
ЗНАЧЕНИЕ ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ДЛЯ ОПТИМИЗАЦИИ АНТИГИПЕРТЕНЗИВНОЙ ТЕРАПИИ

О.В. Шевченко

Кафедра фармакологии
Саратовский государственный медицинский университет
им. В.И. Разумовского Минздравсоцразвития Росздрава
Б-Казачья, 112, Саратов, Россия, 410012

Е.Н. Бычков

Кафедра психиатрии и наркологии
Саратовский государственный медицинский университет
им. В.И. Разумовского Минздравсоцразвития Росздрава
Б-Казачья, 112, Саратов, Россия, 410012

О.М. Посненкова

Центр продвижения новых кардиологических информационных технологий
Саратовский НИИ кардиологии Минздравсоцразвития России
ул. Чернышевского, 141, Саратов, Россия, 410028

П.Я. Довгалецкий

Саратовский НИИ кардиологии Минздравсоцразвития России
ул. Чернышевского, 141, Саратов, Россия, 410028

С.И. Богословская

Кафедра клинической фармакологии
Саратовский государственный медицинский университет
им. В.И. Разумовского Минздравсоцразвития Росздрава
Б-Казачья, 112, Саратов, Россия, 410012

А.А. Свистунов

Научно-исследовательский институт фармации
Первый московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова
ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, Москва, Россия, 119991

Существенное различие эффективности антигипертензивных препаратов со временем можно будет объяснить фармакогенетическими методами анализа. К выраженной вариабельности фармакологического ответа на препарат могут приводить однонуклеотидные замены в генах, кодирующих ферменты биотрансформации. Работа посвящена изучению аллельных вариантов генов CYP2D6 и CYP2C9 у больных артериальной гипертензией. Показана возможная связь определенных ассоциаций полиморфных вариантов генов с различной индивидуальной чувствительностью к β -адреноблокаторам и блокаторам ангиотензиновых рецепторов.

Ключевые слова: антигипертензивная терапия, цитохром P450, фармакогенетика, биочипы.

Количество пациентов, страдающих от артериальной гипертензии (АГ) и погибающих от ее осложнений, стремительно увеличивается с каждым годом. Распространенность АГ в мире увеличивается в среднем на 4% в год, что соответствует масштабам эпидемии [1]. Реакция пациента на гипотензивную терапию индивидуальна и определяется комплексом молекулярно-генетических, демографических, биохимических и физиологических механизмов.

Важную роль в метаболизме лекарственных средств играют ферменты системы биотрансформации (цитохром P450), для которых характерен высокий уровень полиморфизма генов, кодирующих определенные ферменты [2]. Генетический полиморфизм может отражаться на эффективности антигипертензивной терапии за счет модификации метаболизма препаратов, всасывания, экскреции, изменения структуры и функции рецепторов, на которые они воздействуют. Ученые активно исследуют влияние полиморфизма генов семейства P450CYP2 на индивидуальную чувствительность к антигипертензивным препаратам, так как, по данным большого количества исследований, именно изоферменты этого семейства участвуют в метаболизме препаратов, применяющихся для лечения АГ.

Целью работы явилось выявление ассоциаций носительства аллельных вариантов генов биотрансформации семейства P450CYP2 (CYP2D6 и CYP2C9) со степенью АГ.

Материалы и методы. Обследованы 70 больных с впервые выявленной АГ без ассоциированных клинических состояний (38 женщин и 32 мужчины) в возрасте от 23 до 59 лет. В кардиологическом стационаре г. Саратова проводилось стандартное клинико-инструментальное обследование больных, а также ряд дополнительных биохимических и генетических (исследовались образцы ДНК) анализов. Пациенты по степени АГ были разделены на 3 группы: 1-я группа — больные с I степенью АГ (15 человек); 2-я группа — больные со II степенью АГ (26 человек); 3-я группа — III степенью АГ (29 человек).

На «фармакогенетическом» биочипе определены полиморфизмы генов биотрансформации (CYP2D6 (DelA2637(-/-) и G1934A), CYP2C9 (A1075C и C430T), CYP1A1, CYP2C19 и др.) Используемая тест-система имеет также название «ПФ-биочип» для анализа полиморфизма в генах системы биотрансформации. Тест-система зарегистрирована Федеральной службой Росздравнадзора и разрешена к применению в клинической диагностике.

