



## ФАРМАКОГЕНЕТИКА

**Распространенность полиморфного маркера *rs2244613* гена карбоксилэстеразы 1 типа (CES1), ассоциированного с низким риском кровотечений при применении дабигатрана, у русских и в трех этнических группах Республики Дагестан****Ш.П. Абдуллаев<sup>1,2</sup>, К.Б. Мирзаев, С.Н. Маммаев, Д.М. Гафуров,  
Е.Ю. Китаева<sup>5</sup>, В.В. Шпрах<sup>3</sup>, К.А. Рыжикова<sup>4</sup>, Г.Н. Шувев,  
Е.А. Гришина<sup>1</sup>, Ж.А. Созаева<sup>4</sup>, Д.А. Сычев**<sup>1</sup> ФГБОУ ДПО "Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования" Минздрава России,<sup>2</sup> Факультет фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова,<sup>3</sup> ФГБОУ ВО "Дагестанский государственный медицинский университет" Минздрава России, Махачкала,<sup>4</sup> ГБУ РД "Лакская центральная районная больница", с. Кумух, Республика Дагестан,<sup>5</sup> Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования - филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России

**Цель.** Сопоставить частоту носительства полиморфного маркера гена CES1 (*rs2244613*) у представителей трех этнических групп республики Дагестан (аварцы, даргинцы, лакцы) и русских.

**Материал и методы.** В исследовании приняли участие 136 здоровых добровольцев из русской этнической группы и 186 представителей трех этнических групп Республики Дагестан: 90 аварцев, 50 даргинцев и 46 лакцев. Полиморфизм *rs2244613* определяли с помощью полиморфной цепной реакции в режиме реального времени.

**Результаты.** Среди русских генотип AA по *rs224613* встречался у 70 (51,5%) добровольцев, AC — у 55 (40,4%), CC — у 11 (8,1%), среди аварцев — у 34 (37,8%), 43 (47,8%) и 13 (14,4%), соответственно, среди даргинцев — у 18 (36,0%), 24 (48,0%) и 8 (16,0%), среди лакцев — у 24 (52,1%), 17 (37,0%) и 5 (10,9%). Частота минорного аллеля C у даргинцев (40,0%) и аварцев (38,3%), но не лакцев (29,3%) была достоверно выше, чем у русских (28,3%;  $p < 0,05$ ). Во всех четырех группах частота аллеля C была выше, чем у европейцев, принимавших участие в исследовании RE-LY (18,1%,  $p < 0,05$ ). У даргинцев и аварцев она была выше, чем у итальянцев, включенных в исследование C. Dimatteo и соавт. (22,3%,  $p < 0,05$ ).

**Заключение.** Полученные результаты могут быть полезными для разработки подходов к оптимизации режимов фармакотерапии дабигатраном с целью снижения риска геморрагических осложнений.

**Ключевые слова.** CES1, этнические группы, фармакогенетика, русские, аварцы, даргинцы, лакцы.

**Клин. фармакол. тер., 2018, 27 (4), 87-90.**

До недавнего времени для лечения и профилактики тромбоза глубоких вен и поверхностных вен и тромбоэмболии легочных артерий, а также для профилактики ишемического инсульта и системных тромбоэмболий при фибрилляции предсердий чаще всего применяли антагонисты витамина K, в том числе варфарин и аценокумарол, которые характеризуются узким терапевтическим диапазоном, необходимостью регулярного контроля международного нормализованного отношения (в пределах 2-3), большим числом межлекарственных взаимодействий, медленным развитием эффекта и вариабельностью индивидуального ответа на лечение [1,2]. Все эти ограничения отражаются на приверженности к лечению и способствуют увеличению риска развития нежелательных лекарственных реакций, в том числе геморрагических осложнений [1,3].

Поиски альтернативы антагонистам витамина К привели к созданию новых пероральных антикоагулянтов – селективных ингибиторов отдельных факторов системы свертывания. Тромбин – главный фермент коагуляционного каскада свертывания крови. Любое тромботическое осложнение в конечном итоге связано с образованием избыточного количества тромбина или повышенной его активностью [4]. Именно поэтому тромбин стал первой мишенью в борьбе с тромботическими осложнениями.

