinetics of warfarin in the Zaporizhzhia region. *Запорізький медичний журнал*, 23(4), 476–479. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2021.4.227002> (Здобувачем проведено аналіз літератури, збір матеріалу, статистичну обробку даних, підготовлено статтю до друку).

2. Колесник, М. Ю., & Михайловський, Я. М. (2022). Ефективність і безпечність терапії варфарином у хворих із фібриляцією передсердь під час визначення дози фармакогенетичним методом. *Запорізький медичний журнал*, 24(4(133)), 390–395. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2022.4.256945> (Здобувач проводив відбір пацієнтів, брав участь в обстеженні та лікуванні, здійснював статистичний аналіз отриманих результатів, оформлення статті).

3. Михайловський, Я. М. (2022). Вплив клінічних і генетичних чинників на стабільність антикоагуляції варфарином у хворих із фібриляцією передсердь. *Патологія*, 19(1), 12–17. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2022.1.252662>

4. Колесник М. Ю., Михайловський Я. М. (2022) Стан тромбоцитарного та коагуляційного гемостазу у хворих із фібриляцією передсердь залежно від способу визначення дози варфарину. *Запорізький медичний журнал*, 24 (6 (135)), 647–651. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2022.6.263895> (Здобувачем проведено відбір пацієнтів та їх обстеження, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку).



### Опубліковані праці апробаційного характеру:

5. Михайловський Я. М. (2020) Розповсюдженість поліморфізму генів VKORC1, CYP2C9 ТА CYP4F2 серед мешканців Запорізького регіону. *Сучасна медицина очима молоді: проблеми і перспективи вирішення* : зб. тез за матеріалами наук.-практ. конф. молодих вчених за участю міжнар. спеціалістів, присвяч. Дню науки (22 трав. 2020 р., м. Харків). 25.

6. Mykhailovskyi Y. M. (2020) Warfarin therapeutic dose dependence on CYP2C9, CYP4F2, VKORC1 genes polymorphisms in patients with atrial fibrillation. *7th Lublin International Medical Congress for Students and Young Doctors* (26-28 November 2020, Lublin). 220.

7. Михайловський Я. М. (2021). Взаємозв'язок поліморфізмів генів VKORC1, CYP2C9 та CYP4F2 з розвитком надмірної гіпокоагуляції у хворих з фібриляцією передсердь на тлі терапії варфарином протягом року. *ВІМСО-2021: зб. тез за матеріалами VIII Міжнар. мед.-фарм. конгресу студентів і молодих учених* (6-9 квіт. 2021 р, м. Чернівці). 106.

8. Михайловський Я. М. (2021). Частота виникнення геморагічних ускладнень у хворих з фібриляцією передсердь при підборі дози варфарину традиційним та фармакогенетичним методом. *XXV Міжнародний медичний конгрес студентів і молодих вчених Тернопільського державного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України* : зб. тез за матеріалами конгресу (12-14 квіт. 2021 р., м. Тернопіль). 16.

9. Михайловський Я. М. (2021). Вплив клінічних та генетичних чинників на розвиток надмірної гіпокоагуляції у хворих з фібриляцією передсердь на тлі терапії варфарином. *Актуальні питання сучасної медицини* : зб. тез за матеріалами XVIII міжнар. наук. конф. студентів, молодих науковців та фахівців (22-23 квіт. 2021 р., м. Харків). 105–106.

10. Михайловський Я. М. (2022). Прогностичне значення індексу SAME-TT2R2 при прийомі варфарину у хворих з фібриляцією передсердь в умовах антикоагулянтного кабінету. *Актуальні питання сучасної медицини і*

фармації-2022 : матеріали 82-ї Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю молодих вчених та студентів (17 трав. 2022 р., м. Запоріжжя). 28–29.

11. Колесник М. Ю., Михайловський Я. М. (2022) Прогностична здатність алгоритму Gage у хворих з фібриляцією передсердь. *Матеріали XXIII Національного конгресу кардіологів України* (20-23 вер. 2022 р. м. Київ). 50. (Здобувачем виконано відбір хворих, статистичний аналіз отриманих даних, написання та оформлення тез).

**Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:**

12. Колесник М. Ю., Камишний О. М., Михайловський Я. М. (2018). Взаємозв'язок поліморфізму генів CYP2C9, CYP4F2, VKORC1 з розвитком геморагічних ускладнень при терапії варфарином у хворих з фібриляцією передсердь: результати одноцентрового річного спостереження. *Український кардіологічний журнал*, 25(1). 54–59. <https://ucardioj.com.ua/index.php/UJC/article/view/49> (Здобувачем проведено відбір пацієнтів, призначення терапії, обстеження хворих у динаміці лікування, статистичний аналіз, оформлення статті).

13. Колесник, М. Ю., & Михайловський, Я. М. (2019). Поширеність алельних варіантів генів VKORC1, CYP2C9 і CYP4F2 серед жителів Запорізької області. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*, 12(1), 53–59. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2019.1.159128> (Здобувачем проведено аналіз літератури, збір матеріалу, статистичну обробку даних, підготовлено статтю до друку).

14. Kolesnyk, M. Y., & Mykhailovskyi, Y. M. (2021). The interrelation of CYP2C9, CYP4F2, VKORC1 genes polymorphisms with warfarin dose and hemorrhagic complications risk rise in patients with atrial fibrillation: a retrospective study. *East European science journal*, 1(1), 37–43. <http://dspace.zsmu.edu.ua/handle/123456789/13659>