

## Полиморфизм генов *CYP2C19* и *ABCB1*, ассоциированный с изменением активности клопидогрела, у больных ишемическим инсультом: клинические и этнические аспекты

Д.А. Сычев<sup>1</sup>, В.В. Шпрах<sup>2</sup>, Е.Ю. Китаева<sup>2</sup>, К.Б. Мирзаев<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» МЗ РФ, Москва

<sup>2</sup>Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «РМАНПО», Иркутск

**Для корреспонденции:** Е.Ю. Китаева. Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования. 664049, Иркутск, м/р Юби лей ный, 100. kitaevaey@mail.ru.

**Для цитирования:** Сычев Д.А., Шпрах В.В., Китаева Е.Ю., Мирзаев К.Б. Полиморфизм генов *CYP2C19* и *ABCB1*, ассоциированный с изменением активности клопидогрела, у больных ишемическим инсультом: клинические и этнические аспекты. *Клин фармакол тер* 2019;28(3): 79-84. DOI 10.32756/0869-5490-2019-3-79-84.

**Цель.** Сравнить частоту полиморфизма *CYP2C19* и *ABCB1* у больных ишемическим инсультом (ИИ) и здоровых добровольцев и оценить влияние сопутствующей лекарственной терапии на антитромботическую активность клопидогрела у больных ИИ.

**Материал и методы.** Проводили генотипирование 121 больного ИИ и 250 здоровых добровольцев по *CYP2C19* и *ABCB1* методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Оценивали изменение антитромботической активности клопидогрела на фоне сопутствующей терапии у больных ИИ.

**Результаты.** В группе больных ИИ распределение по всем исследуемым генотипам соответствовало закону Харди-Вайнберга: *CYP2C19\*2* ( $\chi^2=0,0001$ ,  $p=0,99$ ), *CYP2C19\*3* ( $\chi^2=0,03$ ,  $p=0,85$ ), *CYP2C19\*17* ( $\chi^2=0,96$ ,  $p=0,33$ ), *ABCB1* ( $\chi^2=1,81$ ,  $p=0,18$ ). Среди здоровых добровольцев распределение по генотипам соответствовало закону Харди-Вайнберга по *CYP2C19\*2* (русские:  $\chi^2=0,025$ ,  $p=0,87$ ; буряты:  $\chi^2=1,90$ ,  $p=0,17$ ), *CYP2C19\*17* (русские:  $\chi^2=0,28$ ,  $p=0,60$ ; буряты:  $\chi^2=0,86$ ,  $p=0,35$ ), *ABCB1* (русские:  $\chi^2=3,58$ ,  $p=0,06$ ; буряты:  $\chi^2=2,51$ ,  $p=0,11$ ). Полиморфные маркеры *CYP2C19\*17(CT+ TT)* и *ABCB1(CT+ TT)* в группе больных ИИ определялась чаще, чем у здоровых добровольцев – 43,0% и 30,0% ( $p=0,015$ ) и 82,0% и 72,4% ( $p=0,054$ ), соответственно.

**Заключение.** Выявлены достоверные различия частоты *CYP2C19\*3* и *CYP2C19\*17* между русскими и бурятами Приангарья (здоровые добровольцы). У больных ИИ чаще встречались «генотипы *CYP2C19\*17(CT+ TT)* и *ABCB1(CT+ TT)*. Установлено статистически значимое снижение антитромботической активности клопидогрела при применении тромболитической терапии в первые часы госпитализации, блокаторов кальциевых каналов, ингибиторов АПФ, статинов.

**Ключевые слова.** Ишемический инсульт, ген *CYP2C19*, ген *ABCB1*, клопидогрел, блокаторы кальциевых каналов, тромболитическая терапия, ингибиторы протонной помпы, статины,  $\beta$ -адреноблокаторы, ингибиторы АПФ.

Индивидуальная изменчивость лекарственного ответа является одной из основных проблем в современной клинической практике [1-2]. Ферменты цитохрома P-450 (P-450) являются основными участниками метаболизма ксенобиотиков. Генетическая изменчивость генов, кодирующих данные ферменты, играет важную роль в проявлении индивидуальной чувствительности к лекарственным препаратам [3]. Одним из основных изоферментов P-450 является *CYP2C19*, который участвует в метаболизме целого ряда лекарственных препаратов: ингибиторов протонной помпы (омепразол, пантопризол, лансопризол, рабепразол и эзомепразол), антидепрессантов (трициклические антидепрессанты – амитриптилин, кломипрамин, имипрамин, селективные ингибиторы обратного захвата серотонина – циталопрам, ингибитор MAO – моклобемид), противоэпилептических средств (диазепам, фенитоин, фенобарбитал, клоназепам), нестероидных противовоспалительных препаратов (диклофенак, индометацин), антикоагулянтов (варфарин), антиагрегантов (тиенопиридины, в том числе клопидогрел), противогрибковых препаратов (вориконазол),  $\beta$ -адреноблокаторов (пропранолол), противоопухолевых (циклофосфамид) и других лекарственных средств [4-5]. Лекарственные взаимодействия являются ведущей причиной снижения или полного отсутствия эффекта терапии и побочных лекарственных реакций. Большинство лекарственных взаимодей-

ствий отмечается в результате конкурентного ингибирования, при котором два вещества конкурируют друг с другом за один участок связывания с изоферментом P-450 [6,7].