Дабигатран – прямой конкурентный ингибитор тромбина (фактора II), который взаимодействует как со свободным тромбином, так и с тромбином, связанным с тромбом. Максимальная концентрация дабигатрана достигается в плазме через 1-3 ч после перорального приема. Дабигатран этексилат (ДЭ) является пролекарством с суммарной биодоступностью приблизительно 6,5% [5,6]. После всасывания ДЭ под действием преимущественно карбоксилэстеразы 1 (CES1) печени и, в меньшей степени, карбоксилэстеразы 2 (CES2) кишечника превращается в активный метаболит – собственно дабигатран [7,8,9]. Однако более предсказуемый профиль фармакокинетики по сравнению с таковым варфарина не решает проблему межличностной вариабельности концентрации дабигатрана [10,11]. Этот факт в конечном итоге влияет на эффективность и безопасность препарата.

Когда появилась возможность рутинного анализа ДНК, были обнаружены варианты гена CES1, которые могут иметь большое клиническое значение. Так, в исследовании RE-LY было проведено генотипирование по полиморфным маркерам CES1 и определение концентрации дабигатрана у 1490 пациентов с фибрилляцией предсердий и факторами риска развития тромбоэмболических осложнений [10]. Носительство полиморфизма *rs2244613* гена CES1 (*c.1168-33A>C*) встречалось у 32,8% пациентов (29,4% – гетерозиготы и 3,4% – гомозиготы по С аллелю). Было показано, что носительство полиморфизма *rs2244613* статистически достоверно связано с более низкими концентрациями дабигатрана: у гетерозигот (АС) значение равновесной концентрации снижалось на 15%, у гомозигот (СС) – на 28% по сравнению с таковой у носителей. Также было доказано статистически значимое снижение частоты кровотечений у носителей *rs2244613* ( $p=0,0032$ ), принимавших ДЭ, по сравнению с пациентами, принимавшими варфарин, в то время как при отсутствии носительства минорного аллеля С риск кровотечений при лечении двумя препаратами не отличался ( $p=0,65$ ). Носительство другого маркера гена CES1 – *rs8192935* – было ассоциировано с уменьшением пиковой концентрации активного метаболита дабигатрана ( $p=3,2 \cdot 10^{-8}$ ), но не влияло на риск развития кровотечений [10].

Сходные данные были получены в исследовании С. Dimatteo и соавт. [11], однако авторы отметили, что полиморфизмы *rs2244613* и *rs8192935* гена CES1 ассоциированы только с уменьшением остаточной равновесной концентрации, но не пиковой. С другой

стороны, в работе J. Shi и соавт. [8] значимых ассоциаций между вариантами полиморфизма *rs2244613* и *rs8192935* и изменением экспрессии CES1 и скорости метаболизма ДЭ, а, следовательно, изменением фармакодинамики и фармакокинетики препарата обнаружено не было.

Большая часть фармакогенетических исследований в целом и исследования полиморфизма гена CES1 проводилось на европеоидах, проживающих в странах Западной Европы и Северной Америки, что не позволяет экстраполировать полученные результаты на представителей других этносов. Для такой многонациональной страны, как Российская Федерация, изучение распространенности полиморфных маркеров особенно актуально.

Отдельно можно выделить республику Дагестан, где несмотря на широкое этническое разнообразие и малую территорию, сохраняется высокая степень генетической изоляции каждой группы [12].

Целью исследования было изучить частоту полиморфного маркера гена CES1 (*rs2244613*) в популяции русских и среди представителей трех этнических групп Республики Дагестан (аварцы, даргинцы, лакцы) и сравнить ее с таковой в предыдущих исследованиях у европеоидов.

