

УДК 612.6.05 + 616 – 056.7

И.А. Сидоренко, Я.Ю. Галаева, С.В. Налетов, Н.В. Коньшева

ФАРМАКОГЕНЕТИКА И ФАРМАКОТЕРАПИЯ: ОБЩИЕ ВОПРОСЫ*Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького*

Резюме. В настоящее время становится очевидным, что для гарантии эффективного и безопасного лечения необходимо включение в клиническую практику и фармакотерапию генетические тестирования. С помощью генетического тестирования можно на начальных этапах лечения исключить пациентов, отличающихся по фармакокинетическим и фармакодинамическим показателям от их средних значений; изучить эффективность и безопасность фармакотерапии у пациентов с генетически детерминированными отличиями от нормы.

Ключевые слова: фармакогенетика, генотипирование, генетические биомаркеры

Первые сообщения в медицинских изданиях о развитии семейных случаев гемолитической анемии при примененииprimaхина появились в 1932 году. Затем в 1952 Takahara опубликовал описание случая семейной ака-талазии. В этом же году Bourne описал случай повышенной чувствительности к суксаметонию. Сообщение о том, что генетическая предрасположенность или недостаток фермента могут стать основой для развития гиповосприимчивости и гипервосприимчивости к лекарствам было опубликовано Motulsky A.G. в 1957 году, а через два года Фридрихом Фогелем (Vogel F.) было введено понятие «фармакогенетика». В 90-х годах прошлого века проведены исследования частот аллелей и генотипов по аллельным вариантам различных генов, ответственных за изменения фармакокинетики и фармакодинамики лекарственных средств (ЛС) в различных этнических группах. В 2000 году Национальный институт здоровья (National Institute of Health, США) объявил о создании исследовательской сети по фармакогеномике (Pharmacogenetics Research Network), начата разработка и внедрение в клиническую практику фармакогенетических тестов для выбора ЛС и их режимов дозирования [2, 10]. Фармакогенетика — это наука, изучающая роль генетических факторов в формировании фармакологического ответа организма человека на ЛС. Фармакогенетика возникла на стыке фармакологии и генетики. Понимание механизмов влияния генетических факторов на эффективность и безопасность фармакотерапии стало возможным лишь с развитием методов молекулярной биологии и реализацией международной программы «Геном че-

ловека». Фармакокинетические (всасывание, транспортировка, метаболизм и выведение лекарств или метаболитов) и фармакодинамические (механизм действия ЛС) процессы, протекающие с участием различных белков организма человека (ферментов, ионных каналов, молекул-переносчиков, рецепторов и т.д.), находятся под генетическим контролем [5, 6, 8]. Различные наследуемые изменения в генах, кодирующих эти белки, могут отражаться на процессах фармакокинетики и (или) фармакодинамики ЛС, в результате чего изменяется и фармакологический ответ. Такие мутации, передаваясь из поколения в поколение, распространяются в популяции (и в этом случае называются полиморфизмами, иногда — полиморфными маркерами). Само же явление, когда в популяции существуют различные аллельные варианты одного и того же гена, носит название генетического полиморфизма [7]. В последние три десятилетия, благодаря разработке метода полимеразной цепной реакции (ПЦР), появилась возможность диагностики полиморфизмов у пациентов. Метод получил название генотипирования. Генотипирование позволяет прогнозировать фармакологический ответ на ЛС, и его применение способствует повышению эффективности и безопасности фармакотерапии, так как пациенты-носители определенных аллелей (и генотипов) нуждаются в коррекции лечения (в изменении дозы, кратности и пути введения, в замене лекарственного средства и т.д.). Успехи генетической диагностики способствовали развитию нового научно-практического направления — персонализированной медицины. Генетически детерминированные изменения фармакологического ответа с клинических позиций можно классифицировать следующим образом:

- приводящие к серьезным реакциям (например, дефицит Г-6-ФДГ) — применение некоторых ЛС противопоказано;
- приводящие к несерьезным лекарственным реакциям (например, носительство аллельных вариантов гена CYP2D6, обуславливающих фенотип медленного метаболитатора), — применение ЛС должно быть в низкой дозе;
- неэффективность или низкая эффективность ЛС (например, дупликация функцио-

нальных аллелей гена CYP2D6, обуславливающих фенотип быстрого метаболизатора), — применение ЛС допустимо в высокой дозе.