Клопидогрел – пролекарство, которое превращается в активный метаболит и избирательно необратимо блокирует АДФ-зависимую активацию и агрегацию тромбоцитов. После кишечной абсорбции, осуществляемой с помощью белкового транспортера – гликопротеина-Р, детерминированного геном *ABCB1*, большая часть (85%) пролекарства метаболизируется и инактивируется эстеразами, и только оставшиеся 15% клопидогрела превращаются в промежуточный метаболит 2-оксо-клопидогрел. Этот неактивный метаболит далее гидролизует в высоко нестабильное производное активного тиола R-130964 путем воздействия изоферментов *CYP2C19*, кодируемых геном *CYP2C19* [8,9].

Полиморфная изменчивость этого гена определяет разную ферментативную активность изофермента *CYP2C19* и, соответственно, наличие в популяции медленных, промежуточных, быстрых и ультрабыстрых метаболизаторов ксенобиотиков [10]. Аллельный вариант *CYP2C19\*1* определяет стандартную ферментативную активность *CYP2C19*. *CYP2C19\*2* и *\*3* являются основными причинами сниженного метаболизма лекарственных средств, в том числе клопидогрела (медленные метаболизаторы). Носители полиморфизма *CYP2C19\*17*, в зависимости от гомо- или гетерозиготного варианта носительства, относятся к быстрым или ультрабыстрым метаболизаторам ксенобиотиков [11]. Частота распределения полиморфизма *CYP2C19* (*CYP2C19\*2*, *CYP2C19\*3*, *CYP2C19\*17*) и *ABCB1* зависит от этнической принадлежности и географической локализации популяции, что связано с историческим формированием населения на определенных территориях [12,13].

Целью исследования было сравнить частоту полиморфных маркеров *CYP2C19* и *ABCB1* у больных ишемическим инсультом (ИИ) и здоровых добровольцев и оценить влияние сопутствующей лекарственной терапии на эффективность клопидогрела у больных ИИ.

### Материал и методы

В исследование включали пациентов с диагнозом ИИ, который устанавливали на основании критериев классификации сосудистых заболеваний головного мозга [14]. Этническую принадлежность среди больных ИИ не определяли. Все участники дали добровольное информированное согласие на участие в исследовании, протокол которого был одобрен локальным этическим комитетом Иркутской областной клинической больницы (протокол №73 от 29 ноября 2016 г.). Все пациенты в первые 24 часа госпитализации или не ранее, чем через 24 часа после тромболитической терапии (алтеплаза) получали 0,125 г ацетилсалициловой кислоты, а затем клопидогрел в дозе 0,075 г/сут. В первые, седьмые и тринадцатые сутки определяли остаточную реактивность тромбоцитов (ОРТ) с использованием четырехканального светооптического агрегометра (Helena AggRAM, Великобритания) с добавлением

в качестве индукторов агрегации тромбоцитов адреналина и аденозиндифосфата (АДФ).

Генотипирование выполнялось на базе Научно-исследовательского центра ГБОУ ДПО “Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования” Минздрава России (г. Москва), куда доставлялась цельная венозная кровь в вакуумных стеклянных пробирках с К3 этилендиаминтетраацетатом. Дезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК) из лейкоцитов выделяли с помощью набора реагентов “ДНК-Экстрен-1” (ЗАО “Синтол”, Москва, Россия). Полиморфные маркеры генов *CYP2C19\*2* (*G681A*), *CYP2C19\*3* (*G363A*), *CYP2C19\*17* (*C806T*) и *ABCB1* (*C3435T*) определяли методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с помощью наборов реагентов “SNP-Скрин” (ЗАО “Синтол”, Москва, Россия) на амплификаторе Real-Time CFX96 Touch (Bio-Rad Laboratories, Inc., USA). После предварительной денатурации при 95°C в течение 3 минут следовали 40 циклов: денатурация при 95°C в течение 15 с, отжиг при 63°C в течение 40 мин.

Статистическую обработку проводили с помощью пакета прикладных программ STATISTICA 6.0 и INSTAT. Для количественных переменных при нормальном распределении данных приведены средние значения и стандартные отклонения. Данные проверены на нормальность распределения и однородность дисперсных групп с использованием критериев Шапиро-Уилки или Колмогорова-Смирнова в зависимости от количества исследуемых. Статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ . Для подтверждения независимого распределения аллелей оценивали соответствие закону Харди-Вайнберга с использованием авторского калькулятора [Michael H. Court (2005-2008)]. Полученные результаты популяционного исследования соответствовали закону Харди-Вайнберга при значении  $p > 0,05$ . Для оценки различий частоты полиморфных аллелей использовали точный тест Фишера и отношение шансов.

