

**ВВЕДЕНИЕ В ЭКОГЕНЕТИКУ
ЧЕЛОВЕКА, ФАРМАКОГЕНЕТИКУ.
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ
ИНДИВИДУАЛЬНОЙ
ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ЛЕКАРСТВАМ.**

- Экогенетика человека - это наука, которая изучает различные генетически обусловленные реакции людей на определённые агенты среды. В её задачи входит объяснение различной чувствительности отдельных людей к действию потенциально опасных внешних агентов и изучение индивидуальных особенностей адаптации к окружающей среде.

- Среда обитания человека постоянно менялась на протяжении сотен тысяч лет. К её изменениям человек приспосабливался как биологический вид с широкой нормой реакции.
- При этом постепенно менялся генотип, т.к. при разных условиях среды в популяциях людей сохранялись нужные и отсеивались ненужные комбинации аллелей.
- Для современного периода существования человечества характерно:
 - 1 - появление в среде его обитания многих новых факторов, с которыми человек ранее не сталкивался (например, 60 тыс. новых химических веществ):
 - 2 - очень быстрый темп изменения среды.
- Генотипы отдельных особей популяции и её генофонд в целом не успевают адекватно реагировать на изменения среды. Это приводит к тому, что в изменённых экологических условиях появляются наследственные болезни нового класса – экогенетические болезни. Они возникают у части населения популяции, имеющей «молчащий» до этого аллель, который проявляет патологическое действие при воздействии конкретного фактора среды, нового для данного организма. Этими факторами могут быть климатические факторы, производственные, бытовые, пищевые, лекарственные препараты.

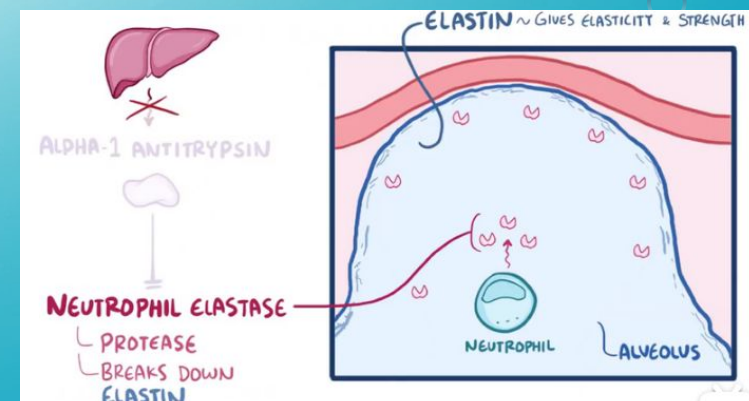
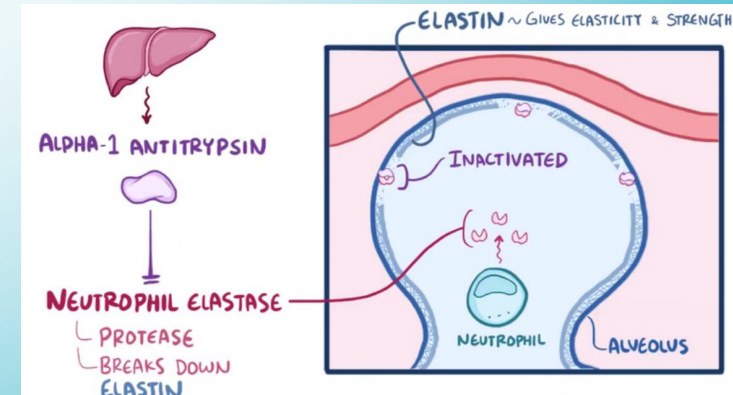
- Изучение наследственной изменчивости человека под влиянием факторов научно-технического прогресса является важной генетической проблемой.
- В связи с социальным и научно-техническим прогрессом имеет место динамическая реакция наследственности на экологическую среду, которая постоянно меняется: одновременно изменяется сама наследственность (повышения мутационного процесса) и ее проявления в виде патологических реакций на новые факторы окружающей среды.
- Генетические основы детерминации ответа человека на воздействие факторов внешней среды не вызывают сомнения. Известно, что существует генетический полиморфизм популяции людей в их реакции на действие биологических и экологических факторов окружающей среды.
- Несомненно, есть также и генетический контроль биотрансформации в организме человека всех химических соединений.
- Экогенетика человека изучает различные версии ответов разных людей на факторы окружающей среды, которые называются «экогенетическими реакциями». Суть таких реакций заключается в том, что гены, которые «молчали» ранее, пробуждаются под влиянием новых экологических факторов и вызывают патологические состояния.

- Экогенетика человека как раз и изучает вариации ответов разных людей на факторы внешней среды.
Большинство патологических состояний, связанных с воздействием препаратов или негативных факторов внешней среды, характеризуются типичным спектром экспрессии генов в одной или нескольких тканях, так называемой генетической подписью (gene signature), уникальной для каждого заболевания или реакцией на окружающую среду.
- Именно биохимическая уникальность определяет нашу устойчивость или, наоборот, чувствительность к различным внешним воздействиям, нашу склонность к тем или иным мультифакториальным заболеваниям.
- Диагностика заболеваний или патологических состояний, связанных с функциональным дефектом многих белков и составляет основу превентивной медицины как одного из векторов молекулярной медицины XXI века.

- Во время войны в Корее (1950-1952 годы) все американские солдаты проходили профилактический курс лечения противомаларийным препаратом примахин.
- У 10% чернокожих солдат и 1-2% белых солдат из 1000 в ответ на прием примахина развилась сосудистая гемолитическая реакция.
- Ранее сходные реакции наблюдались при лечении чернокожих больных сульфаниламидами, а также у жителей Сардинии после употребления в пищу конских бобов.
- Вначале этот факт пытались объяснить действием иммунных механизмов. Но в итоге кровопролитных исследований оказалось, что лимитирующим фактором является недостаточность Г-6-ФДГ (глюкозо-6 фосфат дегидрогеназа) и гемолиз связан с недостаточностью этого фермента.

Потенциально токсические факторы окружающей среды поражают не все население в одинаковой мере. Только часть населения, генетически предрасположенная, т.е. имеющая определенные аллели, мутации, высоко чувствительна к фактору – у них потенциальная токсичность переходит в реальную.

На примере полиморфизма белка **α 1-антитрипсина** (ингибитора протеаз (ИП)) можно проследить проявление патологической реакции у ряда людей на загрязнение атмосферы. Люди, имеющие неактивную форму фермента (zz), склонны к развитию хронических воспалительных заболеваний и эмфиземы легких. В норме концентрация ИП повышается при воспалении, когда активируются протеазы, разрушающие измененные участки ткани. Работа протеаз в норме со временем тормозится за счет включения синтеза ИП. Соответственно, при недостаточности ИП протеазы разрушают собственные неповрежденные ткани, что приводит к эмфиземе легких. Курение и запыленность воздуха существенно ускоряют развитие эмфиземы.



ФАРМАКОГЕНЕТИКА

- Наука, изучающая место и роль генетических факторов в формировании ответа организма человека на лекарственные средства;
- Предмет изучения: особенности генетической конституции, которые ассоциированы с изменениями фармакологического ответа (генетически детерминированный фармакологический ответ).

ИСТОРИЯ ФАРМАКОГЕНЕТИКИ

- 1957 – Признание генетической природы индивидуальной чувствительности к лекарствам (А. Мотульски: «Наследственность может объяснить множество индивидуальных различий в эффективности ЛС и появление нежелательных реакций в результате их действия»);
- 1959 – Введение термина «фармакогенетика» (Ф.Фогель);
- 1977 – Установление генетической природы скорости метаболизма противотуберкулезного препарата дебризохина (полиморфизм гена *CYP2D6*);
- 1980 - Установление связи между токсичностью меркаптопурина и дефицитом фермента тиопуринтрансферазы;
- 1987 – Описание полиморфизма гена *CYP2C9*;
- 1990 – Исследование ассоциаций генетического полиморфизма с эффективностью лекарственной терапии;
- 2000 – Внедрение фармакогенетических тестов в клиническую практику;
- 2004 – Практическое применение первого фармбиочипа;
- 2007 – Первый генетический тест на чувствительность к антикоагулянту варфарину.