В настоящее время активно внедряется в клиническую практику методика, разработанная в Институте молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, основанная на гибридизации в микрочайках биологического чипа [3; 4]. Технология анализа генетического полиморфизма предполагает предварительную мультиплексную амплификацию фрагментов ДНК с использованием флуоресцентно меченых праймеров и добавление меченого продукта на биологический чип, где происходит его гибридизация с иммобилизованными в геле зондами. Принцип действия биологических чипов основан на способности комплементарных оснований образовывать химические связи. Специальное программное обеспечение вычисляет интенсивности флуоресцентных сигналов в ячейках и дает ответ, в каких ячейках образовались устойчивые комплексы. Данный метод позволяет анализировать до 50 полиморфных вариантов с точностью более 99%. Использование биологических микрочипов как метода анализа генома имеет существенные преимущества при изучении патогенетических механизмов эссенциальной АГ, а также дает важную информацию о способности организма пациента метаболизировать те или иные антигипертензивные препараты. Описанная методика позволяет выявлять определенные генетические мутации на большой выборке больных АГ. Кроме того, технология изучения биологического материала на основе биочипов высоко-

информативна, удобна в работе, экономически выгодна. (Возможность изучения полиморфизмов генов в ходе исследования предоставлена ООО «Геночип» г. Саратов).

Результаты и их обсуждение. Одними из наиболее часто применяемых антигипертензивных препаратов в настоящее время являются β -адреноблокаторы и блокаторы ангиотензиновых рецепторов. Препараты данных групп метаболизируются в организме с помощью ферментов семейства цитохрома P450 (рис. 1).

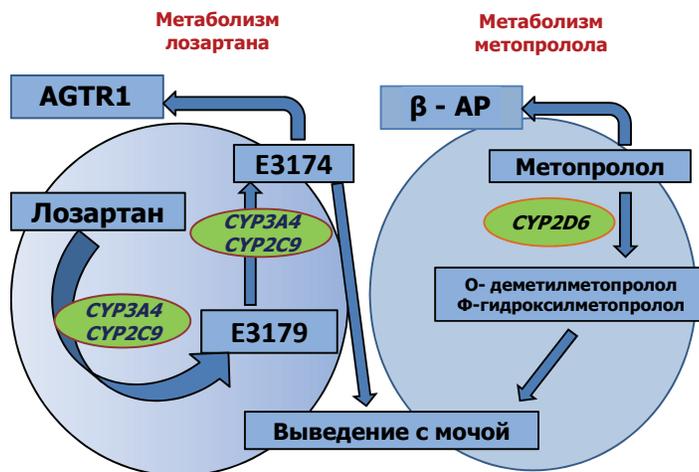


Рис. 1. Последовательность реакций биотрансформации лозартана и метопролола

Представлен пример гибридных картин, полученных на «фармакогенетическом» биочипе (рис. 2). Изучались полиморфизмы следующих генов: CYP1A1 (WT), CYP2C19 (G681A), CYP2C9 (A1075C, C430T), CYP2D6 (delA 2637, G1934A), GSTM1, GSTT1, TPMT, NAT2, MTHFR (C677T). Интенсивность свечения ячеек в одном из образцов («столбец» 4) отражает генотип T/T по аллелю P4502C9*2, что, по данным ряда исследователей, может свидетельствовать о значимом замедлении биотрансформации блокаторов рецепторов ангиотензина [5].

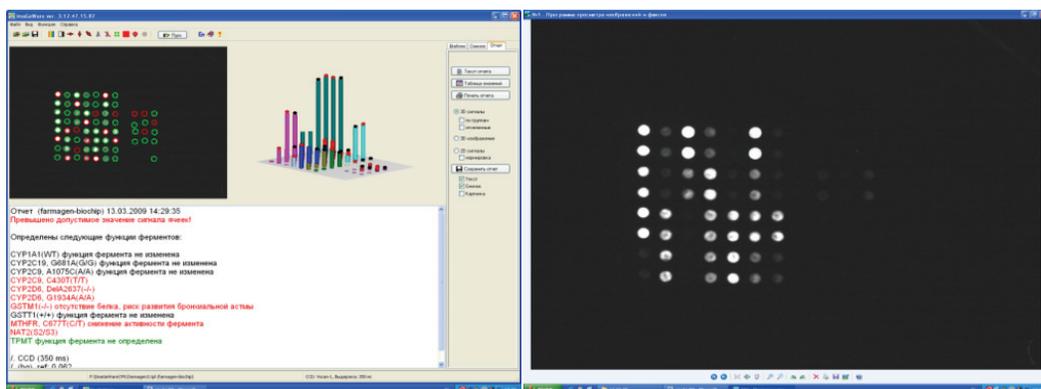


Рис. 2. Интерфейс программы «ImageWare» для «фармакогенетического» биочипа

Главным метаболитом антагонистов рецепторов ангиотензина — лозартана и ирбесартана является цитохром P4502C9 (CYP2C9) — один из основных ферментов системы детоксикации организма от ксенобиотиков. Анализ полиморфизма гена CYP2C9 был первым генетическим тестом, официально одобренным в 2007 г. Комитетом FDA. В отечественной популяции, по данным О.А. Гра, А.С. Glotov, Е.А. Nikitin, количество индивидов со сниженной активностью данного фермента составляет 20%. Проведено не много исследований по изучению влияния полиморфизма гена CYP2C9 на фармакокинетику антагонистов рецепторов ангиотензина. Известно, что с помощью CYP2C9 с образованием промежуточного альдегида (EXP-3179) лозартан биотрансформируется до активного метаболита EXP-3174, который обнаруживается в моче. Есть исследования, показывающие, что носительство аллельных вариантов CYP2C9*2 и CYP2C9*3 приводит к нарушению образования активного метаболита лозартана EXP-3174 за счет снижения активности CYP2C9 [5].