### Результаты

В исследование был включен 121 пациент, госпитализированный в региональный сосудистый центр Иркутской областной клинической больницы с диагнозом ИИ (82 мужчины и 39 женщин, средний возраст  $61,6 \pm 7,7$  года). В зависимости от изменения ОРТ на 13-е сутки терапии клопидогрелом больные ИИ были разделены на две группы. Первую составили 111 (91,7%) пациентов с “лабораторной” чувствительностью к клопидогрелу (ОРТ  $\leq 65\%$ ), вторую – 10 (8,3%) пациентов с “лабораторной” резистентностью к клопидогрелу (ОРТ  $> 65\%$ ).

В контрольную группу были включены 250 здоровых добровольцев – представителей двух наиболее многочисленных этнических групп, проживающих в Приангарье, в том числе 136 русских (26 мужчин и 110 женщин, средний возраст  $42,1 \pm 12,0$  лет) и 114 бурят (34 мужчины и 80 женщин, средний возраст  $42,8 \pm 15,4$  года).

Среди больных ИИ распределение по всем исследуемым генотипам соответствовало закону Харди-Вайнберга: *CYP2C19\*2* ( $\chi^2=0,0001$ ,  $p=0,99$ ), *CYP2C19\*3* ( $\chi^2=0,03$ ,  $p=0,85$ ), *CYP2C19\*17* ( $\chi^2=0,96$ ,  $p=0,33$ ), *ABCB1* ( $\chi^2=1,81$ ,  $p=0,18$ ). Среди здоровых добровольцев распределение по генотипам соответствовало закону

**ТАБЛИЦА 1. Сравнение частоты генотипов по *CYP2C19\*2*, *CYP2C19\*3*, *CYP2C19\*17*, *ABCB1* у больных ИИ и здоровых добровольцев**

Генотип	Больные ИИ, n=121	Здоровые, n=250	p
<i>CYP2C19*2</i> , n (%)			
GG	86 (71,1)	175 (70,0)	0,904
GA + AA	35 (28,9)	75 (30,0)	
<i>CYP2C19*3</i> , n (%)			
GG	117 (96,7)	230 (92,0)	0,114
GA + AA	4 (3,3)	20 (8,0)	
<i>CYP2C19*17</i> , n (%)			
CC	69 (57,0)	175 (70,0)	0,015
CT + TT	52 (43,0)	75 (30,0)	
<i>ABCB1</i> , n (%)			
CC	22 (18,0)	69 (27,6)	0,054
CT + TT	98 (82,0)	181 (72,4)	

Харди-Вайнберга по *CYP2C19\*2* (русские:  $\chi^2=0,025$ ,  $p=0,87$ ; буряты:  $\chi^2=1,90$ ,  $p=0,17$ ), *CYP2C19\*17* (русские:  $\chi^2=0,28$ ,  $p=0,60$ ; буряты:  $\chi^2=0,86$ ,  $p=0,35$ ), *ABCB1* (русские:  $\chi^2=3,58$ ,  $p=0,06$ ; буряты:  $\chi^2=2,51$ ,  $p=0,11$ ).

При генотипировании популяции русских полиморфизм *CYP2C19\*3* не был выявлен, а рассчитать  $\chi^2$  по Харди-Вайнбергу не представлялось возможным. Статистически значимых различий частоты *CYP2C19\*2* между русскими и бурятами не обнаружено: 15,4% и 16,2%, соответственно ( $p=0,807$ ). В то же время *CYP2C19\*3* встречался только у бурят – 9,2% ( $p<0,0001$ ), а *CYP2C19\*17* определялся чаще у русских – 26,8% и 6,1%, соответственно ( $p<0,0001$ ).

Для гена *ABCB1* статистически значимых различий между исследуемыми этническими группами не обнаружено: у русских частота T-аллеля составила 48,9%, у бурят – 44,7% ( $p=0,369$ ).

Частота генотипов *CYP2C19\*2*, *CYP2C19\*3*, *CYP2C19\*17*, *ABCB1* была также сопоставлена у больных ИИ и всех здоровых добровольцев в целом. Частота *CYP2C19\*2* и *CYP2C19\*3* в двух группах не отличалась (табл. 1), в то время как по *CYP2C19\*17* и *ABCB1* продемонстрированы статистически значимые различия частоты аллелей и генотипов: частота полиморфных маркеров *CYP2C19\*17* (CT + TT) и *ABCB1* (CT + TT) была выше у больных ИИ – 43,0% и 30,0% ( $p=0,015$ ) и 82,0% и 72,4% ( $p=0,054$ ), соответственно.

Статистически значимое влияние на антитромботическую активность клопидогрела у больных ИИ оказы-

вали блокаторы кальциевых каналов, ингибиторы АПФ и статины (табл. 2).

### Обсуждение

Таким образом, в нашем исследовании в русской популяции Приангарья выявлена более высокая частота полиморфного маркера *CYP2C19\*2*, который ассоциируется со снижением фармакологического ответа на стандартные дозы клопидогрела. В популяции бурят, проживающих на той же территории, определялось носительство полиморфизма *CYP2C19\*3*, который также приводит к снижению активности клопидогрела. Кроме того, у русских и бурят была высокая частота *CYP2C19\*17*, наличие которого может указывать на высокий риск геморрагических осложнений на фоне применения клопидогрела.

