Проблемы фармакологии, фармакогенетики и персонализированной медицины

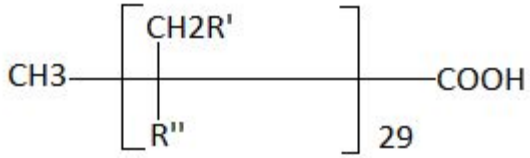
Кириченко Е. Н.

Химический факультет МГУ, ООО «РуДжин» - Генокарта,

Независимая Ассоциация Врачей России

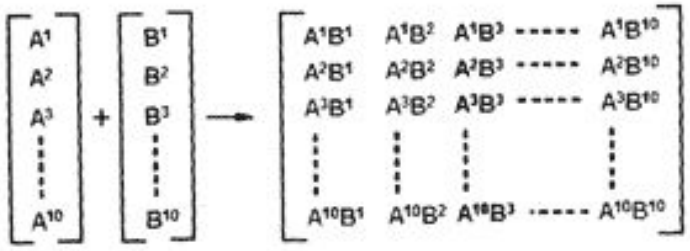
Множественное разнообразие гомологичных рядов
органических соединений может быть представлено
много

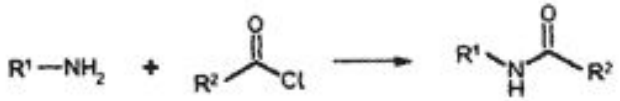
Один из множества примеров:



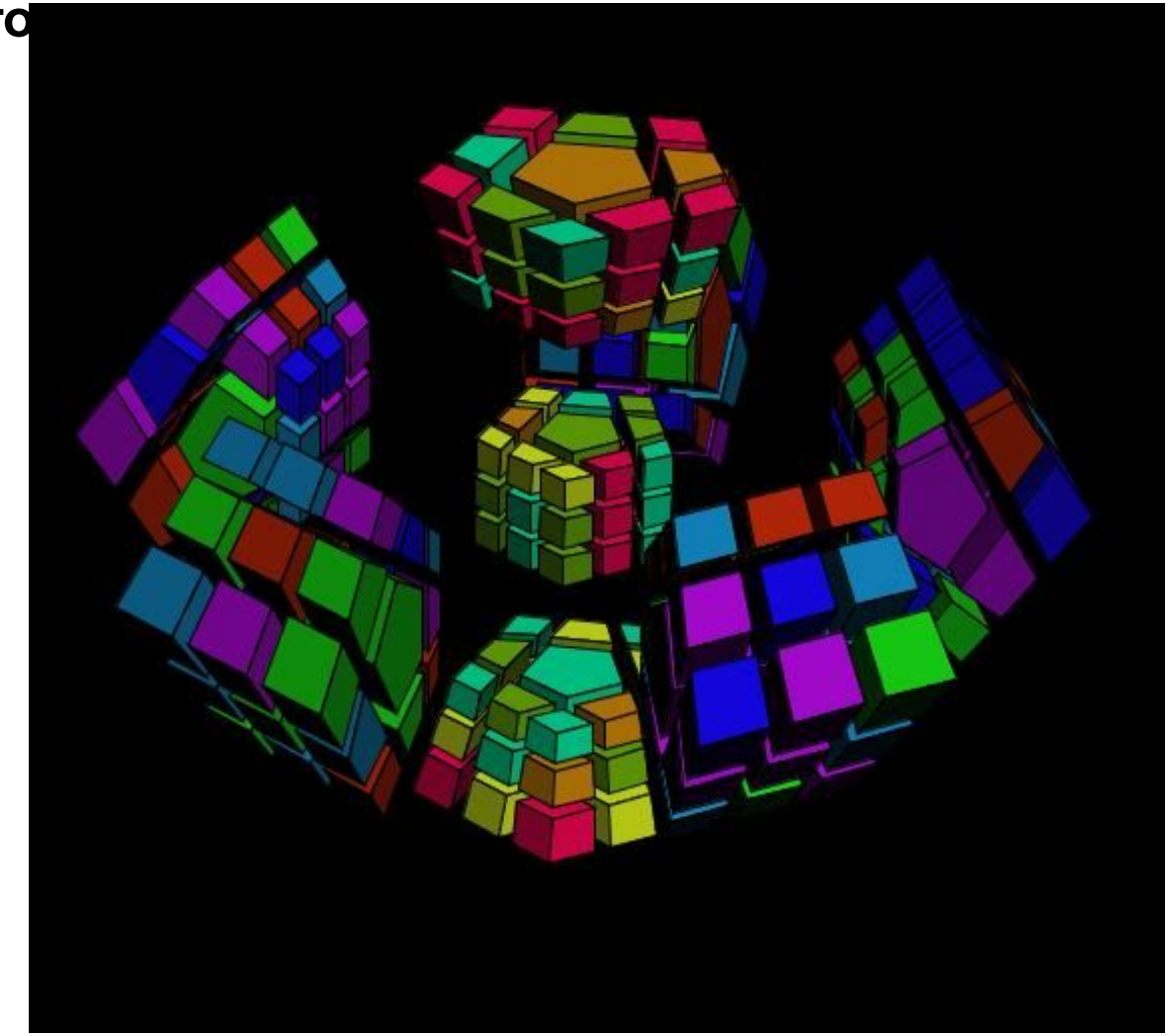
R', R'' = H, OH, F, Cl, Br, I, NH2, NO2, N3, SH