Любое лекарство является чужеродным соединением для организма, который мобилизует все возможности для предотвращения поступления, скорейшего обезвреживания и выведения его из организма. Процессы инактивации — это защитные реакции, и они преобладают над теми обменными реакциями, которые способствуют поддержанию или повышению активности лекарства-яда. Гены через соответствующие ферменты осуществляют контроль над реакциями инактивации лекарств, особенно во второй фазе обезвреживания, когда происходят реакции конъюгации или синтеза. Все этапы фармакокинетики ЛС, такие, как всасывание, распределение, биотрансформация (изменение лекарственного средства под воздействием ферментов организма.), выведение, находятся под контролем соответствующих генов, кодирующих ферменты биотрансформации и транспорта ЛС. Генетический полиморфизм определяет три главных фенотипа метаболизаторов (лиц, принимающих лекарства): нормальные, медленные и быстрые. Нормальные метаболизаторы — индивиды с нормальной скоростью метаболизма рассматриваемых лекарственных средств. К этой группе принадлежит большинство населения. Они являются чаще всего гомозиготами по «дикому» аллелю соответствующего фермента. Медленные метаболизаторы (иногда нулевые) характеризуются сниженной скоростью метаболизма рассматриваемого лекарственного средства. С генетической точки зрения они являются гомозиготами (при аутосомно-рецессивном типе наследования) или гетерозиготами (при аутосомно-доминантном типе наследования) по мутантному («медленному») аллелю соответствующего фермента. У таких лиц синтез фермента отсутствует или синтезируется неактивный («дефектный») фермент, в результате чего лекарственное средство накапливается в высоких концентрациях, что и приводит к появлению нежелательных побочных реакций. Отсюда ясно, что для медленных метаболизаторов доза лекарства должна быть меньшей или назначают другое лекарство. Быстрые (или сверхактивные) метаболизаторы характеризуются повышенной скоростью метаболизма определенных лекарств. В основном это гомозиготы (при аутосомно-рецессивном типе наследования) или гетерозиготы (при аутосомно-доминантном типе наследования) по «быстрому» аллелю соответствующего фермента. Достаточно часто встречаются ин-

дивиды с копиями функциональных аллелей, что также приводит к повышенному метаболизму лекарства. Быстрый метаболизм лекарства не позволяет при стандартных дозах достичь его терапевтической концентрации в крови, поэтому доза лекарства для быстрых метаболизаторов должна быть выше, чем для нормальных метаболизаторов. Наибольшее значение в вариациях фармакокинетических реакций имеет цитохром P450, обеспечивающий I фазу метаболизма лекарств. Цитохром P450 — большое семейство из 56 дифференциально функциональных ферментов, каждый из которых кодируется отдельным геном CYP. С фармакогенетической точки зрения особенно важны шесть генов — CYP1A1, CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 и CYP3A4. Они ответственны за I фазу биотрансформации 90 % широко распространенных лекарств. Например, CYP3A4 вовлечен в метаболизм более 40 % всех лекарств, используемых в клинической медицине, а CYP2D6 метаболизирует более 70 различных лекарств. Вполне понятно, что все вариации в метаболизме обусловлены аллелями с различной функциональной значимостью. Есть аллели, повышающие метаболизм, другие понижают его, а третьи вообще не участвуют в биотрансформации. Изофермент цитохрома P450 2D6 (CYP2D6) метаболизирует около 20 % всех известных ЛС, в том числе антипсихотических ЛС, антидепрессантов, бета-адреноблокаторов. У медленных метаболизаторов при применении кардиоселективного бета-адреноблокатора метопролола гораздо чаще наблюдается такая нежелательная лекарственная реакция, как бронхоспазм. Как правило, пациентам с фенотипом медленных метаболизаторов по CYP2D6 для предотвращения нежелательных лекарственных реакций необходимо назначать ЛС, которые метаболизируются этим ферментом, в меньших дозах. Установлено, что у медленных метаболизаторов по CYP2D6 чаще развиваются некоторые злокачественные новообразования: рак мочевого пузыря, желудка, глотки, легких (в особенности у курильщиков), первичный рак печени. Предполагают, что причиной более частого возникновения рака легкого у курящих медленных метаболизаторов по CYP2D6 служит их неспособность метаболизировать никотин. Генетические исследования позволили установить, что медленные метаболизаторы по CYP2D6 являются носителями (гомозиготами) аллелей гена цитохрома 2D6, кодирующих фермент с очень низкой активностью (либо с отсутствием активности). Иначе говоря, у таких лиц фермент CYP2D6 может отсутствовать, быть неактивным или