По данным разных исследователей, *CYP2C19\*2* встречается у 18-75% представителей монголоидной расы [16-18] и 13-93% – европеоидной [18,19]. Обращает на себя внимание зависимость частоты *CYP2C19\*3* от этнической принадлежности: если у монголоидов она составляет 0,5-25% [17-18], то у европеоидов – менее 1% [18-20]. На территории Российской Федерации изучена распространенность *CYP2C19\*2* и *CYP2C19\*3* в разных этнических группах: частота *CYP2C19\*2* у якутов составила 23%, у бурят – 21%, у алтайцев и тувинцев – по 15%; частота *CYP2C19\*3* у якутов – 5%, у бурят – 7%, у алтайцев – 4%, у тувинцев – 2% [13,21]. Частота носительства аллельных вариантов *CYP2C19\*17* у европеоидов составляет в среднем 20-42%, у монголоидов – 1-14% [18,19]. Сопоставимая частота полиморфных вариантов гена *ABCB1* выявлена среди европеоидов и монголоидов – 24-50% [19,21,22] и 50%, соответственно [19,22].

В крупном исследовании у русских пациентов с острым коронарным синдромом из разных регионов России была изучена частота аллельных вариантов *CYP2C19\*2*, *CYP2C19\*3* и *CYP2C19\*17*. Она составила в Северной Сибири 14,9, 0,5 и 33,3%, соответственно, в Центральной Сибири – 11,1, 0,0 и 17,1%, в Восточной Сибири – 10,6, 2,9 и 22,2%, в Московской области – 8,0, 0,0 и 15,4%. Различия частоты “медленных” и “быстрых” аллельных вариантов гена *CYP2C19* выявлены между пациентами из отдаленных друг от друга регионов (Центральной и Восточной Сибири) по

**ТАБЛИЦА 2. Сравнительная характеристика лекарственной терапии в группах больных ИИ с лабораторной чувствительностью и резистентностью к клопидогрелу, n (%)**

Сопутствующая лекарственная терапия, n (%)	Чувствительны к клопидогрелу (n=111)	Резистентны к клопидогрелу (n = 10)	p	ОШ	95% ДИ
Тромболитическая терапия	10 (9,0)	0	0,0064	20,869	1,197–363,89
Блокаторы кальциевых каналов	68 (61,3)	8 (80,0)	0,0053	0,391	0,208–0,737
Бета-адреноблокаторы	71 (64,0)	7 (70,0)	0,4521	0,762	0,422–1,376
ИПП	109 (98,2)	10 (100,0)	0,4773	0,196	0,009–4,138
Ингибиторы АПФ	103 (92,8)	10 (100,0)	0,0210	0,062	0,003–1,102
Статины	100 (90,1)	10 (100,0)	0,0035	0,042	0,002–0,743
Сахароснижающие препараты	23 (20,7)	2 (20,0)	0,8610	1,063	0,535–2,113

Примечание: ОШ – отношение шансов; ДИ – доверительный интервал; n – количество субъектов; ИПП – ингибиторы протонной помпы; ингибиторы АПФ – ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента

*CYP2C19\*3* ( $p=0,001$ ) [12]. Другие исследователи показали, что частота “медленной” аллели *CYP2C19\*2* (*\*1/\*2*) в русской популяции Восточной Сибири составила 22,5%, при этом носителей гомозиготного генотипа (*\*2/\*2*) не выявлено, что, возможно, связано с малым объемом выборки [23].

Антитромботическая активность клопидогрела зависит от генетических (носительство полиморфизма генов системы цитохрома P-450 и гликопротеина P) и негенетических факторов (демографические, курение, диета, применение других лекарственных препаратов) [24]. Тромболитическая терапия в первые часы госпитализации, которую получали 10 (8,3%) больных ИИ, достоверно усиливала антитромбоцитарную активность клопидогрела. Сходные данные получили М.Э. Гафарава и соавт. [25]. В другом отечественном исследовании установлена связь между исходами тромболитической терапии у больных ИИ и функциональными характеристиками тромбоцитов [26].

В нашем исследовании 80% больных ИИ с лабораторной резистентностью к клопидогрелу получали блокаторы кальциевых каналов ( $p=0,0053$ ). Негативное влияние препаратов этой группы на снижение ОРТ было ранее выявлено в 6-месячном проспективном исследовании эффективности клопидогрела у 200 пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС), перенесших чрескожное коронарное вмешательство (ЧКВ). Это исследование продемонстрировало снижение степени ингибирования тромбоцитов клопидогрелом у 40% пациентов, принимавших блокаторы кальциевых каналов ( $p=0,008$ ), в результате конкурентного влияния на изофермент *CYP3A4*. Прием блокаторов кальциевых каналов оставался независимым предиктором снижения эффективности клопидогрела после внесения поправки на наличие сердечно-сосудистых факторов риска. У пациентов, получавших эти препараты, АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов была на 30% выше, чем у больных, которым не назначали блокаторы кальциевых каналов ( $p=0,046$ ). Кроме того, прием блокаторов кальциевых каналов ассоциировался с неблагоприятным клиническим исходом (смертью от сердечно-сосудистых причин, нефатальным инфарктом миокарда, тромбозом стента) [27]. В нашем исследовании все больные ИИ с лабораторной резистентностью к клопидогрелу получали ингибиторы АПФ ( $p=0,021$ ). D. Skowasch и др. в клиническом исследовании у 320 больных ИБС и/или артериальной гипертензией, показали, что агрегация тромбоцитов снижалась при лечении каптоприлом на 46% ( $p<0,05$ ). Кроме того, наблюдалась тенденция к ингибированию функции тромбоцитов при применении рамиприла, в то время как эналаприл не оказывал влияния на тромбоциты [28]. Однако в 10-летнем ретроспективном исследовании (2003-2013 гг.), в котором изучалось влияние ингибиторов АПФ на эффективность клопидогрела после инфаркта миокарда почти у 46 000 пациентов, не были подтверждены клиническое значение данного лекарственного взаимодействия и влияние ингибиторов АПФ