#### Материал и методы

**Исследуемая популяция.** В исследовании приняли участие 136 здоровых добровольцев (26 мужчин и 110 женщин) из русской этнической группы (г. Иркутск) и 186 здоровых представителей трех этнических групп Республики Дагестан: 90 аварцев (28 мужчин и 62 женщины), 50 даргинцев (10 мужчин и 40 женщин) и 46 лакцев (15 мужчин и 31 женщина). Все добровольцы дали информированное согласие на участие в исследовании и хранение генетического материала.

Этническую принадлежность определяли сами добровольцы и их родители. Как показано в ранее проведенных исследованиях, отмечается высокая корреляция между примененным методом самоидентификации и определением микросателлитных маркеров этнической принадлежности [13]. В исследование не включали потомков разноэтнических браков.

**Генотипирование.** Материалом для определения полиморфизма послужили 4 мл крови из вены локтевого сгиба, взятой с помощью вакуумной системы VACUETTE (Greiner Bio-One, Австрия) в пробирки с ЭДТА. Выделение геномной ДНК осуществляли с помощью набора реагентов “ДНК-Экстран-1” из цельной крови (ЗАО “Синтол”, Москва, Россия). Носительство полиморфного маркера гена CES1 (*rs2244613*) определяли с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени (Real-Time PCR) с помощью реагентов “ГенТест CES1” (ООО “Номотек”, Москва, Россия) на амплификаторе Real-Time CFX96 Touch (Bio-Rad Laboratories, Inc., USA). Программа амплификации включала предварительную инкубацию при 95°C в течение 3 мин, затем на протяжении 50 циклов денатурацию при 95°C в течение 10 с и отжиг при 60°C в течение 30 с.

**Популяция сравнения.** Распространенность аллельного варианта гена CES1 (*rs2244613*) среди русской этнической группы и трех этнических групп Республики Дагестан сравнивали с аналогичными показателями, полученными из литературных данных. Мы выбрали две группы сравне-

## ФАРМАКОГЕНЕТИКА

**ТАБЛИЦА 1. Частота полиморфного маркера *rs2244613* у русских и представителей трех этнических групп республики Дагестан (аварцы, даргинцы, лакцы) и результаты проверки изучаемых групп на соответствие распределению частот генотипов по закону Харди–Вайнберга**

Этническая группа	N	Генотип, n (%)			Аллель С, %	Соответствие закону Харди–Вайнберга		Сравнение с RE-LY (европеиды) [1]		Сравнение с итальянцами [2]	
		AA	AC	CC		$\chi^2$	p	p	ОШ (95% ДИ)	p	ОШ (95% ДИ)
Русские	136	70 (51,5)	55 (40,4)	11 (8,1%)	28,3	0,0018	0,999	<0,0001	1,784 (1,349–2,360)	0,1580	1,377 (0,890–2,130)
ожид. частота, %		69,9	55,2	10,9							
Аварцы	90	34 (37,8)	43 (47,8)	13 (14,4%)	38,3	0,008	0,996	<0,0001	2,809 (2,051–3,848)	0,0009	2,168 (1,370–3,432)
ожид. частота, %		34,2	42,6	13,2							
Даргинцы	50	18 (36,0)	24 (48,0)	8 (16%)	40,0	<0,0001	1,000	<0,0001	3,012 (1,997–4,543)	0,0024	2,325 (1,369–3,950)
ожид. частота, %		18,0	24,0	8,0							
Лакцы	46	24 (52,1)	17 (37,0)	5 (10,9%)	29,3	0,504	0,777	0,0094	1,877 (1,187–2,969)	0,2359	1,449 (0,821–2,556)
ожид. частота, %		23,0	19,0	4,0							

Примечание: приведены наблюдаемая и ожидаемая частота генотипов,  $\chi^2$  – значение хи-квадрата Пирсона, ОШ – отношение шансов, ДИ – доверительный интервал

ния: популяция европеоидов, принимавших участие в исследовании RE-LY [10] (группа сравнения 1), и популяция европеоидов (итальянцы), принимавших участие в исследовании С. Dimatteo и соавт. [11] (группа сравнения 2).