малоактивным. На сегодняшний день подобных дефектных аллелей выявлено более 30. Все эти аллельные варианты наследуются по аутосомно-рецессивному типу. Распространенность медленных метаболизаторов среди населения сильно колеблется: от 1 % среди арабского населения до 30 % среди жителей Гонконга. Распространенность медленных метаболизаторов в Европе в среднем составляет 5–10 %, среди негроидов США — 1,8 %, китайцев — 1 %, у японцев медленные метаболизаторы по CYP2D6 практически не встречаются. Частота быстрых метаболизаторов по CYP2D6 в Европе варьирует от 1–2 до 10 %. У лиц с таким фенотипом наблюдается дупликация или даже мультипликация гена CYP2D6. Эти варианты наследуются по аутосомно-рецессивному типу. У пациентов с данным фенотипом при применении ЛС-субстратов CYP2D6 отмечается их низкая терапевтическая эффективность, так как ускоренный метаболизм данных ЛС с помощью CYP2D6 приводит к низкой их концентрации в плазме крови. Например, противорвотное лекарственное средство ондасетрон у больных с фенотипом быстрых метаболизаторов по CYP2D6 не предотвращает рвоту при химиотерапии злокачественных опухолей, поэтому быстрым метаболизаторам необходимо назначать ЛС, относящиеся к субстратам CYP2D6, в больших дозах. Пациентам с фенотипом медленных метаболизаторов по CYP2C9 необходимо назначать ЛС-субстраты CYP2C9 в меньших дозах, по сравнению с общепринятыми. Это прежде всего относится к ЛС с узкой терапевтической шириной: пероральным гипогликемическим средствам (толбутамид, глипизид, глибенкламид) и непрямым антикоагулянтам (варфарин, аценокумарол). В настоящее время разработан высокоэффективный алгоритм выбора начальной дозы варфарина, включающий целый ряд факторов, среди которых и полиморфизм гена CYP2C9. Полиморфизм цитохрома CYP2D6 известен уже более 20 лет, тем не менее, лекарственные вещества, метаболизирующиеся с участием этого фермента, продолжают назначаться в небольшом диапазоне стандартных доз, подобранном для большинства людей в белой популяции. Необходимая коррекция доз известных препаратов для «медленных», «нормальных», «быстрых» (по CYP2D6) метаболизаторов колеблется в диапазоне от 10 до 180 % от стандартной дозы. Очевидно, что знание фармакогенетических и других закономерностей действия и взаимодействия лекарств необходимо всем практическим врачам для выбора оптимального лекарственного средства, подбора адекватной дозировки [7].