на функцию тромбоцитов [29]. Другие авторы указывают на повышенный риск геморрагических осложнений при совместном применении клопидогрела и ингибиторов АПФ, так как большая часть клопидогрела, как и большинства ингибиторов АПФ, гидролизуеться до неактивного метаболита печеночной карбоксилэстеразой 1 (CES1). Вследствие конкуренции за CES1 образуется большое количество активного метаболита клопидогрела. У 70 934 пациентов с инфарктом миокарда, получавших лечение ингибиторами АПФ совместно с клопидогрелом или без него, было выявлено статистически значимое увеличение риска развития кровотечений на фоне одновременного приема клопидогрела [30].

Применение гиполипидемических препаратов совместно с клопидогрелом сопровождалось снижением чувствительности тромбоцитов к клопидогрелу: частота применения статинов в группах пациентов с резистентностью и чувствительностью к клопидогрелу составила 100% и 90,1%, соответственно ( $p=0,0035$ ). Некоторые исследования показали, что липофильные статины (аторвастатин, ловастатин и симвастатин) могут конкурентно ингибировать *CYP3A4* и уменьшать образование активного метаболита клопидогрела, снижая тем самым антитромботическую активность клопидогрела [31,32]. Напротив, другие исследования не смогли подтвердить эти выводы [27,33].

По данным систематического анализа, в 7 из 10 исследований, в которых изучались фармакокинетика и фармакодинамика клопидогрела у здоровых добровольцев, добавление ингибиторов протонной помпы (ИПП) приводило к выраженному снижению ингибирования тромбоцитов [34]. При одновременном применении клопидогрела и ИПП, главным образом, омепразола и эзомепразола, подавляется образование активного метаболита клопидогрела и уменьшается его антитромботическая активность, так как ИПП являются мощными ингибиторами изоферментов *CYP2C19* и *CYP3A4* [35]. Это приводит к увеличению риска тромботических осложнений и сердечно-сосудистых событий [36]. В то же время пантопразол не влиял на антитромботическую активность клопидогрела, что продемонстрировано в исследовании у 13 636 больных. В этом исследовании сочетанная терапия двумя препаратами не сопровождалась повышением риска развития повторного инфаркта миокарда (отношение шансов 1,02, 95% доверительный интервал [ДИ] 0,70–1,47) [37]. Наименьшим влиянием на изоферменты *CYP2C19* обладают пантопразол и рабепразол, что объясняется низкой аффинностью этих препаратов к системе P-450 [38,39].

Учитывая особенности распространения значимых полиморфных маркеров P-450 (*CYP2C19\*2*, *CYP2C19\*3*, *CYP2C19\*17* и *ABCB1*) в различных географических зонах с исторически сложившимися особенностями формирования населения, уровня здоровья популяции, распространения факторов риска инсульта, персонализированный подход к профилактике и лечению сердечно-сосудистых заболеваний, в том числе ИИ, имеет

важное значение. В настоящее время опубликованы рекомендации Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) и Dutch Pharmacogenetics Working Group (DPWG) по применению фармакогенетического тестирования по гену *CYP2C19* для персонализированного назначения клопидогрела. В отношении тестирования гена *ABCB1* таких клинических рекомендаций пока нет [40]. Крайне важным в персонализированном подходе был и остается учет межлекарственного взаимодействия, характеризующегося антагонизмом или синергизмом лекарственных средств, которые приводят к снижению эффективности терапии или увеличению частоты нежелательных побочных реакций [21]. Таким образом, антиагрегантная терапия, в том числе клопидогрелом, у больных ИИ требует тщательной оценки всех генетических и негенетических факторов риска [8].

Хотя наше исследование имело ограниченный размер выборки, его результаты могут представлять интерес для практической медицины. Необходимы дальнейшие исследования для подробного изучения факторов, влияющих на эффективность клопидогрела.