$10^{29}*10^{29}$ вариантов,
что в 10^{7} раз превышает
число всех атомов Земли



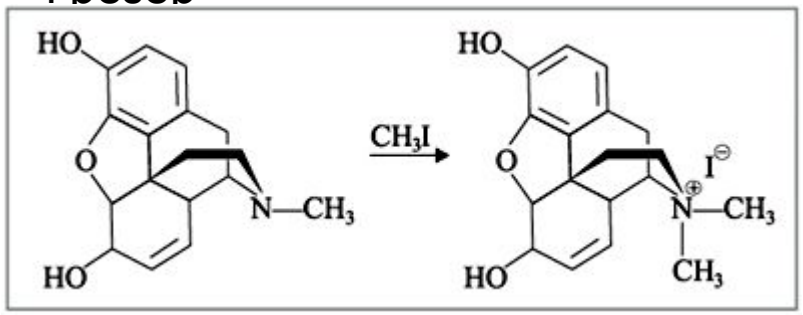


10 реактантов | 10 реактантов | 100 продуктов



Similarity

В 1869 г. А. Крум-Браун и Т. Фрезер



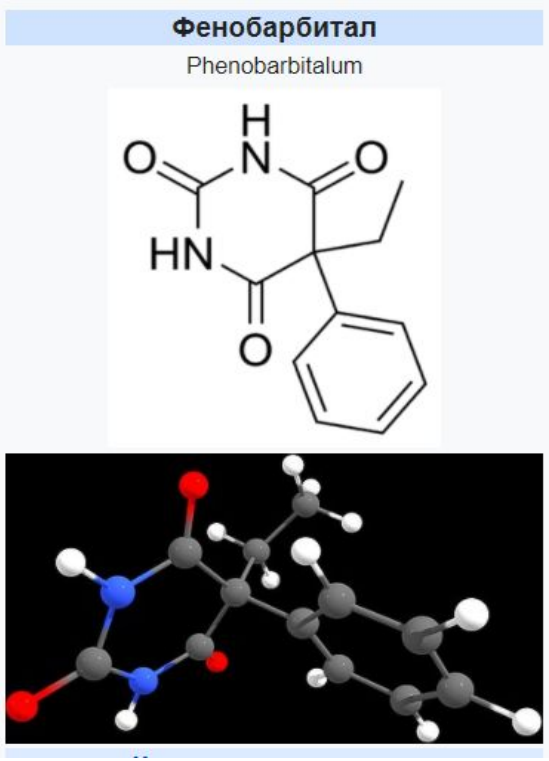
Токсичность алкалоидов

>

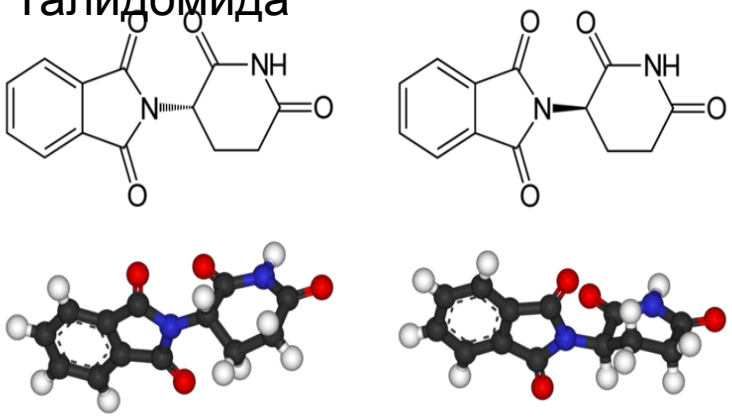
С.Бинц в 1880-х гг

CH_4, CH_3Cl, CH_2Cl_2, $CHCl_3$, CCl_4

возрастание наркотического действия →



Два изомера Талидомида



Талидомид был создан, как "нетоксичный" аналог фенобарбитала

Один из энантиомеров Талидомида обеспечивает терапевтический эффект препарата, а второй является причиной его тератогенного воздействия. Этот изомер вклинивается в клеточную ДНК на участках, богатых G-C связями, и препятствует нормальному процессу репликации ДНК, необходимому для деления клеток и развития зародыша. Поскольку в организме энантиомеры талидомида способны переходить друг в друга, препарат, состоящий из одного очищенного изомера, не решает проблему тератогенного воздействия.

QSAR – это математический аппарат, позволяющий проводить корреляции между структурами химических соединений и их биологической активностью.

Синтез соединений с заданными свойствами

- Не универсальный
- Высокая погрешность
- Результатам можно доверять только после экспериментальной проверки

Article

A new coronavirus associated with human respiratory disease in China

https://doi.org/10.1038/s41586-020-2008-3

Received: 7 January 2020

Accepted: 28 January 2020

Published online: 3 February 2020

Open access

Check for updates

Fan Wu[1,7], Su Zhao[2,7], Bin Yu[3,7], Yan-Mei Chen[1,7], Wen Wang[4,7], Zhi-Gang Song[1,7], Yi Hu[2,7], Zhao-Wu Tao[2], Jun-Hua Tian[3], Yuan-Yuan Pei[1], Ming-Li Yuan[2], Yu-Ling Zhang[1], Fa-Hui Dai[1], Yi Liu[1], Qi-Min Wang[1], Jiao-Jiao Zheng[1], Lin Xu[1], Edward C. Holmes[1,5] & Yong-Zhen Zhang[1,4,6]

Emerging infectious diseases, such as severe acute respiratory syndrome (SARS) and Zika virus disease, present a major threat to public health[1–3]. Despite intense research efforts, how, when and where new diseases appear are still a source of considerable uncertainty. A severe respiratory disease was recently reported in Wuhan, Hubei province, China. As of 25 January 2020, at least 1,975 cases had been reported since the first patient was hospitalized on 12 December 2019. Epidemiological investigations have suggested that the outbreak was associated with a seafood market in Wuhan. Here we study a single patient who was a worker at the market and who was admitted

ency a severe
etagenomic RNA
tient identified
nated here
CoV').
ides) revealed
to a group of
virus) that had
ongoing ability