Для индивидуального выбора ЛС и его дозирования разработаны фармакогенетические тесты. Эти тесты позволяют также определить прогноз их эффективности и безопасности, до начала применения. Фармакогенетический тест — это выявление конкретных генотипов по однонуклеотидным полиморфизмам (генотипирование пациентов). В основе таких тестов лежит полимеразная цепная реакция в разных вариантах. В настоящее время используются ДНК-чипы, позволяющие выявлять одновременно несколько тысяч различных однонуклеотидных полиморфизмов. Фармакогенетический тест выполняется однократно, так как его результаты в течение жизни остаются неизменными. При этом не имеет никакого значения, когда берется материал для фармакогенетического тестирования (до еды или после, при обострении заболевания или в период ремиссии, и т.д.). Список лекарственных средств, при назначении которых обосновано использование фармакогенетического тестирования растет с каждым днем. В США он насчитывает уже около 150 позиций. На сегодняшний день существуют фармакогенетические анализы в практике онкологов, терапевтов, кардиологов, гастроэнтерологов и врачей других специальностей. Фармакогенетический тест на резистентность к клопидогрелю (Плавикс, Зилт, Эгитромб): Анализ аллельных вариантов гена цитохрома CYP2C19 (маркер резистентности к клопидогрелю). Доказано, что генетические особенности примерно у 30 % пациентов обуславливают редуцированный метаболизм и, следовательно, уменьшенную эффективность этого препарата. Это повышает для большой группы больных вероятность инфаркта и смерти после стентирования коронарных артерий, несмотря на постоянный прием клопидогреля. Более того, использование клопидогреля в комбинации с рядом других препаратов (в частности, ингибиторы протонной помпы, противогрибковых средств, антидепрессантов) у пациентов с генетическими особенностями метаболизма, приводит к практически полному исчезновению эффекта этого дезагреганта, что создает опасность для жизни пациента. Установлено, что генетический вариант CYP2C19*2 является основным детерминантом прогноза у молодых больных, получающих лечение клопидогрелем после инфаркта миокарда, особенно у пациентов, подвергнутых чрезкожным коронарным вмешательствам. Носительство, по крайней мере, одного CYP2C19*2 аллеля достоверно ассоциируется с повышенным риском тромбоза коронарного стента. Эти данные могут оказать

влияние на формулирование будущих стратегий антагрегантной терапии, основанных на данных фармакогенетики [10].

Тест на чувствительность к варфарину является комплексным фармакогенетическим исследованием для подбора дозы варфарина. Начало и проведение терапии варфарином сопряжены со сложностями, связанными с индивидуальной чувствительностью к этому препарату: достижение адекватных значений гипокоагуляции, развитие чрезмерной гипокоагуляции, кровотечения [12, 13]. Сравнительные исследования продемонстрировали несомненные преимущества генотипирования до насыщения варфарином перед традиционными методами выбора режимов дозирования этого препарата: частота нежелательных лекарственных реакций снижается в 5 раз [14, 15] Следует отметить, что фармакогенетические тесты для подбора дозы варфарина, а именно выявление полиморфизмов гена CYP2C9, в августе 2007 г. были одобрены FDA для применения в США. Для выбора дозы наиболее значим полиморфизм двух генов: гена, кодирующего цитохром CYP2C9 (CYP2C9*1, CYP2C9*2, CYP2C9*3, CYP2C9*4, CYP2C9*5) и полиморфизм гена VKORC1 (генотип AA по полиморфному маркеру G3673A), кодирующего эпоксид-редуктазу витамина К молекулы мишени варфарина [1, 11].

Для выявления риска токсической реакции на азатиоприн и 6-меркаптопурин используют анализ мутаций в гене TPMT (A719G-генотип TPMT*3C, G460A-генотип TPMT*3B) (маркер риска токсических реакций на 6-меркаптопурин тио-и азатиопурины). Дефицит тиопуринометилтрансферазы обнаруживается приблизительно у 0,3 % населения, умеренная активность определяется у 6–11 %, а высокая активность фермента — у 89–94 %. У лиц с дефицитом тиопуринометилтрансферазы образуется слишком высокая концентрация 6-тиогуаниннуклеотидов, что может сопровождаться токсическими реакциями. В зависимости от генотипа рекомендованные безопасные дозы азатиоприна и 6-меркаптопурина будут отличаться в десятки раз.