ИНДИВИДУАЛЬНЫЙ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЙ ОТВЕТ



КЛИНИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ ФАРМАКОГЕНЕТИКИ

Одинаковый диагноз
одинаковое ЛС



Изменить ЛС или дозу



Терапия подходит



безопасно
эффективно



безопасно
неэффективно



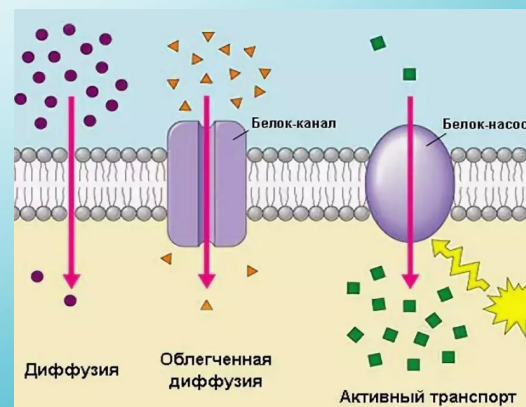
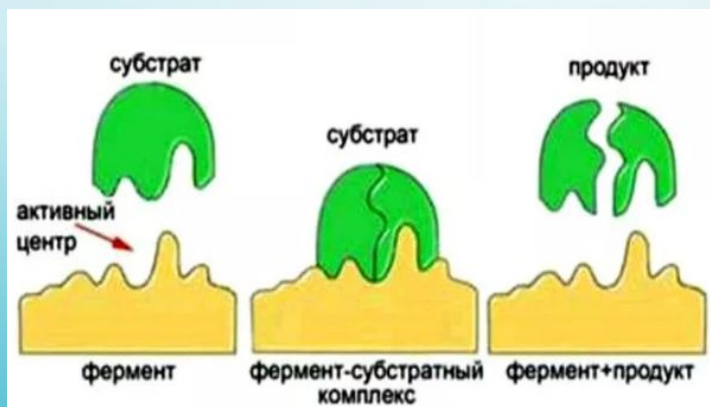
небезопасно
неэффективно



небезопасно
эффективно

ЛС

Около 25% генов человека характеризуются полиморфизмом, наличием нескольких вариантов аллелей. Различные варианты одного гена могут кодировать молекулы с существенно отличающимися биохимическими характеристиками, что приводит к многочисленным вариациям в ферментных системах, транспортных белках, антигенах и рецепторах клетки и тем самым обуславливает индивидуальные особенности метаболизма химических веществ, реакций на биологические агенты и физические факторы.



ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ

- Основа различий в ответе на ЛС;
- Существование в популяции разных аллелей одного и того же локуса:
 - частота более 1% в популяции
 - не нарушает функцию гена.

Типы полиморфизмов:

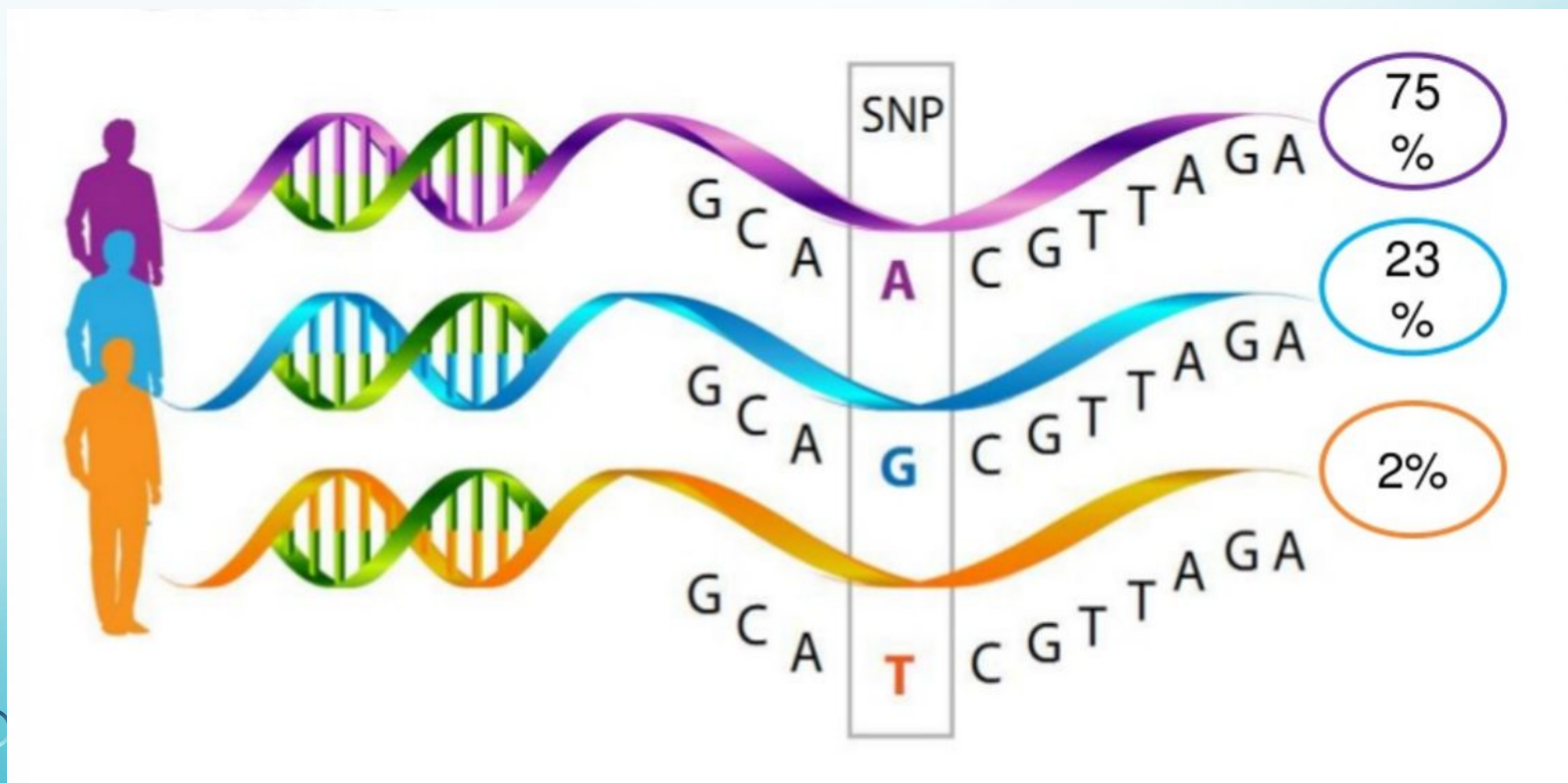
- **Однонуклеотидный полиморфизм (SNP):** самый распространенный тип полиморфизма, встречается, в среднем, через каждый 200 п.н. Локализованы как в кодирующих, так и в некодирующих участках генома.
- **Полиморфизм длины коротких последовательностей (SSLP):** эти последовательности содержат повторы с различным числом коровых единиц, представлены в популяции серией аллелей, характеризуются высокой гетерозиготностью.
- **Инсерционно-делеционный полиморфизм** – наличие/отсутствие участка ДНК.

GAATT**T**AAG
GAATT**C**AAG

NCACACACAN
NCACACACAC**CACACAN**
NCACACACAC**CACAN**

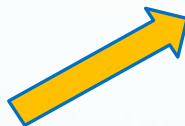
GAAAT**T**CCAAG
GAAA[]CCAAG

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ



ГЕНЕТИКА ИЛИ ГЕНОМИКА

ФАРМАКОГЕНОМИКА



ФАРМАКОГЕНЕТИКА

Один ген

Небольшое
число генов

Сложный
биологически
й путь

Целый
геном

Фармакогенетика	Фармакогеномика
Изучает генетические основы variability ответа на ЛС	Использует генетическую информацию для выбора ЛС и дозы на индивидуальной основе

- **Клиническая фармакология** – патологические реакции на лекарства (фактология, биохимия);
- **Фармакогенетика** – их генетические механизмы (природу наследственной обусловленности реакции);
- **Фармакогеномика** – систематический геномный поиск генетических вариантов (генов и их аллелей), которые позволяют предсказать ответ индивида на лекарство, включая неблагоприятные эффекты.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПАЦИЕНТА, ВЛИЯЮЩИЕ НА ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЙ ОТВЕТ

Генетические полиморфизмы

CYP2D6
CYP2C9
CYP2C19
NAT2

- Всасывание
- Распределение
- Биотрансформация
- Выведение

ФАРМАКОКИНЕТИКА

- Ферменты биотрансформации ЛС
- Транспортёры ЛС

MDR1
BCRP
SLO1B1

ACE I/D

- «Мишени» ЛС
- Патогенетические пути заболеваний

ФАРМАКОДИНАМИКА

- Рецепторы
- Ферменты
- Ионные каналы
- Факторы свертывания крови
- Белки клеточного цикла
- «Сигнальные» белки

ADRB1
ADRB2

VKORC1
ACE

ОТВЕТ НА ЛС

ИЗМЕНЕНИЯ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ОТВЕТА

- **Приводящие к серьезным реакциям** – применение ЛС противопоказано;
- **Приводящие к неблагоприятным побочным реакциям, не относящимся к серьезным, -** требуется применение ЛС в пониженной дозе (в минимально разрешенной дозе, регламентированной инструкцией по медицинскому применению);
- **Приводящие к неэффективности ЛС или низкой эффективности** – требуется применение ЛС в высокой дозе (в максимально разрешенной дозе, регламентированной инструкцией по медицинскому применению).