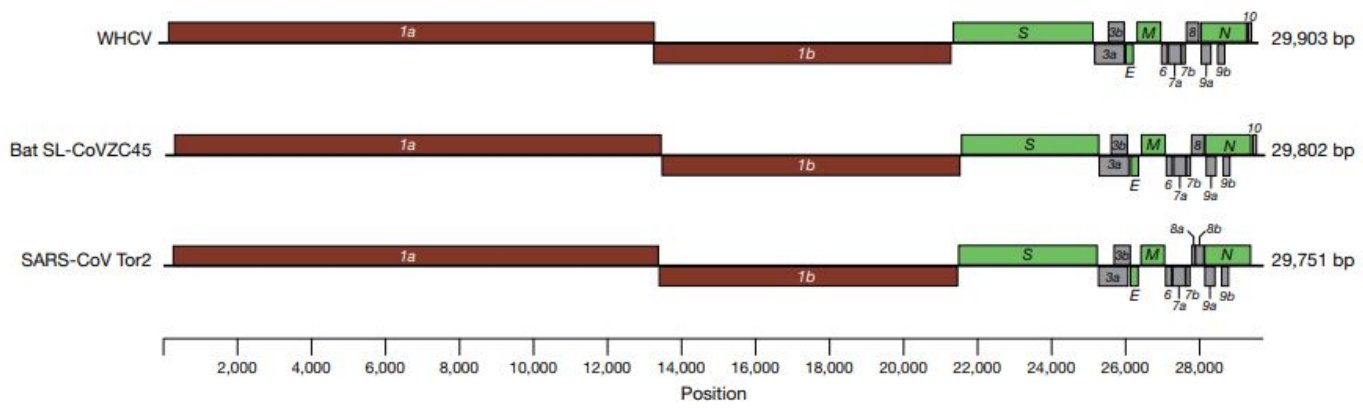


Fig. 1 | Genome organization of SARS and SARS-like CoVs. The organization of genes for WHCV, bat SL-CoVZC45 and SARS-CoV Tor2.

Public Health Clinical Center. Total RNA was extracted from 200 µl of BALF and a meta-transcriptomic library was constructed for pair-end (150-bp reads) sequencing using an Illumina MiniSeq as previously described[4,6–8]. In total, we generated 56,565,928 sequence reads that were de novo-assembled and screened for potential aetiological agents. Of the 384,096 contigs assembled by Megahit[9], the longest (30,474 nucleotides (nt)) had a high abundance and was closely related to a bat SARS-like coronavirus (CoV) isolate—bat SL-CoVZC45 (GenBank accession number MG772933)—that had previously been sampled in China, with a nucleotide identity of 89.1% (Supplementary Tables 1, 2). The genome sequence of this virus, as well as its termini, were determined and confirmed by reverse-transcription PCR (RT–PCR)[10] and 5′/3′ rapid amplification of cDNA ends (RACE), respectively. This virus strain was designated as WH-Human 1 coronavirus (WHCV) (and has also been referred to as '2019-nCoV') and its whole genome sequence (29,903 nt) has been assigned GenBank accession number MN908947. Remapping the RNA-sequencing data to the complete genome of WHCV resulted in an assembly of 123,613 reads, providing 99.99% genome

?

ПЦР-тест

Классификации подтипов заболевания на примере Мигрени

По симптомам:

- мигрень с аурой
- мигрень без ауры
- семейная гемиплегическая мигрень
- мигрень Хортона (кластерные головные боли)

По сигнальным клеточным путям:

- фолатный цикл,
- синтез и циркуляция дофамина,
- эффекты дофамина в постсинаптическом нейроне,
- выброс и циркуляция глутамата,
- эффект глутамата в постсинаптическом нейроне,
- активация эндотелиальной NO-синтазы в клетках эндотелия сосудов,
- процессы, происходящие в клетке гладкой мускулатуры сосуда,
- активация выброса CGRP (CALCA), приводящая к возникновению боли и расширению сосудов