Таргетные препараты для лечения немелкоклеточного рака легкого — Иресса (Astra Zeneca) и Тарцева (Roche) высокоэффективны, но только, если в клетках опухоли произошла мутация в одном из генов (EGFR). Мутации обнаруживаются примерно у 10 % больных с немелкоклеточным раком легкого. Продолжительность жизни этой группы больных при использовании таргетных препаратов значительно увеличивается. Напротив, если мутации в опухоли отсутствуют, то эффективность этих

дорогостоящих препаратов невелика. Использование двух таргетных препаратов — Вектибикс (Амген) и Эрбитукс (Мерк) эффективно при раке толстой кишки только в случае отсутствия активирующих мутаций в гене K-ras в клетках опухоли. Мутации обнаруживаются примерно в 40 % случаев. Необходимость теста на наличие активирующих мутаций перед использованием Вектибикса и Эрбитукса указана в руководствах по использованию этих препаратов. Иринотекан (Кампто) является одним из основных химиопрепаратов для лечения рака толстого кишечника. Иринотекан является неактивной формой лекарства и становится активным в организме при помощи ферментов в печени. Конечный, активный продукт (активный метаболит) иринотекана и действует на опухолевые клетки. Для активации иринотекана и удаления из организма пациента необходимы биохимические процессы, в которых принимает участие ряд ферментов печени. Эти ферменты являются белками, которые кодируются определенным геном — UGT1A1. Примерно у 13% людей ген UGT1A1 имеет определенные особенности — полиморфизм, т.е. мутацию, приводящую к нарушению функции ферментов, известному как синдром Жильбера. Это приводит к чрезмерному накоплению активного метаболита иринотекана (Кампто) в организме больного и развитию тяжелых токсических реакций. Другими словами, количество и активность ферментов, которые контролируют, сколько лекарственного препарата, в конечном счёте, останется активным, могут быть разными у разных больных! Следовательно, одна и та же доза лекарства у разных пациентов может быть по-разному эффективна и определять разные побочные эффекты, в зависимости от генетики пациентов. Следовательно, необходимо до назначения препарата провести генетическое тестирование. Это позволит определить индивидуальную программу лечения, для уменьшения риска опасных для жизни побочных эффектов прежде, чем будет принято решение о начале использования Иринотекана (Кампто). Примерно у 1 % больных, принимающих препараты на основе фторпиримидинов (наиболее популярные — 5-фторурацил и Кселода), развивается острая токсическая реакция. Часто такие реакции обусловлены генетически. Генотипирование перед началом приема препарата позволит выявить больных, у которых разовьются тяжелые токсические реакции на 5-фторурацил и кселоду, т.е. больных, которым эти препараты противопоказаны.

Гены, отвечающие за процессы фармакокинетики и фармакодинамики ЛС, активно

изучаются во всем мире. Ведутся разработка и внедрение генетических микрочипов (microarray-technology), позволяющих выявлять одновременно целые серии полиморфизмов, ответственных за изменение фармакологического ответа. Разработка и внедрение подобных методов - это главная задача нового направления клинической фармакологии - фармакогеномики.

I.A. Sidorenko, S.V. Nalotov, Ya.Y. Galayeva, Konysheva N.V.

PHARMACOGENETICS AND PHARMACOTHERAPY: COMMON GROUND

Resume. Nowadays it becomes apparent that pharmacogenetic are necessary for the clinical practis and pharmacotherapy to ensure effective and safe treatment. At the initial stages of treatment we exclude patients who have pharmacokinetic and pharmacodynamic differences by genetic testing, to examine the efficacy and safety in the samples of patients with genetically determined differences from the norm.