ТОЧКИ ПРИЛОЖЕНИЯ ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ

- **Фармакокинетика** – раздел фармакологии, изучающий пути введения, биотрансформацию, связь с белками крови, распределение ЛС и выведение их из организма человека;
- К основным фармакокинетическим процессам относят: всасывание, метаболизм (биотрансформация), распределение и выведение. Эти процессы проходят с участием различных белков: транспортных, белков плазмы крови, ферментов биотрансформации. От их функционирования зависит концентрация ЛС в плазме крови, а влияние на них различных факторов может в конечном счёте изменить фармакологический ответ.



ТРАНСПОРТЕРЫ ЛС

Ферменты, обеспечивающие функции всасывания, распределения и выведения из организма ЛС;

В фармакокинетике ЛС транспортёры выполняют следующие функции в зависимости от расположения:

При локализации в энтероцитах:

- «выброс» ЛС в просвет кишечника: гликопротеин Р (Р-gp, MDR1), протеин резистентности рака груди (BCRP), протеин 2, ассоциированный со множественной лекарственной устойчивостью (MRP2);

- всасывание ЛС: транспортёр I олигопептидов (PEPT1), полипептид В, транспортирующий органические анионы (OATP-B или OATP2B1).

При локализации в гепатоцитах:

- захват ЛС из крови: полипептиды А, В и С, транспортирующие органические анионы (OATP-A или OATP1B3, OATP-B или OATP2B1, OATP-C или OATP1B1), протеины 1, 3 и 4, ассоциированные со множественной лекарственной устойчивостью (MRP1, MRP3, MRP4);

- активная секреция ЛС в желчь: гликопротеин Р (MDR1), протеин 2, ассоциированный со множественной лекарственной устойчивостью (MRP2), протеин резистентности рака груди.

При локализации в эпителиоцитах проксимальных почечных канальцев:

- захват ЛС из крови: транспортёры органических анионов 1, 2, и 3 (OAT1, OAT2 и OAT3);

- активная секреция в мочу: гликопротеин Р (MDR1), транспортёр органических анионов 4 (OAT4), протеины 2 и 4, ассоциированные со множественной лекарственной устойчивостью (MRP2, MRP4);

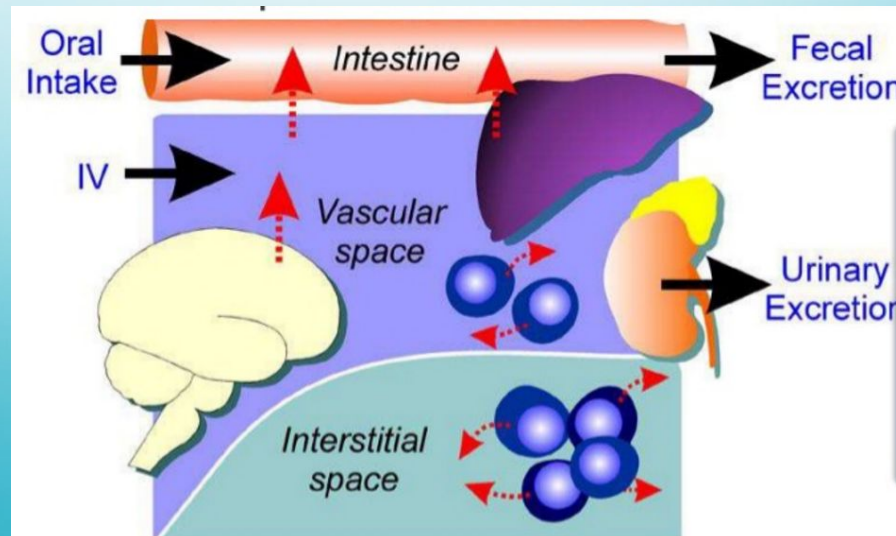
- реабсорбция ЛС: транспортёры 1 и 2 олигопептидов (PEPT1, PEPT2), протеин 1, ассоциированный со множественной лекарственной устойчивостью (MRP1).

При локализации в эндотелиоцитах гематоэнцефалического барьера (ГЭБ):

- транспортёры осуществляют «выброс» ЛС в просвет сосуда, не допуская их проникновения в центральную нервную систему (ЦНС), - гликопротеин Р (MDR1).

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ Р-ГЛИКОПРОТЕИНА (*MDR1*)

- Ген *MDR1* (7q21.1) – кодирует мембранный белок Р-гликопротеин из семейства АВС-переносчиков;
- АТФ-зависимый насос, локализованный на цитоплазматических мембранах различных клеток;
- Осуществляет выброс во внеклеточное пространство различных ксенобиотиков, в том числе и ЛС, препятствует всасыванию ЛС из кишечника;
- В ЖКТ выполняет роль «насоса», выкачивающего ксенобиотики из клетки в просвет кишки;
- способствует выведению гепатоцитами ксенобиотики в желчь;
- В эпителии почечных канальцев участвует в активной секреции ксенобиотиков в мочу;
- Р-гликопротеин эндотелиоцитов гистогематических барьеров препятствует проникновению ксенобиотиков в ЦНС, яичники, через плаценту



ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ Р-ГЛИКОПРОТЕИНА (*MDR1*)

Полиморфный маркер	Экзон	Результат полиморфизма
C3435T	26	Снижение экспрессии Р-гликопротеина
G2677T/A	21	Снижение экспрессии Р-гликопротеина
C1236T	12	Снижение экспрессии Р-гликопротеина

- Увеличенная экспрессия Р-гликопротеина в кишечнике ограничивает абсорбцию субстратов Р-гликопротеина, тем самым снижая их биодоступность и предотвращая достижение терапевтических концентраций в плазме;
- Снижение экспрессии Р-гликопротеина приводит к высоким концентрациям в плазме соответствующих ЛС, таким образом, возникает токсичность препарата.

СУБСТРАТЫ P-ГЛИКОПРОТЕИНА

Группа ЛС	Субстраты P-гликопротеина
Противораковые агенты	Актиномицин D, Винкристин и др.
Сердечные препараты	Дигоксин, Хинидин и др.
Ингибиторы ВИЧ-протеазы	Ритонавир, Индинавир и др.
Иммунодепрессанты	Циклоспорин А, Такролимус и др.
Антибиотики	Эритромицин, Левофлоксацин и др.
Цитостатики	Ловастатин, Аторвастатин и др.

Полиморфные маркеры	Изменение активности транспортера	Лекарственные средства	Изменение фармакологического ответа
C3435T G2677T G2677A C1236T	Снижение активности гликопротеин P/ экспрессии гена <i>MDR1</i>	Дигоксин	Гликозидная интоксикация
		Лоперамид	Миоз (сужение зрачка)
		Циклоспорин	Нефротоксичность, нейротоксичность
		Такролимус	Нейротоксичность
		Фексофенадин	Сонливость
		Блокаторы медленных кальциевых каналов	Гиперплазия десен
		Доцетаксел	Миелотоксичность

КЛИНИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПРИ ОБНАРУЖЕНИИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА Р- ГЛИКОПРОТЕИНА (*MDR1*)

- Следует снижать дозу лекарств-субстратов Р-гликопротеина с узкой терапевтической широтой (дигоксин, циклоспорин);
- Не следует применять лекарства-субстраты Р-гликопротеина, нежелательные лекарственные реакции которых связаны с их проникновением через гистогематические барьеры (фексофенадин, лоперамид);
- Назначать препараты с низкой биодоступностью, так как они могут оказаться у лиц с мутациями наиболее эффективными (статины, ингибиторы ВИЧ-протеиназы);
- Назначать препараты, мишени которых расположены в ЦНС, а проникновение через гематоэнцефалический барьер затруднено, так как у этой категории они могут оказаться наиболее эффективными (противосудорожные, галоперидол).