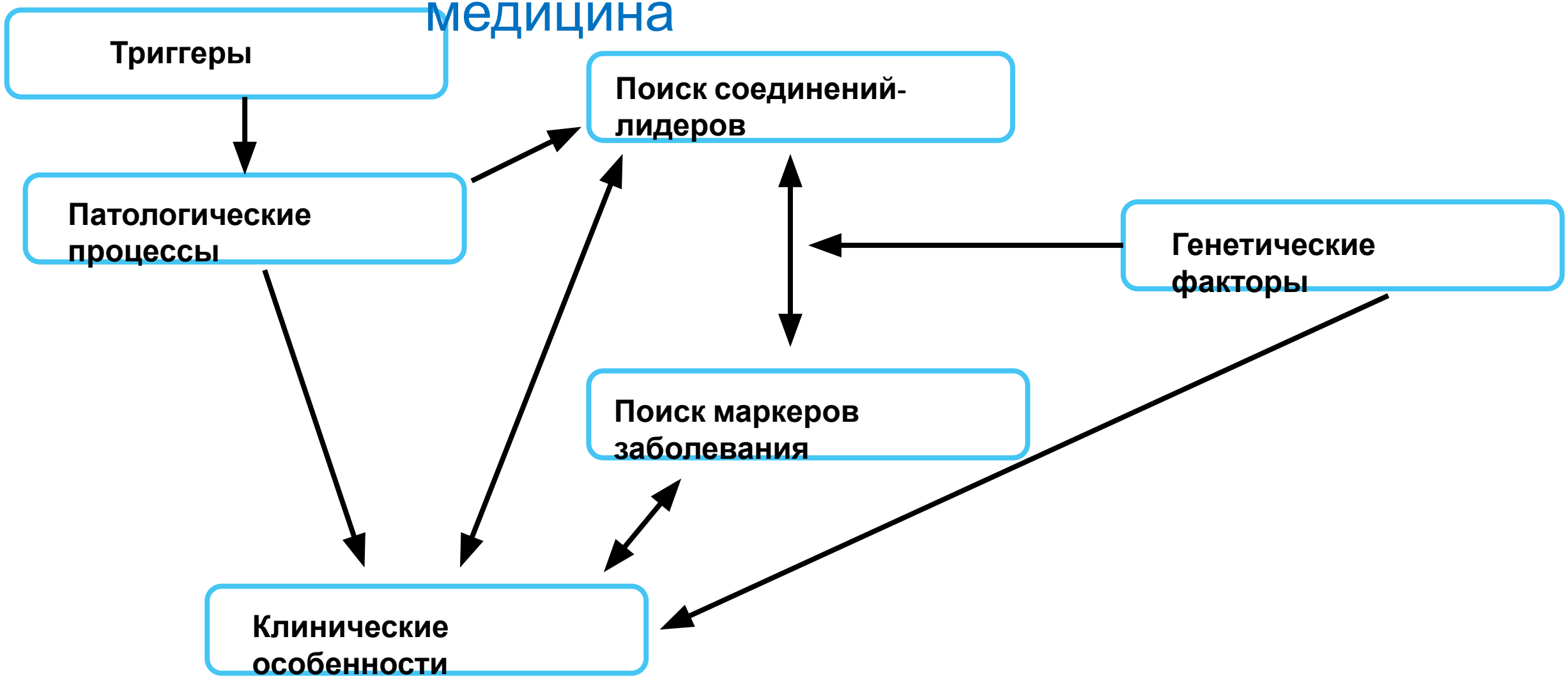
По генным вариантам:

Мигрень с аурой или без:
Тип 1 (MGR1): локус 4q24,
Тип 2 (MGR2): локус на X-хр,
Тип 3 (MGR3): локус 6p21.1-p12.2,
Тип 4 (MGR4): локус 14q21.2-q22.3,
Тип 5 (MGR5): локус 19p13,
Тип 6 (MGR6): локус 1q31,
Тип 7 (MGR7): локус 15q11- q13,
Тип 8 (MGR8): локус 5q21,
Тип 9 с аурой (MGR9): локус 5q21,
Тип 10 (MGR10): локус 17p13,
Тип 11 (MGR11): локус 18q12,
Тип 12 (MGR12): локус 10q22-q23,
Тип 13 с аурой (MGR13): KCNK18;

Семейная гемиплегическая мигрень:
Тип 1 (FHM1): CACNA1A,
Тип 2 (FHM2): ATP1A2,
Тип 3 (FHM3): SCN1A,
Тип 4 (FHM4): CACNA1E,
Тип 5 (FHM5): SLC1A3, SLC4A4, PRR2;

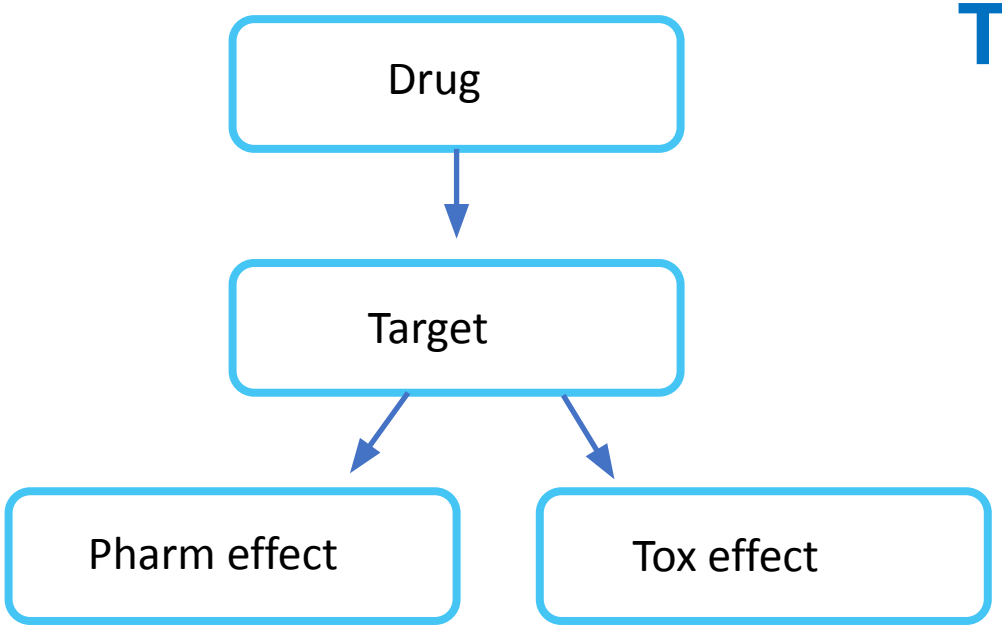
Моногенные мигренозные синдромы:
Синдром CADASIL, церебральной аутосомно-доминантной артериопатии: NOTCH3,
Синдром CARASIL, церебральной аутосомно-рецессивной артериопатии: HTRA1,
Митохондриальная энцефалия, лактат-ацидоз и инсульт-подобные эпизоды: MTTL1,
Церебральная наследственная ангиопатия с сосудистой ретинопатией и внутренней дисфункцией органов: TREX1,
Синдром семейной расширенной фазы сна: CSNK1D,
COL4A1-родственные синдромы: COL4A1