Key words: pharmacogenetics, pharmacogenomic testing, genomic biomarkers

ЛИТЕРАТУРА

1. Васькова Л.Б., Кутузова Л.С., Сычев Д.А. Современный подход к персонализации дозирования варфарина: где и как можно сделать фармакогенетическое тестирование в России? Фармакогенетика и фармакогеномика, 2016.- № 1. - С. 304-308
2. Генетическая медицина / Под общ. ред. акад. АМН Украины В.Н. Запорожана. - Одесса: Одесский государственный медицинский университет, 2008. - 431 с.
3. Герасимова К.В. Организационно-экономические аспекты внедрения фармакогенетического тестирования в практическое здравоохранение. Дисс... канд. мед. наук. М.; 2012.
4. Диагностика и лечение фибрилляции предсердий. Рекомендации ВНОК и ВНОА. 2011. URL: http://rpcardio.ru/upload/archive/pdf_articles/2011/RFK_VNOK-2011-7_4.pdf
5. Клиническая фармакология с элементами клинической биохимии: Руководство для врачей и клинических провизоров / Под общ. ред. С.В. Налетова, Т.Д. Бахтеевой, И.А. Зупанца. - Донецк: «Ноулидж», 2011. - С. 15-19
6. Клиническая фармакология: Учебник/ Под общ. ред. акад. РАН, проф. В.К. Кукеса, проф. Д.А. Сычева. - Москва: «ГЭОТАР - Медиа», 2015. - С. 225-251
7. Михеева Ю.А., Кропачева Е.С., Игнатъев И.В., Сычев Д.А., Добровольский О.Б., Панченко Е.П. Полиморфизм гена цитохрома P4502C9 (CYP2C9) и безопасность терапии варфарином // Кардиология. - 2008. - Том 48, N 3. - С. 52-57
8. Сычев Д.А., Раменская Г.В., Игнатъев И.В., Кукес В.Г. Клиническая фармакогенетика / Под ред. В.Г. Кукеса, Н.П. Бочкова. - М.: ГЭОТАР - Медиа, 2007. - 248 с.
9. Середенин С.Б. Лекции по фармакогенетике. - М.: МИА, 2004. - 303 с.
10. Сычев Д.А. Фармакогенетическое тестирование: клиническая интерпретация результатов (рекомендации для практикующих врачей). - М.: Литех, 2011.- 84 с.
11. Сычев Д.А., Антонов И.М., Кропачева Е.С., Панченко Е.П. Какой из алгоритмов дозирования варфарина, основанных на результатах фармакогенетического тестирования, подходят российским пациентам? // Кардиология. - 2010. - № 4. - С. 35-37
12. Сычев Д.А., Антонов И.М., Игнатъев И.В., Наумова Ю.В., Дмитриев В.А., Кропачева Е.С., Добровольский О.Б., Панченко Е.П., Ташенова А.И., Кукес В.Г. Антикоагулянтное действие и безопасность применения варфарина при его дозировании, основанном на результатах фармакогенетического тестирования: результаты первого российского проспективного исследования. // Кардиология - 2010. - № 5. - С. 42-46
13. Vecquemont L., Alfirevic A., Amstutz U., Brauch H., Jacqz-Aigrain E., Laurent-Puig P., Molina M.A., Niemi M., Schwab M., Somogyi A.A., Thervet E., Maitland-van der Zee A.H. van Kuilenburg A.B., van Schaik R.H., Verstuyft C., Wadelius M., Daly A.K. Pharmacogenomics. Practical recommendations for pharmacogenomics-based prescription: 2010 ESF-UB Conference on Pharmacogenetics and Pharmacogenomics. 2010 Jan; 12 (1): 113-24
14. Epstein R.S., Moyer T.P., Aubert R.E., O Kane D.J., Xia F., Verbrugge R.R., Gage B.F., Teagarden J.R. Warfarin genotyping reduces hospitalization rates results from the MM-WES (Medco-Mayo Warfarin Effectiveness study). JAmCollCardiol. 2010 Jun 22; 55 (25): 2804-12
15. Mazur-Bialy A.I., Zdebska K., Wypasek E., Undas A. Repeated bleeding complications during therapy with vitamin K antagonists in a patient with theVKORC1*2A and the CYP2C9*3/*3 alleles: genetic testing to support switching to new oral anticoagulants. 2013 Mar; 131 (3): 279-80