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ ТРАНСПОРТЕРОВ ОРГАНИЧЕСКИХ АНИОНОВ И КАТИОНОВ

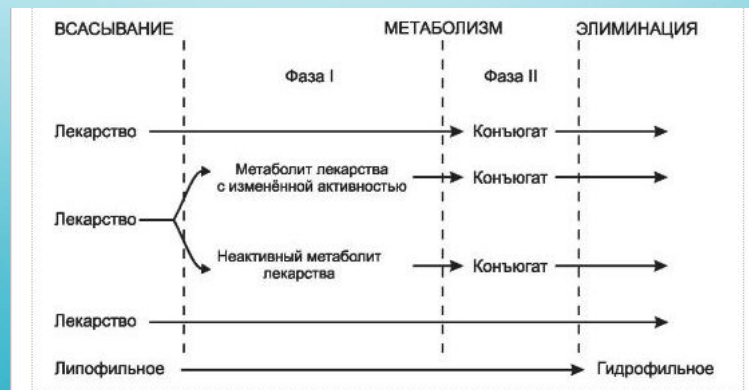
- Трансмембранные белки, ответственные за перенос через мембрану эндогенных веществ и ксенобиотиков различной химической структуры, в том числе ЛС и их метаболитов, общее свойство которых – гидрофильность;
- Транспортёры **органических анионов** формируют суперсемейство Na^+ -независимых транспортных систем, осуществляющих транспорт через мембрану ряда ЛС и их метаболитов.
- Транспортёры **органических анионов** подразделяются на два семейства:
 - органических переносчиков анионов - OAT
 - органических анион-транспортирующих полипептидов – OATP;
- Суперсемейство транспортёров **органических катионов** представлено одним семейством – OST;
- OAT, OATP, OST обнаруживают в печени, почках, головном мозге и кишечнике, что позволяет им играть важную роль во всасывании, распределении и, самое главное - в выведении ЛС. OAT и OST играют наибольшую роль в активной секреции гидрофильных ЛС в проксимальных почечных канальцах в мочу, а OATP - в гепатоцитах в жёлчь;
- К субстратам транспортёров органических анионов и катионов относят ряд широко применяемых ЛС, включая β -лактамные антибиотики, диуретики, нестероидные противовоспалительные средства (НПВС), противовирусные и противоопухолевые средства, ингибиторы ГМГ-КоА-редуктазы (статины).

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ ТРАНСПОРТЕРОВ ОРГАНИЧЕСКИХ АНИОНОВ И КАТИОНОВ

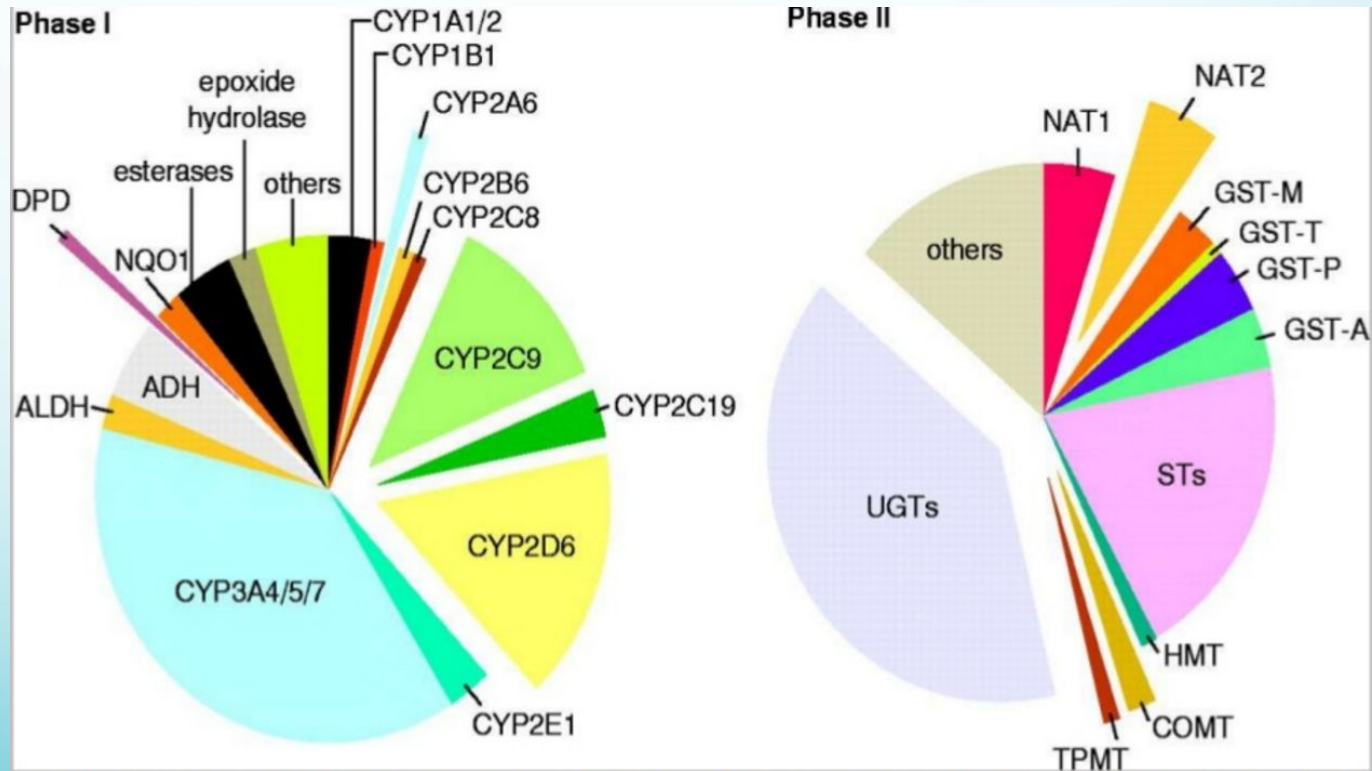
Полиморфизмы	Изменение активности транспортера	ЛС	Изменение фармакологического ответа
ОАТР-С*1b, ОАТР-С15, Т521С, G-11127А	Снижение активности ОАТР-С	Правастатин, Аторвастатин, Симвастатин	Ослабление гиполипидемического действия
Т1628G	Снижение активности ОАТР-С	Правастатин, Аторвастатин	Повышение риска развития миопатий
G-11187А	Снижение активности ОАТР-С	Репаглинид	Гипогликемия

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ФЕРМЕНТОВ БИОТРАНСФОРМАЦИИ

- Биотрансформация - понятие, включающее все химические изменения, происходящие с ЛС в организме. Результат биологической трансформации ЛС: с одной стороны - снижается растворимость веществ в жирах (липофильность) и повышается их растворимость в воде (гидрофильность), а с другой стороны - изменяется фармакологическая активность препарата;
- I фаза биотрансформации (несинтетическая) - представляет собой реакции, в процессе которых ксенобиотики переходят в более гидрофильные соединения благодаря присоединению или освобождению активных функциональных групп (например, $-OH$, $-NH_2$, $-SH$): ;
- II фаза биотрансформации - синтетические реакции - соединение (конъюгация) ксенобиотиков и/или их метаболитов с эндогенными веществами; в результате образуются гидрофильные конъюгаты;



ФЕРМЕНТЫ БИОТРАНСФОРМАЦИИ



Фаза I: реакции биотрансформации: окисление, гидроксилирование, восстановление, гидролиз.

Фаза II: реакции конъюгации - для повышения водорастворимости и элиминации из организма. Реакциями являются глюкуронирование,, ацетилирование, конъюгация с глутатионом, конъюгация с аминокислотами, метелтрование.

ГРУППЫ ИНДИВИДУУМОВ, РАЗЛИЧНЫХ ПО АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ БИОТРАНСФОРМАЦИИ

- **Экстенсивные метаболизаторы** - индивиды с нормальной скоростью метаболизма рассматриваемых ЛС. К этой группе принадлежит большинство населения. Они являются чаще всего гомозиготами по «дикому» аллелю соответствующего фермента;
- **Медленные метаболизаторы** – индивиды со сниженной скоростью биотрансформации определенных ЛС. С генетической точки зрения они являются гомозиготами по функционально-дефектному аллелю гена, кодирующего соответствующий фермент. Иногда выделяют **промежуточных метаболизаторов**, к которым относят гетерозигот по функционально-дефектному аллелю. 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. Часто в их генотипе присутствуют аллели, кодирующие изоформу соответствующего фермента с аномально высокой активностью, либо аллельные варианты, образованные дупликацией (амплификацией) функционально нормальных аллелей. 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.

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ СЕМЕЙСТВА ЦИТОХРОМА P-450

- Цитохром P-450 (цитохром P-450-зависимая монооксигеназа) – общее название ферментов семейства P450;
- Цитохром P-450 - гемопротейн - белок, содержащий гем;
- Осуществляют не только метаболизм ЛС и других ксенобиотиков, но и участвуют в синтезе глюкокортикостероидных гормонов, холестерина, желчных кислот, простаноидов (тромбоксан A₂ и простациклин);
- Наибольшее количество цитохрома P-450 определяют в гепатоцитах. Однако цитохром P-450 обнаруживают и в других органах, например в кишечнике и почках, лёгких и надпочечниках, головном мозге и коже, а также в плаценте и миокарде.