Персонализированная медицина



вещество –> мишень –> каскадный путь –> клеточный процесс –> физиологический ответ

Токсичность



частный случай

клеточная токсичность:

- Гибель клеток / апоптоз
- Целостность цитоплазматической мембраны
- Снижение потенциала митохондриальной мембраны
- Митохондриальная токсичность
- Повышенное количество активных форм кислорода
- Снижение глутатиона
- Влияние на клеточный цикл

Фармакокинетические параметры:

Биодоступность (всасывание)
Концентрация в организме (Cmax, AUC)
Несвязанная фракция
Скорость выведения (T1/2, метаболизм)
Распределение в тканях

Вариации по группам испытуемых:

- возрастные группы
- здоровые\больные (причем разные диагнозы по разному)
- мужчины\женщины
- натощак или после еды
- прием утро\вечер
- в комбинациях с другими перпаратами
- способ введения
- частота и длительность приема
- генетические особенности и экспрессия генов в разных тканях

НЕ НАВРЕДИ!

Слова толпы звучат насмешкой злою
В ушах моих, и знаю я один,
Как мало мы, отец и сын,
Гордиться можем этой похвалою...
...Целительный напиток был готов.
И стали мы лечить.
Удвоились мученья:
Больные гибли все без исключенья,
А выздоравливал ли кто,
Спросить не думали про то.
Вот наши подвиги леченья!
Средь этих гор губили мы
Страшней губительной чумы!
Я сам дал тысячам отраву:
Их нет — а я живу... И вот —
В моём лице воздал народ
Своим убийцам честь и славу!

Фауст Гёте

Основные области применения фармпродукции

реанимация
хирургическая анестезия
острые инфекционные заболевания
стоматология

метаболомные нарушения
хронические процессы
неврологические расстройства
психиатрические расстройства

поддерживающая терапия
снятие симптомов
витамины и минералы

Диагностика

сфера услуг (контрацепция, похудение, омоложение, отказ от курения и т.д.)

Профилактика

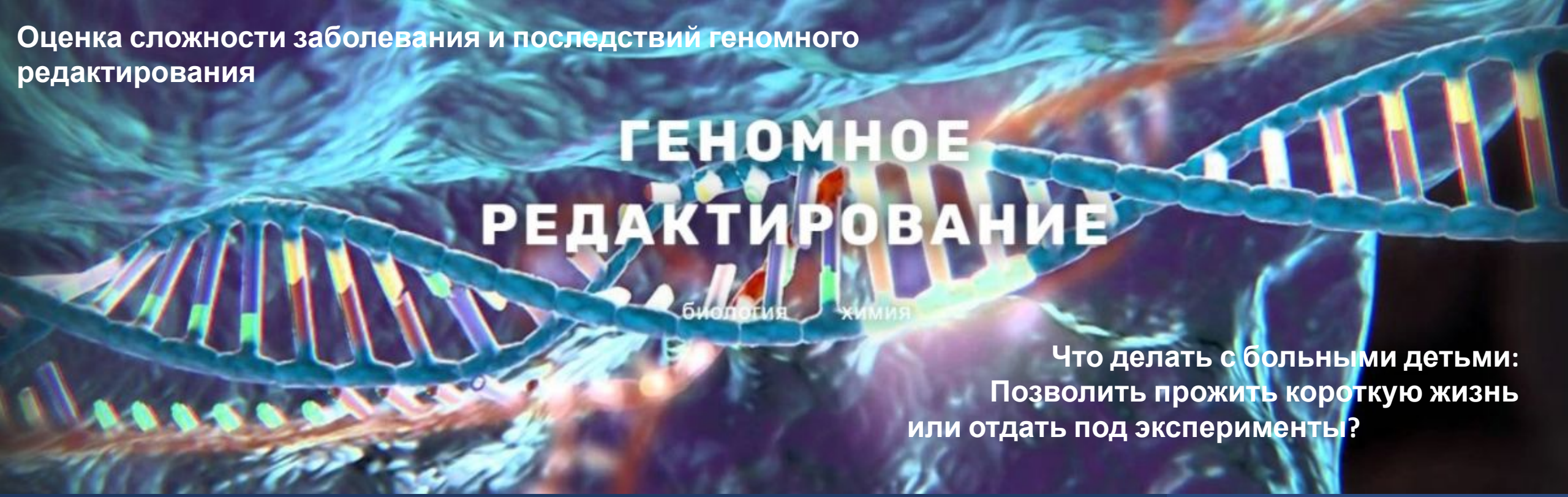
Можно ли рекламировать фармакологические препараты?

Согласно народным отчетам в чате Института им. Гамалеи участники вакцинации Спутник V:
5-15% - ожирение, избыточный вес
30 % - хронические заболевания

Именно предшествующая реклама фарм продукции и вера в «волшебную» таблетку, а в данном случае – «прививку», привели к такой ситуации, как представлена на картинке.

Фармакология
Фармакогенетика
Персонализированная медицина
генетический скрининг
пренатальная диагностика
геномное редактирование
безопасность информации
интерпретация результатов
Нарушение понятия семьи
ЭКО
Стволовые клетки
трансплантологи я
Евгеника
?
эксперименты на людях
мозаицизм, химеризация

Оценка сложности заболевания и последствий геномного редактирования



Что делать с больными детьми:
Позволить прожить короткую жизнь
или отдать под эксперименты?