**Статистический анализ.** Оценивали соответствие независимому распределению аллелей по закону Харди–Вайнберга с использованием критерия хи-квадрат Пирсона. Для оценки различий частоты различных аллелей между группами сравнения и изучаемыми группами использовали точный тест Фишера. Статистические данные обрабатывали в программе INSTAT. Для всех показателей статистически значимым считали значение  $p < 0,05$ .

## Результаты

Среди русских генотип AA по *rs224613* встречался у 70 (51,5%) добровольцев, AC – у 55 (40,4%), CC – у 11 (8,1%), среди аварцев – у 34 (37,8%), 43 (47,8%) и 13 (14,4%), соответственно, среди даргинцев – у 18 (36,0%), 24 (48,0%) и 8 (16,0%), среди лакцев – у 24 (52,1%), 17 (37,0%) и 5 (10,9%). Во всех изучаемых этнических группах отмечено соответствие частоты генотипов равновесному распределению согласно закону Харди–Вайнберга (табл. 1).

Частота аллеля С у даргинцев (40,0%) и аварцев (38,3%), но не лакцев (29,3%) была достоверно выше, чем у русских (28,3%,  $p < 0,05$ ), в то время как между представителями трех этнических групп республики Дагестан она не отличалась (табл. 2). Во всех четырех группах частота аллеля С была выше, чем у европеоидов, принимавших участие в исследовании RE-LY (18,1%,  $p < 0,05$ ). У даргинцев и аварцев она была выше, чем у итальянцев, включенных в исследование С. Dimatteo и соавт. (22,3%,  $p < 0,05$ ).

## Обсуждение

Как было отмечено ранее, ДЭ является пролекарством, которое гидролизуется в два этапа с образованием активного метаболита. Карбамидная связь гидролизуется CES2 кишечника, а этиловая связь промежуточного продукта – уже печеночной CES1 [8,14]. Однако, J. Shi и соавт. [8] недавно показали, что как ДЭ, так и его промежуточные метаболиты подвергаются гидролизу преимущественно под действием CES1. ДЭ практически полностью превращается в активный метаболит до попадания в системный кровоток. Полиморфизм гена CES1 потенциально может снизить скорость метаболизма ДЭ в кишечнике и печени и тем самым концентрацию активного дабигатрана, что может привести к снижению риска кровотечения.

G. Page и соавт. [10] выявили две интронные последовательности в гене CES1 – *rs2244613* и *rs8192935*, которые были связаны с более низкими концентрациями дабигатрана и меньшим риском кровотечения ( $p = 0,00007$  для носителей *rs2244613*). I. Gouin-Thibault и соавт. [15] также показали, что у гетерозиготных (AC) и гомозиготных (CC) носителей *rs2244613* гена CES1 значения AUC дабигатрана были на 14% и 26%, соответственно, ниже, а значения  $C_{max}$  – на 13% и 43% ниже, чем у носителей *rs2244613* дикого типа (AA).

Исследования в различных этнических группах демонстрируют выраженные межрасовые и межэтнические различия в чувствительности к лекарственным средствам, которые могут отразиться на выборе стратегии фармакотерапии и персонализации режимов дозирования препаратов [16]. Частота полиморфизма гена CES1 *rs2244613* за пределами стран Западной Европы и

**ТАБЛИЦА 2. Сравнение частоты носительства аллеля С в изучаемых группах**

Этническая группа	Русские	Аварцы	Даргинцы
Аварцы	$p = 0,0309$ ; ОШ = 1,534 95% ДИ 1,055–2,348	-	-
Даргинцы	$p = 0,0332$ ; ОШ = 1,688 95% ДИ 1,045–2,727	$p = 0,7992$ ; ОШ = 1,072 95% ДИ 0,6502–1,769	-
Лакцы	$p = 0,8940$ ; ОШ = 1,052 95% ДИ 0,625–1,771	$p = 0,1798$ ; ОШ = 0,668 95% ДИ 0,389–1,147	$p = 0,1322$ ; ОШ = 0,6231 95% ДИ 0,342–1,137

Северной Америки мало изучена. Частота носительства аллеля *C rs2244613* CES1 составляет примерно 33% в общей популяции, но повышается до 60% у азиатов [17]. Эти данные иллюстрируют генетическую неоднородность пациентов, которым может быть назначен дабигатран.