**Конфликт интересов:** нет.

- Ma Q, Lu AYH. Pharmacogenetics, pharmacogenomics, and individualized medicine *Pharmacological Rev* 2011;63(2):437–59.
- Roden DM, Wilke RA, Kroemer HK, Stein CM. Pharmacogenomics: The genetics of variable drug responses. *Circulation* 2011;123(15):1661–70.
- Preissner SC, Hoffmann MF, Preissner R, et al. Polymorphic cytochrome P450 enzymes (CYPs) and their role in personalized therapy. *PLoS One* 2013;8(12):e82562.
- Кляритская И.Л., Работягова Ю.С. Полиморфизм гена *CYP2C19* и клиническое значение его определения. *Крымский терапевтический журнал* 2013;1:19–25. [Klyaritskaya IL, Rabotyagova YuS. *CYP2C19* gene polymorphism and clinical significance of its determination. *Krymskij terapevticheskij zhurnal* 2013;1:19–25 (In Russ.)].
- Danielson PB. The cytochrome P450 superfamily: biochemistry, evolution and drug metabolism in humans. *Curr Drug Metab* 2002;3(6):561–97.
- Blume H, Donath F, Warnke A, Schug BS. Pharmacokinetic drug interaction profiles of proton pump inhibitors. *Drug Saf* 2006;29(9):769–84.
- Gerson LB, Triadafilopoulos G. Proton pump inhibitors and their drug interactions: an evidence-based approach. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001;13:611–6.
- Hankey G. Antiplatelet therapy for the prevention of recurrent stroke and other serious vascular events: a review of the clinical trial data and guidelines. *Curr Med Res* 2007;23(6):1453–62.
- Ma TKW, Lam Y-Y, Tan VP, Yan BP. Variability in response to clopidogrel: how important are pharmacogenetics and drug interactions? *Br J Clin Pharmacol* 2011;72(4):697–706.
- Shirasaka Y, Chaudhry AS, McDonald M, et al. Interindividual variability of *CYP2C19*-catalyzed drug metabolism due to differences in gene diplotypes and cytochrome P450 oxidoreductase content. *Pharmacogenom J* 2016;16:375–87.
- Hirasaka M. Genetic polymorphisms and in vitro functional characterization of *CYP2C8*, *CYP2C9*, and *CYP2C19* allelic variants. *Biol Pharm Bull* 2016;39(11):1748–59.
- Мирзаев К.Б., Зеленская Е.М., Барбараш О.Л. и др. Частота носительства клинически значимых аллелей гена *CYP2C19* у пациентов с острым коронарным синдромом из Центральной, Восточной, Северной Сибири и Московского региона. *Креативная кардиология* 2017;11(1):8–19. [Mirzaev KB, Zelenskaya EM, Barbarash OL, et al. The frequency of the *CYP2C19* allelic variants in patients with acute coronary syndrome in Central, Eastern, Northern Siberia and Moscow region. *Kreativnaya kardiologiya* 2017;11(1):8–19 (In Russ.)].
- Makeeva O, Stepanov V, Puzryev V, et al. Global pharmacogenetics: genetic substructure of Eurasian populations and its effect on variants of drug-metabolizing enzymes. *Pharmacogenomics* 2008;9(7):847–68.
- Шмидт Е.В. Классификация сосудистых поражений головного и спинного мозга. *Журнал невропатологии и психиатрии* 1985;85(9):1281–8. [Shmidt EV. Classification of vascular lesions of the brain and spinal cord. *Zhurnal nevropatologii i psikiatrii* 1985;85(9):1281–8 (In Russ.)].
- Китаева Е.Ю., Шпрах В.В., Мирзаев К.Б. и др. Частота полиморфизмов генов *CYP2C19* и *ABCB1*, ассоциированных с изменением антиагрегантного действия клопидогрела, у русских и бурят. *Сибирское медицинское обозрение* 2018;3:43–50. [Kitaeva EYU, Shprah VV, Mirzaev KB, et al. The frequency of *CYP2C19* and *ABCB1* polymorphisms associated with changes in the antiplatelet action of clopidogrel in Russians and Buryats. *Sibirskoe meditsinskoe obozrenie* 2018;3:43–50 (In Russ.)].
- Хитринская И.Ю., Харьков В.Н., Воевода М.И., Степанова В.А. Генетическое разнообразие и взаимоотношения популяций Северной Евразии по полиморфным inserциям ALU-элемента. *Молекулярная биология* 2014;48(1):58–68. [Khitrinskaya IYu, Khar'kov VN, Voevoda MI, Stepanova VA. Genetic diversity and relationships of Northern Eurasia populations for polymorphic ALU-insertions. *Molekulyarnaya biologiya* 2014;48(1):58–68 (In Russ.)].
- De Morais S, Wilkinson G, Blaisdell J, et al. The major genetic defect responsible for the polymorphism of S-mephenytoin metabolism in humans. *J Biol Chem* 1994;269(22):15419–22.
- Fricke-Galindo I, Cspedes-Garro C, Rodrigues-Soares F, et al. Interethnic variation of *CYP2C19* alleles, 'predicted' phenotypes and 'measured' metabolic phenotypes across world populations. *Pharmacogenom J* 2016;16(2):113–23.
- Шуев Г.Н., Сычев Д.А., Сулейманов С.Ш. и др. Сравнение частоты полиморфизмов генов *CYP2C9*, *CYP2C19*, *CYP2D6*, *ABCB1*, *SLCO1B1* в этнических группах нанайцев и русских. *Фармакогенетика и фармакогеномика* 2016;2:12–8. [Shuev GN, Sychev DA, Suleymanov SS, et al. Comparison of *CYP2C9*, *CYP2C19*, *CYP2D6*, *ABCB1*, *SLCO1B1* gene polymorphism frequency in Russian and Nanai populations Comparison of *CYP 2C9*, *CYP2C19*, *CYP2D6*, *ABCB1*, *SLCO1B1* gene polymorphism frequency in Russian and Nanai populations. *Farmakogenetika i farmakogenomika* 2016;2:12–8 (In Russ.)].