Синдром Коккейна

2019 г. животная модель.

- биопсия фибробластов у пациентов с мутациями гена ERCC6, - перепрограммирование их стволовых клеток,

- коррекция генома этих клеток (CRISPR/Cas9),

- дифференцировка в мезенхимальные стволовые клетки и нервные стволовые клетки,

- терапия на основе уже исправленных стволовых клеток.

Глазной альбинизм и нистагм

2005 г. животная модель

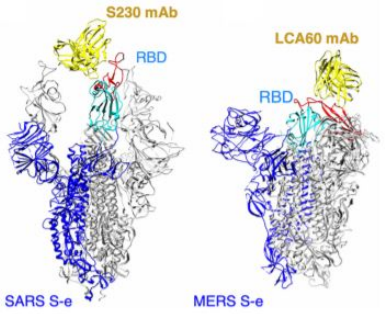
Аденоассоциированный вирус-вектор-опосредованный перенос гена GPR143 на сетчатку глаза мыши с нокаутным геном OA1 (-/-) приводит к значительному восстановлению функциональных нарушений сетчатки и увеличивает количество меланосом.

После вспышки SARS-CoV в 2002 г. были предприняты попытки разработать вакцины для людей.

Было испытано 4 варианта вакцин:

1) **Цельно вирусная вакцина**, приготовленная на тканевых культурах Vero, зонально центрифугированная и дважды инактивирован формалином и УФ-облучением (с квасцовым адъювантом и без);
2) **Цельно вирусная вакцина**, очищенная, инактивированная бета-пропиолактоном облучением (с квасцовым адъювантом);
3) Вакцина на основе рекомбинантной ДНК S-белка, произведенная в клетках насекомых и очищенная с помощью колоночной хроматографии (с квасцовым адъювантом и без);
4) Вакцина, содержащая вирусоподобные частицы, S-белки SARS-CoV и пр. компоненты.

MERS



SARS-CoV-2 (2019 – 2021)

4 принципа создания вакцин:

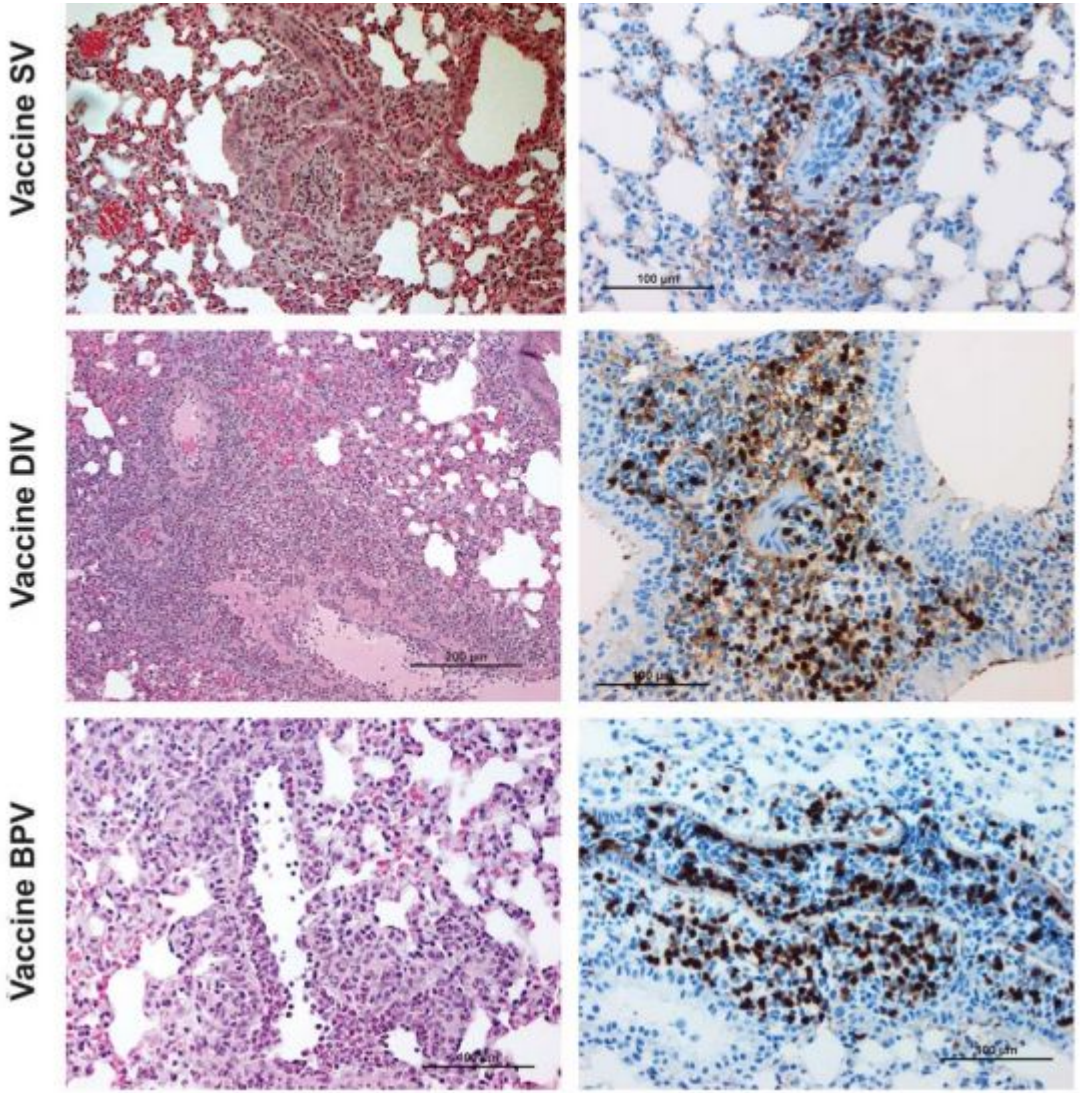
1) «**КовиВак**»: **цельно вирусная вакцина** (какая из более чем 3000 генных вариантов?)
2) **Pfizer** и **Moderna**: основаны на частицах м-РНК, которые способны выполнять функции эпигенетических модуляторов
3) **Спутник V**, **AstraZeneca**: ГМО продукт, состоящий из двух штамов рекомбинантных аденовирусов, в которые встроен ген S-белка вируса SARS-CoV-2
4) «**ЭпиВакКорона**»: содержит три различных белковых коньюгата с S-белками SARS-CoV-2 и адъювант - гидроксид алюминия