Изофермент цитохрома P-450	Содержание в печени, %	Участие в окислении ЛС, %
CYP1A1	>1	2,5
CYP1A2	13	8,2
CYP2A6	4	2,5
CYP2B6	>1	3,4
CYP2D6	2,5	18,8
CYP2C9	18	15,8
CYP2C19	1	8,3
CYP2E1	7	4,1
CYP3A4	28	34,1

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОЛИМОРФИЗМЫ ГЕНОВ СЕМЕЙСТВА ЦИТОХРОМА P-450

Ген	Аллели, повышающие метаболизм	Аллели, понижающие метаболизм	Аллели с нулевой активностью	ЛС
CYP1A2	+	+	-	Кофеин, пропранолол
CYP2C9	+	+	+	Блокаторы рецептора ангиотензина II, нестероидные противовоспалительные средства, метронидазол, оральные гипогликемические, варфарин
CYP2C19	-	+	+	Антиэпилептические, антидепрессанты, анксиолитики
CYPD6	+	+	+	Антиаритмические, антидепрессанты, антипсихотические, β -адренергические блокаторы, наркотические анальгетики, некоторые противоопухолевые
CYP3A4	+	+	+	Парацетамол, противогрибковые, кокаин, кодеин, циклоспорин А, диазепам, эритромицин, статины, варфарин

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ БУТИРИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ (ПСЕВДОХОЛИНЭСТЕРАЗЫ)

- Бутирилхолинэстераза – катализирует реакцию гидролиза ацетилхолина;
- Фермент катализирует реакцию гидролиза деполаризирующего миорелаксанта суксаметония йодида, широко применяющегося в анестезиологии;

Аллельный вариант	Активность фермента
Asn70Gly	Атипичная бутирилхолинэстераза (снижена)
117ins	Тихая бутирилхолинэстераза (резко снижена)
Thr243Met	Фторрезистентная бутирилхолинэстераза1

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ UDP-ГЛЮКУРОНИЛТРАНСФЕРАЗЫ (UGT)



- Катализирует связывание с глюкуроновой кислотой многих ЛС, эндогенных соединений – билирубина, стероидных гормонов, жирорастворимых витаминов, биогенных аминов, ряда ксенобиотиков, включая пестициды, канцерогены и др;
- Конъюгация с глюкуроновой кислотой ведет к повышению водорастворимости.

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ UDP-ГЛЮКУРОНИЛТРАНСФЕРАЗЫ (*UGT*)

Семейство	Локализация гена	Изофермент	Субстрат
UGT1	1q21-q23	UGT1A2P UGT1A3 UGT1A5 UGT1A4	Имипрамин трифлуоперазин парацетамол пропофол
UGT2	4q13	UGT2B11 UGT2B4 UGT2B9 UGT2B7	Морфин зидовудин оксазепам

***UGT1A1*1B, UGT1A1*26, UGT1A1*60, UGT2B15*2* – аллели со сниженной активностью**

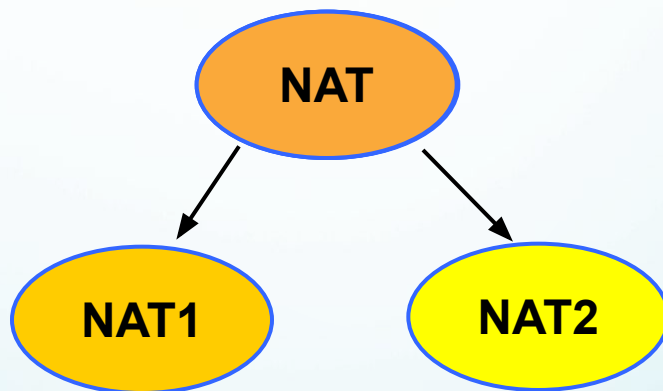
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОЛИМОРФИЗМЫ ГЛЮКУРОНИЛТРАНСФЕРАЗЫ

Наследственные нарушения
глюкуронирования билирубина (*UGT1*):

- Синдром Жильбера (AR)
- Синдром Криглера-Найара



ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ N-АЦЕТИЛТРАНСФЕРАЗЫ (NAT)



Ариламины

Группа ЛС	Название ЛС
Сердечно-сосудистые	Прокаинамид гидралазин
Сульфаниламиды	Сульфасалазин сульфаметоксазол сульфадиазин
Ингибиторы стероидогенеза	Аминоглутетимид
Противотуберкулезные	Изониазид ПАСК
Бензодиазепины	Нитразепам
Другие ЛС	Кофеин

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ N-АЦЕТИЛТРАНСФЕРАЗЫ (NAT)

- Впервые полиморфизм ацетилирования был описан в 1960 г., при этом были выделены «медленные» и «быстрые» ацетиляторы изониазида;
- У «медленных» ацетиляторов в связи с накоплением (кумуляцией) изониазида чаще наблюдаются полиневриты. Так, у «медленных» ацетиляторов период полувыведения изониазида составляет 3 ч, в то время как у «быстрых» ацетиляторов 1,5 ч;
- Распространённость «медленных» ацетиляторов широко варьирует от 10-15% среди монголоидов до 50% среди представителей европеоидной расы. На сегодняшний день известно около 15 мутантных аллелей гена NAT2.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ФАРМАКОДИНАМИКУ ЛС

- Полиморфизмы в генах, кодирующих белки, которые служат фармакологическими мишенями для ЛС (рецепторы, ферменты, ионные каналы и др.);

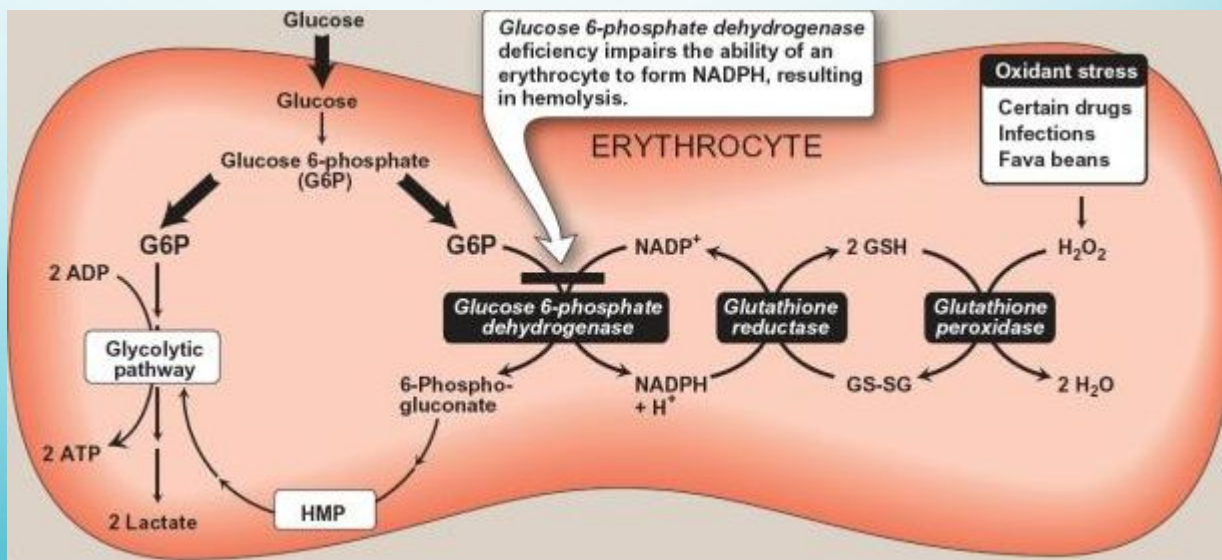
Мишень ЛС	Полиморфизм	Патологические проявления или изменение ответа у носителей мутаций
β 2-Адренорецептор	Gly16Arg	Отсутствие бронхолитического эффекта при применении короткодействующих агонистов β 2-адренорецепторов (альбутерол, сальбутамол) при устранении бронхоспазма
β 1-Адренорецептор (ADRB1)	A145G (Gly49Ser) G1165C (Gly389Arg)	Более интенсивное снижение систолического и диастолического АД как при однократном, так и при длительном применении β -адреноблокаторов. У больных с хронической сердечной недостаточностью присутствие в генотипе аллеля Gly389Arg ассоциировано с изменением эффективности β -адреноблокатора метопролола
Ангиотензинпревращающий фермент (ACE)	Ins/del287N (I/D полиморфизм)	Ингибиторы АПФ у больных гипертонией менее эффективны у лиц с генотипом DD
Факторы свертывания крови	G1691A (фактор V)	Ассоциирован с высоким риском тромбозов и тромбоэмболий при применении комбинированных оральных контрацептивов
Ионные каналы	KCNQ1 KCNH2 SCN5A KCNE1 NDRG1	Удлинение интервала Q-T на ЭКГ и случаи внезапной смерти вследствие развития пируэтной желудочковой тахикардии, которая часто может быть спровоцирована приемом некоторых ЛС

ИЗМЕНЕНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ОТВЕТА ПРИ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