В нашем исследовании распространенность минорного аллеля *C* у русских и представителей трех этнических групп Республики Дагестан была в 1,5-2 раза выше, чем у европеоидов, принимавших участие в исследовании RE-LY. При сравнении частоты носительства минорного аллеля по *rs2244613* у обследованных нами добровольцев и итальянцев, включенных в исследование *C. Dimatteo* и соавт., достоверные различия были выявлены только в группах аварцев и даргинцев. Это может объясняться гораздо меньшей выборкой исследования ( $n=92$ ) по сравнению с исследованием RE-LY ( $n=1490$ ).

Учитывая ассоциацию полиморфного маркера *rs2244613* с концентрацией дабигатрана, можно предположить, что у пациентов из числа русских и представителей аварской, даргинской и лакской этнических групп при лечении этим препаратом возможно снижение риска кровотечений. Однако для подтверждения этой гипотезы и персонализации режимов дозирования дабигатрана необходимы дальнейшие крупные популяционные фармакогенетические исследования в разных этнических группах. Такие исследования должны предполагать параллельное измерение концентрации дабигатрана в крови. О важности подобных исследований свидетельствует высокое значение «уровня доказанности» клинической значимости полиморфизма *rs2244613* на ресурсе [www.pharmgkb.org/](http://www.pharmgkb.org/) [18,19].

### Ограничения исследования

В группы сравнения были включены пациенты с фибрилляцией предсердий и факторами риска развития тромбоемболических осложнений, тогда как в нашем исследовании принимали участие здоровые добровольцы.

Работа выполнена при финансовой поддержке ООО «Берингер Ингельхайм».

- Ross S, Pare G. Pharmacogenetics of antiplatelets and anticoagulants: a report on clopidogrel, warfarin and dabigatran. *Pharmacogenomics* 2013;14(13):1565–72.
- Сычев Д.А., Казаков Р.Е., Отделенов В.А. и др. Прикладные аспекты применения фармакогенетического тестирования для персонализации применения пероральных антикоагулянтов в российских условиях. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии* 2013;9(5):525–31.
- Гаврисюк Е.В., Игнатъев И.В., Сычев Д.А. и др. Анализ применения непрямого антикоагулянта варфарина у пациентов с постоянной формой фибрилляции предсердий в поликлинических условиях. *Клин фармакол тер* 2012;1:42–6.
- Weitz JI, Eikelboom JW, Samama MM. American College of Chest Physicians. New antithrombotic drugs: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest* 2012;141(2):e120S–51S.
- Agno W, Eikelboom J, Lip GY. Dabigatran in clinical practice: Contemporary overview of the evidence. *Int J Cardiol* 2016;220:417–28.
- Wienen W, Stassen JM, Priepke H, et al. Effects of the direct thrombin inhibitor dabigatran and its orally active prodrug, dabigatran etexilate, on thrombus formation and bleeding time in rats. *Thromb Haemost* 2007;98(2):333–8.
- Stangier J, Rathgen K, Stähle H, et al. The pharmacokinetics, pharmacodynamics and tolerability of dabigatran etexilate, a new oral direct thrombin inhibitor, in healthy male subjects. *Br J Clin Pharmacol* 2007;64(3):292–303.