Антитело зависимое усиление инфекции

OPEN ACCESS Freely available online PLoS one

Immunization with SARS Coronavirus Vaccines Leads to Pulmonary Immunopathology on Challenge with the SARS Virus

Chien-Te Tseng[1,2], Elena Sbrana[1], Naoko Iwata-Yoshikawa[1,2], Patrick C. Newman[1], Tania Garron[1], Robert L. Atmar[3,4], Clarence J. Peters[1,2], Robert B. Couch[3,4]*

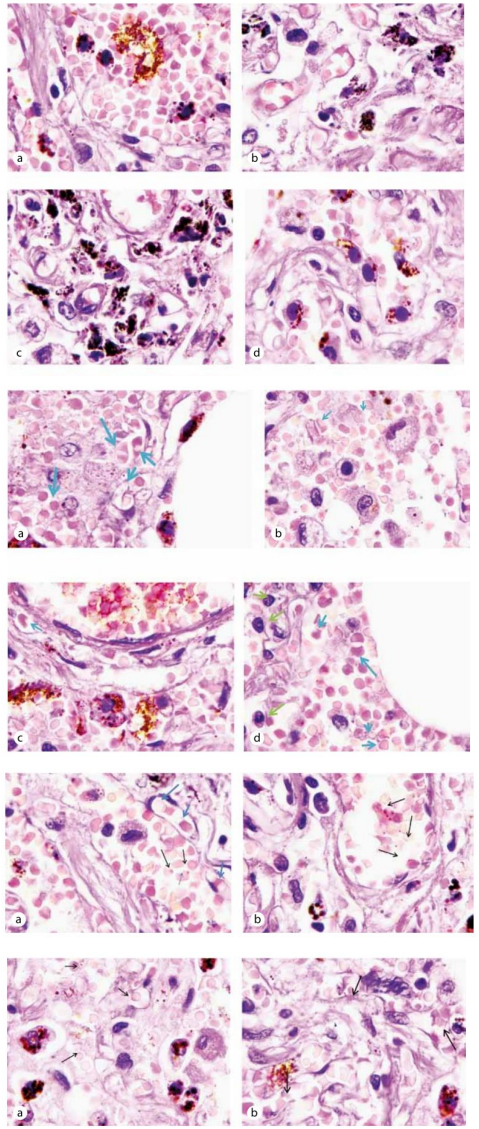


EDITOR'S CHOICE | archiv euromedica | 2020 | vol. 10 | num. 3 |

http://dx.doi.org/10.35630/2199-885X/2020/10/3.1

ERYTHROCYTES AS A TARGET OF SARS COV-2 IN PATHOGENESIS OF COVID-19

Received 01 July 2020;
Received in revised form 05 August 2020;
Accepted 07 August 2020



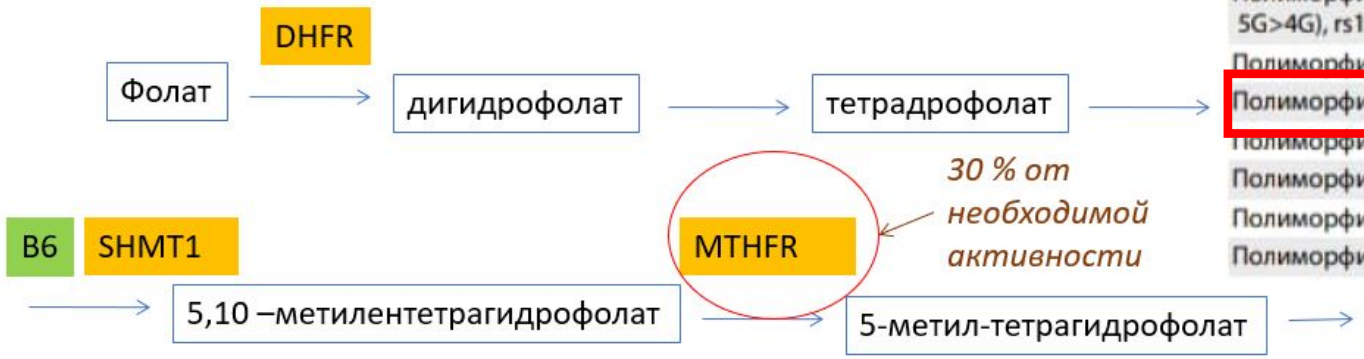
"Не смертию умрёте"...