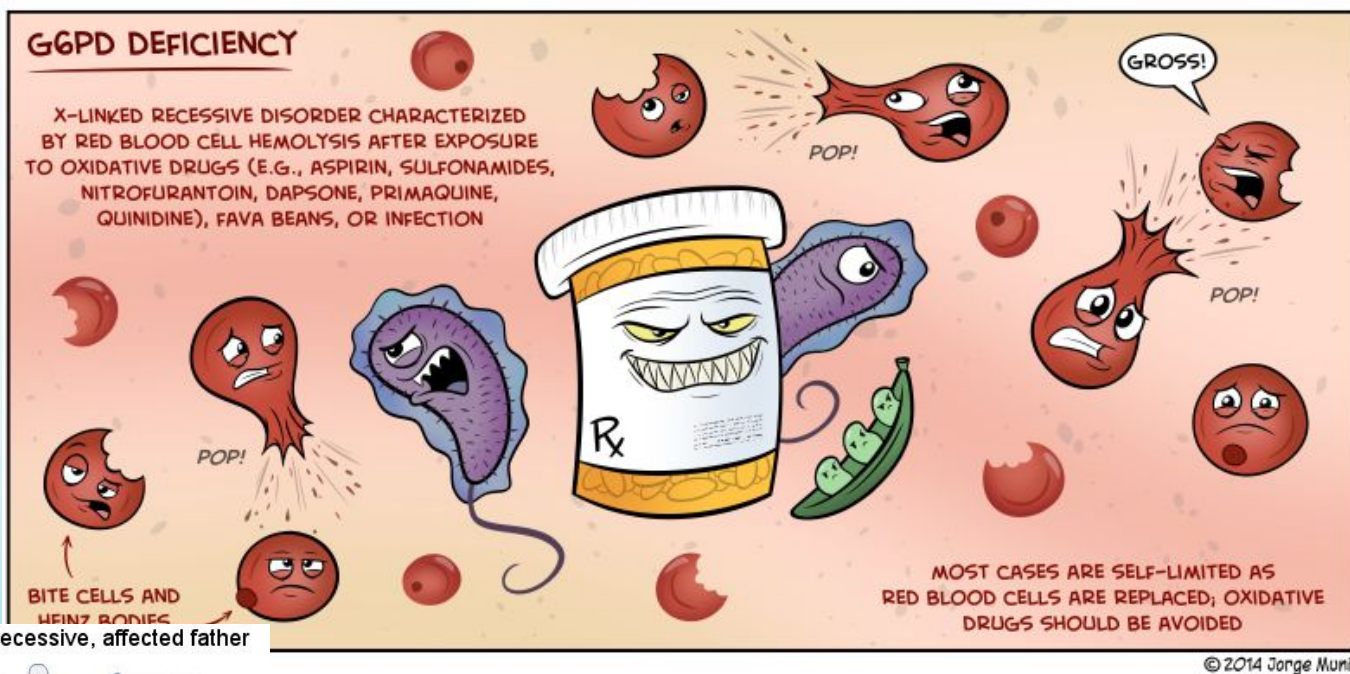
- Недостаточность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы;
- Порфирия.

НЕДОСТАТОЧНОСТЬ (ДЕФИЦИТ) ГЛЮКОЗО-6-ФОСФАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ

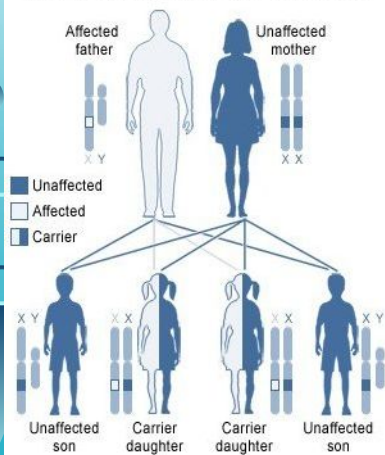
- Ответственен за защиту от окисления сульфгидрильных групп белков клеточных мембран под действием некоторых ЛС;
- Основная функция фермента заключается в восстановлении НАДФ до НАДФН, необходимого для перехода окисленного глутатиона в восстановленную форму;
- Восстановленный глутатион – активный оксидант, защищающий белки клеточных мембран от окисления;
- У больных с недостаточностью фермента при применении ЛС, обладающих окислительными свойствами, происходит гемолиз эритроцитов.



НЕДОСТАТОЧНОСТЬ (ДЕФИЦИТ) ГЛЮКОЗО-6-ФОСФАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ



X-linked recessive, affected father



Формы:

негроидная – ускоренное разрушение фермента;
 средиземноморская – существование дефектного фермента со сниженной функцией.

ИЗМЕНЕНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ОТВЕТА ПРИ ПОРФИРИИ

- Порфирия — наследственное заболевание, в основе которого лежит повышение активности синтетазы δ -аминолевуленовой кислоты, что сопровождается избыточной продукцией этой кислоты и порфобилиногена;
- Различают три формы порфирии, которые наследуются по аутосомно-доминантному типу;
- Клиническая картина обострения заболевания складывается из резких абдоминальных болей, полиневрита, психических нарушений и эпилептических приступов.
- Некоторые ЛС могут провоцировать обострение порфирии.

Опасные лекарственные средства	Потенциально опасные лекарственные средства	Относительно безопасные лекарственные средства	Безопасные лекарственные средства
Феназон, амидопирин®, аминоглутетимид®, барбитураты, блокаторы медленных кальциевых каналов, вальпроевая кислота, гризеофульвин, даназол, дапсон, диклофенак, карбамазепин, кетоконазол, ламотриджин, метоклопрамид, мефенитоин®, нефезадон®, нифедипин, препараты спорыньи, примидон, прогестерон (прогестины), рифампицин, сульфаниламиды, фенилбутазон, хлорпропамид, эналаприл, этосуксимид	Фторурацил, алкилирующие цитостатики, бензодиазепины, бусульфан, гидралазин, диазепам, дилтиазем, препараты золота, ифосфамид, калтоприл, кетамин, лизиноприл, мефенамовая кислота®, мифепристон, метилдопа, налидиксовая кислота, нитразепам, нитрофурантоин, пентазоцин®, пиразинамид, прокарбазин, спиронолактон, теофиллин, трамадол, трициклические антидепрессанты, троглитазон®, цефалоспорины, эстрогены синтетические	Эпинефрин, азатиоприн, динитрогена оксид, аценокумарол, амитриптилин, витамины группы В, аскорбиновая кислота, даунорубицин, дигоксин, доксазозин, ибупрофен, индометацин, колхицин, лабеталол®, препараты лития, лозартан, напроксен, неостигмина метилсульфат, нортриптилин®, пеницилламин, резерпин, препараты гормонов щитовидной железы, тубокурарин®, хлорамфеникол, хлорохин, цизаприд®, циклоспорин, цитарабин, эстрогены природные	Аллопуринол, амилорид®, атропин, парацетамол, ацетазоламид, ацетилсалициловая кислота, бромиды, буметанид, гентамицин, глюкокортикоиды, препараты инсулина, наркотические анальгетики, кумарины, офлоксацин, пенициллины, пропранолол, стрептомицин, суксаметония йодид, тетрациклин, фенотиазины, флуоксетин, хлоралгидрат, циметидин



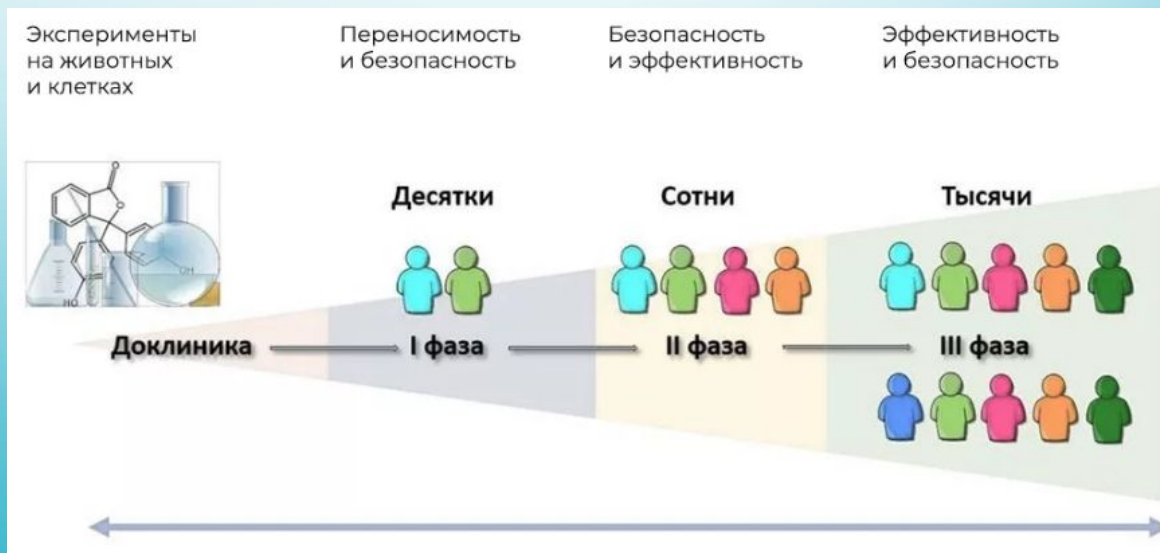
Фармакогенетика в клинических исследованиях

В настоящее время при клинических исследованиях (КИ) начинают использовать фармакогенетическую информацию.