- Shi J, Wang X, Nguyen J, et al. Dabigatran etexilate activation is affected by the CES1 genetic polymorphism G143E (*rs71647871*) and gender. *Biochem Pharmacol* 2016;119:76–84.
- Merali Z, Ross S, Pare G. The pharmacogenetics of carboxylesterases: CES1 and CES2 genetic variants and their clinical effect. *Drug Metabol Drug Interact* 2014;29(3):143–51.
- Pare G, Eriksson N, Lehr T, et al. Genetic determinants of dabigatran plasma levels and their relation to bleeding. *Circulation* 2013;127:1404–12.
- Dimatteo C, D'Andrea G, Vecchione G, et al. Pharmacogenetics of dabigatran etexilate interindividual variability. *Thromb Res* 2016;144:1–5.
- 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.
- Tang H, Quertermous T, Rodriguez B, et al. Genetic structure, self-identified race/ethnicity, and confounding in case-control association studies. *Amer J Human Genet* 2005;76(2):268–275.
- Laizure SC, Parker RB, Herring VL, et al. Identification of carboxylesterase-dependent dabigatran etexilate hydrolysis. *Drug Metab Dispos* 2014;42:201–6.
- Gouin-Thibault I, Delavanne X, Blanchard A, et al. Interindividual variability in dabigatran and rivaroxaban exposure: contribution of ABCB1 genetic polymorphisms and interaction with clarithromycin. *J Thrombosis Haemostasis* 2017;15(2):273–83.
- Kalow W. Pharmacogenomics: historical perspective and current status. *Methods Mol Biol* 2005;311:3–15.
- Gu Z-C, Ma X-W, Zheng X-Y, Shen L, et al. Left atrial appendage thrombus formation in a patient on dabigatran therapy associated with ABCB1 and CES-1 genetic defect. *Front Pharmacol* 2018;9:491.
- <https://www.pharmgkb.org/variant/PA166155037/clinicalAnnotation/1183490952>
- Whirl-Carrillo M, McDonagh EM, Hebert JM, et al. Pharmacogenomics knowledge for personalized medicine. *Clin Pharmacol Ther* 2012;92(4):414–7.

### The prevalence of the polymorphic marker *rs2244613* of the CES1 gene associated with a lower risk of bleeding in patients using dabigatran in Russians and in the three ethnic groups of the Republic of Dagestan

Sh.P. Abdullaev, K.B. Mirzayev, S.N. Mammaev, D.M. Gafurov, E.Yu. Kitaeva, V.V. Shprakh, K.A. Ryzhikova, G.N. Shuyev, E.A. Grishina, Zh.A. Sozaeva, D.A. Sychev

**Aim.** To study the prevalence of the polymorphic marker of the gene CES1 (*rs2244613*) in the three ethnic groups of the Republic of Dagestan (Avars, Dargins, Laks) in comparison with Russians.

**Material and methods.** We studied 136 healthy volunteers from the Russian ethnic group and 186 representatives from the three ethnic groups of the Republic of Dagestan, including 90 Avars, 50 Dargins and 46 Laks. PCR in real time was used to determine the gene polymorphism *rs2244613*.

**Results.** Genotypes AA, AC and CC for *rs2244613* were found, respectively, in 70 (51.5%), 55 (40.4%) and 11 (8.1%) Russian volunteers, in 34 (37.8%), 43 (47.8%) and 13 (14.4%) Avars, in 18 (36.0%), 24 (48.0%) and 8 (16.0%) Dargins, in 24 (52.1%), 17 (37.0%) and 5 (10.9%) Laks. Among Dargins (40.0%) and Avars (38.3%), but not Laks (29.3%), the minor C allele was more prevalent than among Russians (28.3%,  $p<0.05$ ). In the studied groups, the frequency of C allele was higher than in Caucasians, who participated in the RE-LY study (18.1%;  $p<0.05$ ). Among Avars and Dargins, C allele was more prevalent than among Italians, who were enrolled in the Dimatteo S. et al study (22,3%,  $p<0.05$ ).

**Conclusion.** The results of the study might be useful for developing approaches to optimize dabigatran pharmacotherapy regimens in order to reduce the risk of hemorrhagic complications.

**Key words.** CES1, ethnic groups, pharmacogenetics, Russians, Avars, Dargins, Laks.

**Clin. Pharmacol. Ther., 2018, 27 (4), 87-90.**