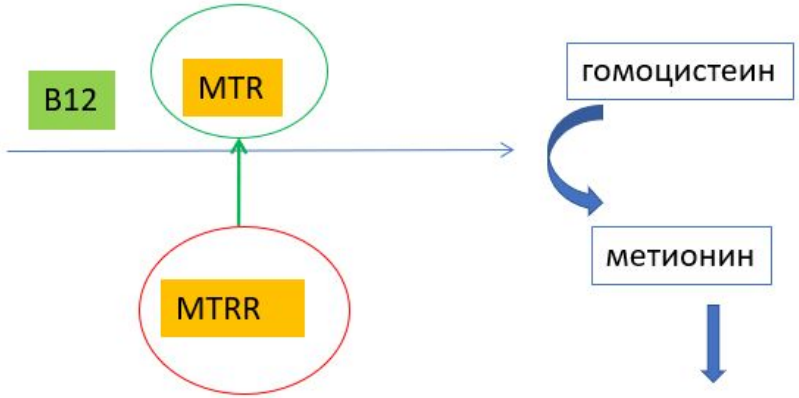
Выводы:

1. Новейшие научные разработки очень важны, но внедрение их в жизнь должно быть крайне осторожным и обдуманным;
2. Необходим пересмотр доклинических и клинических испытаний и минимизация испытаний на здоровых волонтерах;
3. Необходим запрет на рекламу фарм продукции и постепенный отказ от «химических костылей» и «волшебной таблетки»;
4. Нужна декоммертизация фарминдустрии и здравоохранения;
5. Мутационный анализ всегда имеет вероятностное значение;
6. Генетический скрининг без интерпретации результатов следует запретить во избежание делокализации ответственности;

Вопросы ?

Цикл Фолиевой кислоты





Эпигенетический контроль

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ РИСКА НЕВЫНАШИВАНИЯ И ОСЛОЖНЕНИЙ БЕРЕМЕННОСТИ

Параметр	Результат
Полиморфизм в гене F2 (Протромбин, 20210 G>A), rs1799963	GG
Полиморфизм в гене F5 (Коагуляционный фактор V, мутация Лейдена, R534Q G>A), rs6025	GG
Полиморфизм в гене MTHFR (Метилентетрагидрофолатредуктаза, E429A, A>C), rs1801131	AA
Полиморфизм в гене MTHFR (Метилентетрагидрофолатредуктаза, A222V, C>T), rs1801133	TT
Полиморфизм в гене FGB (Фибриноген, 455 G>A), rs1800790	GG
Полиморфизм в гене SERPINE1 (Ингибитор активатора плазминогена 1, –675 5G>4G), rs1799768	5G/4G
Полиморфизм в гене MTR (Метионинсинтаза, D919G, A>G), rs1805087	AA
Полиморфизм в гене MTRR (Метионинсинтазаредуктаза, I22M, A>G), rs1801394	AG
Полиморфизм в гене ESR1 (Эстрогеновый рецептор, T>C (PVuII)), rs2234693	TT
Полиморфизм в гене ESR1 (Эстрогеновый рецептор, A>G (XbaI)), rs9340799	AA
Полиморфизм в гене AGT (Ангиотензиноген, M268T, T>C), rs699	TC
Полиморфизм в гене TCF7L2 (Фактор транскрипции 7, IVS3 C>T), rs7903146	TT

Развитию патологий способствуют мутации в генах MTHFR (rs1801131), MTRR (rs1801394) и MTR (rs1051266) самого эмбриона. Крайне высокий риск развития дефектов нервной трубки, в частности расщепления позвоночника, наблюдался, когда младенцы имели сразу две мутации: в гене MTRR и гене MTR. Помимо этого риск развития патологий вызывают мутации в генах матери: MTHFR (rs1801133), MTHFD1 (rs2236225), MTHFD1L (rs3832406), MTRR (rs1801394), RFCI (rs1051266), даже если эмбрион не имеет мутантных генов.

Факторы невынашивания и преждевременных родов:

- Гены окситоцинового пути (**OXT, OXTR, LNPEP**) - стимуляция родовой деятельности;

- Блокировка передачи сигналов **SLIT2/ROBO1**, которые регулирует выработку бета-ХГЧ;

- Гены **SLIT2 и SUGCT** - продолжительность внутриутробной жизни плода;

- Нарушения работы систем детоксикации (гены **GSTT1, GSTP1, NAT2, SULT1A1, CYP1A1, GPX1**) в материнском организме;

- Нарушение фолатного обмена (гены **MTHFR, MTR, MTHFD1, MTRR**) в материнском организме;

- **Fl, F2 и F5** - факторы свертывания крови;

- Гены комплекса гистосовместимости HLA-системы (**DQA1, DQB1, DRB1, HLA-G**);

- Гены фактора роста (**VEGF**) и дисфункции эндотелия в плацентах у рожениц (**NOS3 и AGT**);

- Циркадных часов и липидного обмена (**PER3**).

- Для курильщиц дополнительным фактором риска будет мутация гена **PON2**.

- Описан случай хронического невынашивания, связанный с конфликтом по группе крови. У пациентки была редкая группа крови p по системе групп крови P1P, обусловленная мутациями гена **A4GALT**. Выкидыш вызывали антитела к PP1P, характерные для носителей этой группы.

- Гаплотип **GP6 (rs1671152, rs2304167, rs1654416),** связанный с синдромом слипания тромбоцитов, проявляется потерей плода.

- Ослабление врожденного иммунного ответа (гены **CARD6, CARD8, NLRP10, NLRP12, NOD2, TLR10**), и мутации в генах, кодирующих противомикробные белки (**DEFB1, MBL2**).

- В генах **HLA-DQB1 и HLA-DQA1** обнаружены полиморфизмы **(rs1063355 и rs9272346** соответственно), которые оказывают проективный эффект.