Первоначально при КИ анализируется выборка участников КИ, близкая по определенным генетическим свойствам. После подтверждения эффективности и безопасности исследуемого ЛС на этом этапе начинается этап КИ с привлечением более широкого круга лиц.

На этом этапе решается вопрос, будет ли препарат в той же степени проявлять свою активность и окажется ли он так же безопасным на генетически разнородной популяции пациентов.

На выходе такого исследования не появляется алгоритм учёта генетических факторов в назначении лечащего врача, здесь важен сам факт подобных исследований, который должен обеспечивать безопасность генетически разнородного населения.



ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

- Фармакогенетический тест — идентификация конкретных генотипов, ассоциированных с изменением фармакологического ответа;
- В основе таких тестов лежит ПЦР;
- В качестве источника ДНК (генетического материала) используют кровь больного или соскоб буккального эпителия;
- Результаты фармакогенетического теста представлены идентифицированными генотипами больного по тому или иному полиморфному маркеру;
- Как правило, врач–клинический фармаколог интерпретирует результаты фармакогенетического теста, т.е. формулирует рекомендации по выбору ЛС и его режима дозирования для конкретного пациента;
- Применение таких тестов позволяет заранее прогнозировать фармакологический ответ на применение препарата. Это позволяет подойти к выбору ЛС и режима его дозирования индивидуально, а иногда и выбрать тактику ведения пациентов;
- Внедрение новых технологий тестирования, основанных на микрочипах (ДНК-чипы), позволит определять не отдельный полиморфизм конкретного гена, а проводить тотальный скрининг всех или почти всех аллельных вариантов в геноме человека, ассоциированных с изменением фармакологического ответа на прием ЛС, что, собственно, и является задачей фармакогеномики.

ТРЕБОВАНИЯ К ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКОМУ ТЕСТУ ДЛЯ ВНЕДРЕНИЯ В КЛИНИЧЕСКУЮ ПРАКТИКУ

Наличие выраженной ассоциации между выявляемым аллелем того или иного гена и неблагоприятным фармакологическим ответом (развитие НПР или недостаточная эффективность).

- Выявляемый (как правило минорный) аллель должен встречаться в популяции с частотой не менее 1%.

- Фармакогенетический тест должен обладать высокой чувствительностью, специфичностью.

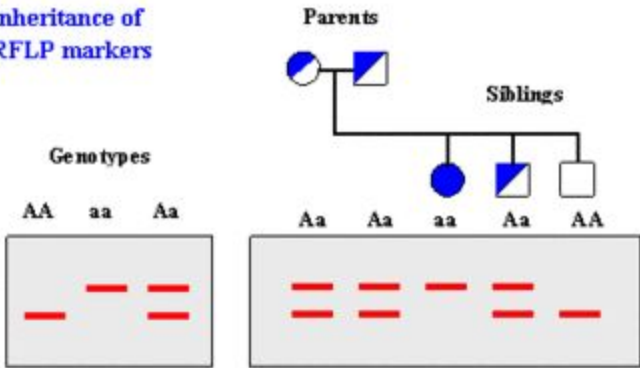
- Должен быть хорошо разработан алгоритм применения ЛС в зависимости от результатов фармакогенетического теста: выбор ЛС, его режима дозирования, «агрессивная» тактика ведения пациента и т.д.

- Должны быть доказаны преимущества применения ЛС с использованием результатов фармакогенетического теста по сравнению с традиционным подходом: повышение эффективности, безопасности фармакотерапии, а также экономическая рентабельность.

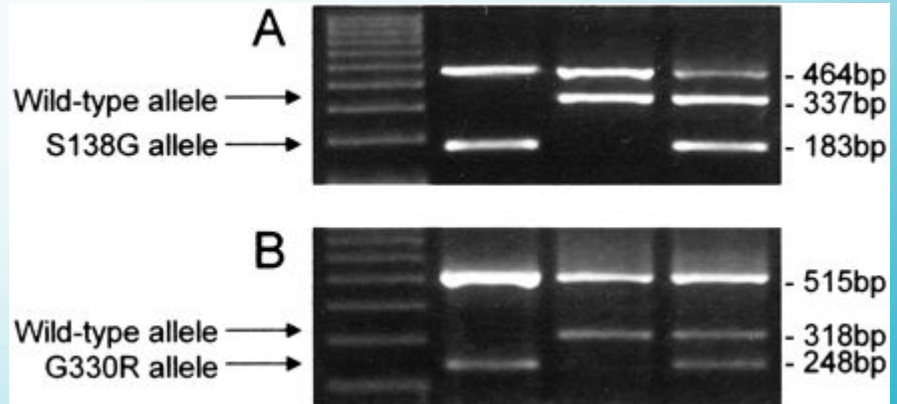
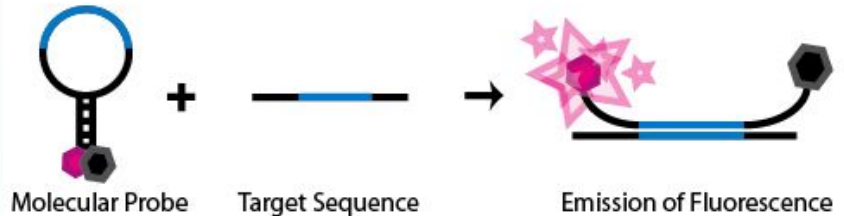
ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

ПЦР и рестрикционный анализ

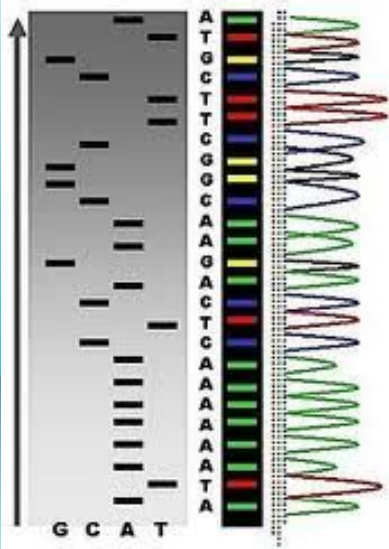
Inheritance of RFLP markers



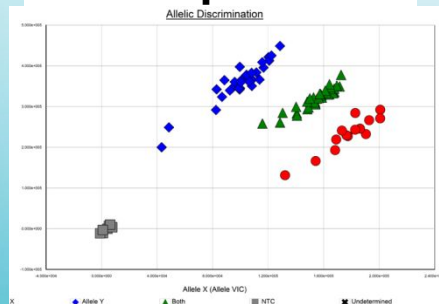
Аллель-специфичный ПЦР



Секвенирование



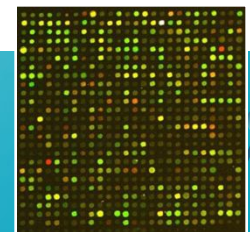
Скрининг с зондами Taqman



Гибридизация на олигонуклеотидных чипах

Гибридизация на олигонуклеотидных чипах с мелкими шариками (beads)

Анализ кривых плавления



ЗНАЧЕНИЕ ФАРМАКОГЕНЕТИКИ

- **Выявление генетических особенностей позволяет ИНДИВИДУАЛЬНО** подойти к выбору ЛС и его режима дозирования, что позволяет повысить эффективность и безопасность фармакотерапии и является экономически оправданным

ПРИМЕРЫ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМОРФИЗМОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ВАРЬИРУЮЩИМИ ОТВЕТАМИ НА ЛЕКАРСТВА

Белок (ген)	Лекарство	Проявление полиморфизма
Белок-переносчик эфиров холестерина (CETP)	Правастатин	Эффективность правастатина при коронарном атеросклерозе (миссенс-мутации)
Белок-переносчик эфиров холестерина (CETP)	Правастатин	Скорость рестеноза при КАС (полиморфизм промотора)
Рецептор активации и пролиферации пероксисом (PRAP2)	Инсулин	Разная чувствительность к инсулину (SNP)
Дофаминовый рецептор D3 (DD3R)	Типичные нейролептики	Развитие поздней дискенизии у больных шизофренией (миссенс-мутации)
Аддуцин (ADD)	Гидрохлортиазид	Эффективность лечения АГ (миссенс, SNP)
Переносчик серотонина (HTT5)	Флувоксамин	Эффективность при галлюцинозорной депрессии (полиморфизм промотора)
Калиевый канал (MIRP1)	Кларитромицин	Индукцированный кларитромицином синдром LQT (миссенс-мутации)
2-адренергический рецептор (ADBR2)	Сальбутамол	Эффективность при бронхиальной астме (Миссенс, SNP)

ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ НЕОБХОДИМЫ В СЛЕДУЮЩИХ КЛИНИЧЕСКИХ СИТУАЦИЯХ

- При длительном применении ЛС (сердечно-сосудистые, психотропные ЛС, гормональные препараты и т.д.)
- При применении ЛС с узкой терапевтической широтой
- При применении ЛС с большим спектром и выраженностью нежелательных лекарственных реакций
- У пациентов из групп риска развития нежелательных лекарственных реакций
- При условии если ЛС может вызвать прогностически неблагоприятное осложнение

КЛИНИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКИХ ТЕСТОВ

- В реальной клинической практике фармакогенетическое тестирование в клинической практике применяется редко;
- Сертифицированных тестов меньше, чем установленных ассоциаций «генотип-НЛР», стоимость их достаточно высока, и они доступны только в крупных городах;
- В России необходимость фармакогенетического тестирования регламентирована приказом Минздрава еще в 2003 году.

ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ТЕСТЫ, РЕКОМЕНДОВАННЫЕ К ПРИМЕНЕНИЮ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ В РАЗЛИЧНЫХ СТРАНАХ

- Антикоагулянты (варфарин, аценокумарол) – гены CYP2C9 и VKORC1
- Антидепрессанты и нейрорепаранты - ген CYP2C9
- Изониазид, пипразинамид, рифампицин – ген NAT2
- Оральные контрацептивы – ген фактора V свертывания (мутация Лейдена)
- Атомоксетин – ген CYP2C9
- Вориконазол – ген CYP2C19
- Карбамазепин – ген HLA-B*1502
- Абакавир – ген HLA-B*5701
- Азатиоприн, 6-меркаптопурин – ген TPMT
- Иринутекан – ген UGT1A1

• В США доступно около 150 тестов

ПРИМЕРЫ ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКИХ ТЕСТОВ, ДОСТУПНЫХ В РФ

- Варфарин
- Клопидогрель (Плавикс, Зилт, Эгитромб) – ген цитохрома CYP2C19 – у примерно 30% пациентов наблюдается редуцированный метаболизм – замена препарата (Брилинта) или увеличение дозы препарата (до 300 мг/сут), а также избегать назначения лекарств со сходным метаболизмом (омепразол, флуконазол, флуоксетин и др.)
- Азатиоприн и 6-меркаптопурин – ген TPMT – маркер риска токсических реакций на препараты – снижение дозы
- Иресса и Тарцева (для лечения немелкоклеточного рака легкого) – препараты эффективны только у 10% больных с мутацией в одном из генов EGFR
- Тесты для определения устойчивости к противоопухолевым препаратам Вектибикс, Эрбитукс, тамоксифену
- Тесты для определения токсичности Иринотекана, 5-фторурацила

Фармакогенетические тесты, использующиеся в клинической практике для персонализации фармакотерапии

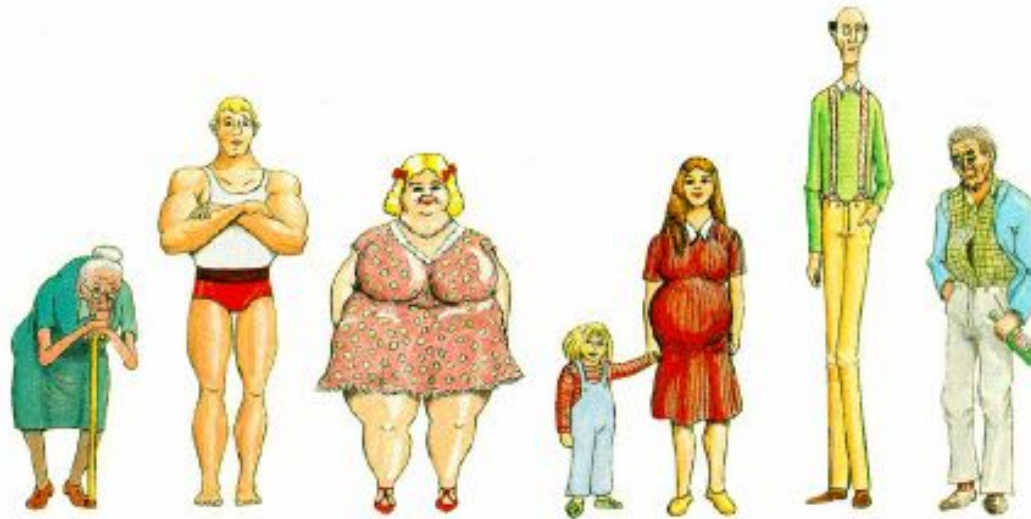
Лекарственные средства	Показания к применению	Фармакогенетический тест	Рекомендованная тактика
Трастузумаб*	Рак молочной железы	Выявление экспрессии HER2 в опухоли	При выявлении экспрессии HER2 в опухоли показано применение трастузумаба
6-меркаптопурин*	Лимфобластный и миелобластный лейкозы	Выявление «медленных» аллельных вариантов гена <i>TPMT</i>	При выявлении гетерозиготного носительства «медленных» аллельных вариантов показано назначение 6-меркаптопурина в минимальной дозе (50 мг/м ² /сутки); при выявлении гомозиготного носительства — воздержаться от применения 6-меркаптопурина.
Тиоридазин*	Шизофрения, маниакально-депрессивный психоз	Выявление «медленных» аллельных вариантов гена <i>CYP2D6</i>	Выявление «медленных» аллельных вариантов является противопоказанием для применения тиоридазина
Трициклические антидепрессанты и нейролептики	Депрессии и психозы	Выявление «медленных» аллельных вариантов гена <i>CYP2D6</i>	При выявлении «медленных» аллельных вариантов необходимо начинать применение антидепрессантов и нейролептиков с минимальных доз
Атомoksetин *	Синдром гиперактивности и нарушения внимания у детей	Выявление «медленных» аллельных вариантов гена <i>CYP2D6</i>	При выявлении «медленных» аллельных вариантов: допускается применение атомoksetина только под контролем терапевтического лекарственного мониторинга (концентрация атомoksetина в плазме крови); не допускаются комбинации с парoksetином, флуoksetином, хинидином
Пергекселина малеат **А	Стенокардия напряжения	Выявление «медленных» аллельных вариантов гена <i>CYP2D6</i>	При выявлении «медленных» аллельных вариантов следует отказаться от применения пергекселина
Варфарин	Профилактика и лечение тромбозов и тромбозм-болических осложнений	Выявление «медленных» аллельных вариантов генов <i>CYP2C9</i> и <i>VKORC1</i>	Расчет начальной дозы варфарина по специальным формулам
Сукцинилхолин (дитилин)	Миорелаксация при проведении оперативных вмешательств	Выявление «медленных» аллельных вариантов гена <i>BCHE</i>	При выявлении «медленных» аллельных вариантов следует отказаться от применения сукцинилхолина
Сульфасалазин	Ревматоидный артрит, неспецифический язвенный колит	Выявление «медленных» аллельных вариантов гена <i>NAT2</i>	При выявлении «медленных» аллельных вариантов поддерживающая доза сульфасалазина не должна превышать 1,5 г/сутки.

Примечание: * — Фармакогенетический тест одобрен FDA.
 ** — Фармакогенетический тест применяется только в Австралии и Новой Зеландии.
 А — Препарат в России не зарегистрирован.

ПЕРСПЕКТИВЫ ФАРМАКОГЕНЕТИКИ - ФАРМАКОГЕНОМИКА

- Разработка ДНК-чипов, которые позволяют определять последовательности всех известных генов, определяющих фармакологический ответ на различные лекарственные средства
- Компания «Affymetrix» разработала электронный чип, способный выявить три тысячи однонуклеотидных полиморфизмов меньше чем за десять минут за несколько сотен долларов.
- В Европе одобрен к применению чип Амличип Р-450, созданный для выбора нейрорептиков и антидепрессантов
- Создание банков ДНК больных, у которых развивались серьезные НЛР, в т.ч. и аллергической природы.
- Понимание генетической чувствительности разных этнических популяций к НЛР
- Выявление ассоциаций для разработки новых тестов персонализированной медицины
- Возможность использовать опыт предшествующих клинических наблюдений

ВСЕ ЛЮДИ РАЗНЫЕ И НА ЛЕКАРСТВА ОНИ «ОТВЕЧАЮТ» ПО-РАЗНОМУ!



Но в реальной жизни
все пациенты не
стандартные, а
значит нужна
персонализация
применения лекарств

Стандартизированный
подход на основе
доказательной
медицины
(стандарты, протоколы,
клинические
рекомендации)



ДОКЛАДЫ НА ТЕМУ «ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННАЯ МЕДИЦИНА»

- 1. Основные понятия персонализированной медицины. Индивидуализированная, прецизионная, предиктивная, стратифицированная. Этапы становления современной концепции персонализированной медицины.
- 2. Генетические методы в концепции персонализированной медицины.
- 3. Биомаркеры заболеваний в концепции персонализированной медицины. Генетические маркеры.
- 4. Молекулярная генетика таргетной терапии.
- 5. Генетическая подверженность инфекционным заболеваниям (туберкулез, сальмонеллез, вирусные гепатиты, вич и др.)

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!