- Рыжикова К.А., Мирзаев К.Б., Маммаев С.Н. и др. Распространенность полиморфизмов генов системы цитохрома P-450 и генов белков-транспортеров среди популяции русских и трех этнических групп Республики Дагестан. *Кремлевская медицина* 2017;1:32–38. [Ryzhikova KA, Mirzaev KB, Mammaev SN, et al. The prevalence of polymorphisms of cytochrome P-450 gene and transport protein genes among populations in Russia and three ethnic groups in the Republic of Dagestan. *Kremlevskaya meditsina* 2017;1:32–38 (In Russ.)].
- Кукес В.Г., Сычев Д.А. (ред.). *Клиническая фармакология*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2015:225–51. [Kukes VG, Sychev DA (eds). *Clinical pharmacology*. Moscow: GEOTAR – Media; 2015:225–51 (In Russ.)].
- Ameyaw MM, Regateiro F, Li T, et al. MDR1 pharmacogenetics: frequency of the C3435T mutation in exon 26 is significantly influenced by ethnicity. *Pharmacogenetics* 2001;11(3):217–21.
- Байрова Т.А., Чурбанова С.А., Колесников С.И., Калюжная О.В. Распространенность полиморфного локуса 681G>A гена *CYP2C19* в русской популяции. *Бюллетень ВШЦ СО РАМН* 2014;6(100):105–7. [Bairova TA, Churbanova SA, Kolesnikov SI, Kalyuzhnaya OV. Prevalence of the polymorphic locus 681G>A of the *CYP2C19* gene in the Russian population. *Bulletin of the East Siberian Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences* 2014;6(100):105–107 (In Russ.)].
- Frelinger AL, Bhatt DL, Lee RD, et al. Clopidogrel pharmacokinetics and pharmacodynamics vary widely despite exclusion or control of polymorphisms (*CYP2C19*, *ABCB1*, *PON1*), noncompliance, diet, smoking, co-medications (including proton pump inhibitors), and pre-existent variability in platelet function. *J Am Coll Cardiol* 2013;61:872–9.
- Гафарова М.Э., Домашенко М.А., Коробкова Д.З. и др. Гемореология и гемостаз при тромболитической терапии ишемического инсульта. *Анналы неврологии* 2015;9(1):4–11. [Gafarova ME, Domashenko MA, Korobkova DZ, et al. Hemorheology and hemostasis in thrombolytic therapy of ischemic stroke. *Annaly neurologii* 2015;9(1):4–11 (In Russ.)].
- Anisimova AV, Kolesnikova TI, Yutskova EV, et al. Features of platelet hemostasis in patients with ischemic stroke after systemic thrombolytic therapy. *Neuroscience Behav Physiol* 2017;47(7):833–5.
- Siller-Matula JM, Lang I, Christ G, Jilma B. Calcium-channel blockers reduce the antiplatelet effect of clopidogrel. *J Amer Coll Cardiol* 2008;52(19):1557–63.
- Skowasch D, Viktor A, Schneider-Schmitt M, et al. Differential antiplatelet effects of angiotensin converting enzyme inhibitors. *Clin Res Cardiol* 2006;95(4):212–6.
- Cressman AM, Macdonald EM, Fernandes K, Gomes T. A Population-based study of the drug interaction between clopidogrel and angiotensin converting enzyme inhibitors. *Br J Clin Pharmacol* 2015;80(4):662–9.
- Kristensen KE, Zhu HJ, Wang X, et al. Clopidogrel bioactivation and risk of bleeding in patients cotreated with angiotensin-converting enzyme inhibitors after myocardial infarction: a proof-of-concept study. *Clin Pharmacol Ther* 2014;96(6):713–22.
- Neubauer H, Gunesdogan B, Hanefeld C, et al. Lipophilic statins interfere with the inhibitory effects of clopidogrel on platelet function – a flow cytometry study. *Eur Heart J* 2003;24(19):1744–9.
- Suh JW, Koo BK, Zhang SY, et al. Increased risk of atherothrombotic events associated with cytochrome P450 3A5 polymorphism in patients taking clopidogrel. *CMAJ* 2006;174(12):1715–22.
- Saw J, Brennan DM, Steinhilber SR, et al. Lack of evidence of a clopidogrel–statin interaction in the CHARISMA trial. *J Amer Coll Cardiol* 2007;50(4):291–5.
- Focks JJ, Brouwer MA, van Oijen MG, et al. Concomitant use of clopidogrel and proton pump inhibitors: impact on platelet function and clinical outcome – a systematic review. *Heart* 2013;99(8):520–7.
- Kazui M, Nishiyama Y, Ishizuka T, et al. Identification of the human cytochrome P450 enzymes involved in the two oxidative steps in the bioactivation of clopidogrel to its pharmacologically active metabolite. *Drug Metab Dispos* 2010;38:92–9.
- Dunn SP, Macaulay TE, Brennan DM, et al. Baseline proton pump inhibitor use is associated with increased cardiovascular events with and without the use of clopidogrel in the CREDO trial. *Circulation* 2008;118:S815.
- Juurlink DN, Gomes T, Ko DT, et al. A population-based study of the drug interaction between proton pump inhibitors and clopidogrel. *CMAJ* 2009;180:713–8.
- Bouziana SD, Tziomalos K. Clinical relevance of clopidogrel–proton pump inhibitors interaction. *World J Gastrointest Pharmacol Ther* 2015;6(2):17–21.
- Simon T, Danchin N. Clinical Impact of pharmacogenomics of clopidogrel in stroke. *Circulation* 2017;135:34–7.
- PharmGKB Gene: *CYP2C19*. Accessed March 15, 2019. <https://www.pharmgkb.org/gene/PA124/guideline>.

### Polymorphism of *CYP2C19* and *ABCB1* genes associated with changes in the activity of clopidogrel in patients with ischemic stroke: clinical and ethnic aspects

D.A. Sychev<sup>1</sup>, V.V. Shprakh<sup>2</sup>, E.Yu. Kitaeva<sup>2</sup>, K.B. Mirzaev<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, <sup>2</sup>Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education, Irkutsk

**Aim.** To compare the frequency of polymorphisms *CYP2C19* and *ABCB1* in patients with ischemic stroke and healthy volunteers and to evaluate the effect of concomitant drug therapy on the activity of clopidogrel in patients with ischemic stroke.

**Material and methods.** One hundred twenty one patients with ischemic stroke and 250 healthy volunteers were genotyped by *CYP2C19* and *ABCB1* using the real-time polymerase chain reaction. We also studied the changes in the antiplatelet activity of clopidogrel depending on concomitant therapy in patients with ischemic stroke.

**Results.** In patients with ischemic stroke, the distribution of all studied genotypes was consistent with Hardy-Weinberg law: *CYP2C19\*2* ( $\chi^2=0,0001$ ,  $p=0,99$ ), *CYP2C19\*3* ( $\chi^2=0,03$ ,  $p=0,85$ ), *CYP2C19\*17* ( $\chi^2=0,96$ ,  $p=0,33$ ), *ABCB1* ( $\chi^2=1,81$ ,  $p=0,18$ ). In healthy volunteers, the distribution of genotypes was consistent with Hardy-Weinberg law for *CYP2C19\*2* (Russian:  $\chi^2=0,025$ ,  $p=0,87$ ; Buryat:  $\chi^2=1,90$ ,  $p=0,17$ ), *CYP2C19\*17* (Russian:  $\chi^2=0,28$ ,  $p=0,60$ ; Buryats:  $\chi^2=0,86$ ,  $p=0,35$ ), *ABCB1* (Russian:  $\chi^2=3,58$ ,  $p=0,06$ ; Buryat:  $\chi^2=2,51$ ,  $p=0,11$ ). *CYP2C19\*3* was not identified in the Russian volun-

teers. There were statistically significant differences in the frequency of alleles and genotypes of *CYP2C19\*17* and *ABCB1* between patients with stroke and healthy volunteers: the polymorphic markers of *CYP2C19\*17* (CT+ TT) and *ABCB1* (CT+ TT) were more common in patients with stroke: 43,0% vs. 30,0% ( $p=0,015$ ), and 82,0% vs. 72,4% ( $p=0,054$ ), respectively.

**Conclusion.** We showed statistically significant differences in the frequency of *CYP2C19\*3* and *CYP2C19\*17* between Russians and Buryats of Angara region (healthy volunteers). In patients with ischemic stroke, *CYP2C19\*17* (CT+ TT) and *ABCB1* (CT+ TT) were more common than in healthy volunteers. A statistically significant decrease in the activity of clopidogrel was found in patients who were treated with thrombolytics within the first hours after admission, calcium channel blockers, ACE inhibitors, and statins.

**Keywords.** Ischemic stroke, *CYP2C19* gene, *ABCB1* gene, clopidogrel, calcium channel blockers, thrombolytic therapy, proton pump inhibitors, statins, beta-blockers, angiotensin-converting enzyme inhibitors.

**Conflict of interest:** none declared.

**Correspondence to:** E.Yu. Kitaeva. Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education. 664049 Irkutsk, Yubileyniy, 100. kitaevaey@mail.ru

**To cite:** Sychev DA, Shprakh VV, Kitaeva EYu, Mirzaev KB. Polymorphism of *CYP2C19* and *ABCB1* genes associated with changes in the activity of clopidogrel in patients with ischemic stroke: clinical and ethnic aspects. *Klinicheskaya farmakologiya i terapiya* = *Clin Pharmacol Ther* 2019;28(3):79-84. DOI 10.32756/0869-5490-2019-3-79-84.