В нашем исследовании из 70 изученных образцов ДНК по полиморфизму гена CYP2C9 лишь в четырех образцах обнаружен генотип C/C по аллельному варианту A1075C, в девяти образцах — генотип T/T по аллельному варианту C430T (табл. 1). Подобное распределение генотипов по указанным аллелям может свидетельствовать о значимом замедлении метаболизма блокаторов ангиотензиновых рецепторов у этих больных. Поиск подтверждения этому предположению будет проводиться в наших фармакокинетических исследованиях.

Таблица 1

Распределение полиморфизмов гена CYP2C9, n = 70

Показатель	Полиморфизм CYP 2C9					
	A1075C			C430T		
	AA	AC	CC	CC	CT	TT
Количество пациентов	26 чел. 37%	40 чел. 57,3%	4 чел. 5,7%	39 чел. 55,7%	22 чел. 31,4%	9 чел. 12,9%

Цитохром 2D6 (CYP2D6) является одним из ферментов системы очистки организма от ксенобиотиков, участвует в метаболизме примерно 20% лекарственных препаратов, в том числе липофильных (метопролол, пропранолол, карведилол, тимолол) и липофильно-гидрофильных (бисопролол, целипролол) β -адреноблокаторов [6; 7].

β -адреноблокаторы давно вошли в практику врача-кардиолога как высокоэффективные препараты для лечения всех форм ишемической болезни сердца, артериальной гипертензии, хронической сердечной недостаточности. Однако ответная реакция β -адреноблокаторов характеризуется значительной межиндивидуальной вариабельностью [8]. Изучено не менее 40 генетических вариантов CYP2D6, приводящих к пониженной метаболической активности фермента, которые используются как фармакогенетические маркеры. Полиморфизм гена CYP2D6 существенно влияет на фармакокинетику некоторых β -адреноблокаторов, что связано с замедлением их биотрансформации, а значит, и побочными реакциями. Учитывая то, что около 6—10% европеоидов относятся к «медленным» метаболитам по этому ферменту, очевидна необходимость в генетическом тестировании CYP2D6 при назначении антигипертензивной терапии.

В нашем исследовании из 70 изученных образцов ДНК по полиморфизму гена CYP2D6 лишь в шести образцах обнаружен генотип А/А по аллельному варианту G1934А. Подобная картина может свидетельствовать о синтезе белка со сниженной активностью или полном отсутствии синтеза белка. Носительство «медленных» аллельных вариантов гена CYP2D6 может сопровождаться также увеличением риска побочных реакций при применении β -адреноблокаторов у пациентов с АГ. Подбор эффективных доз β -адреноблокаторов в зависимости от мутаций генов биотрансформации семейства P450CYP2 (CYP2D6 и CYP2C9) является целью наших будущих исследований.

Изучено распределение полиморфизмов генов CYP2C9 и CYP2D6 среди больных с разной степенью повышения АГ. Частота встречаемости аллельного варианта С/С (А1075С) гена CYP2C9 среди больных с I, II и III степенью АГ составила 28%, 40% и 62% соответственно. Частота встречаемости аллельного варианта Т/Т (С430Т) гена CYP2C9 среди больных с I, II и III степенью АГ составила 22%, 43% и 70% соответственно. Варианты Del/Del и А/А гена CYP2D6 встречались с частотой 28%, 65%, 47% и 15%, 25% и 60% соответственно у больных I, II, III степенью АГ. Отмечаем, что «медленные» метаболиты (гомозиготы по мутантным аллелям А1075С, С430Т гена CYP2C9 и G1934А гена CYP2D6) достоверно чаще встречаются среди больных с III степенью АГ ($p < 0,01$).

Изучение генетических основ метаболизма антигипертензивных препаратов имеет важное клиническое значение для индивидуализации фармакотерапии β -адреноблокаторами и блокаторами ангиотензиновых рецепторов. Выявление дефектных аллельных вариантов генов CYP2D6 и CYP2C9 у больных АГ позволяет не только уточнить патогенез самого заболевания, но и разработать оптимальную тактику антигипертензивной терапии. Персонализированная антигипертензивная терапия является инновационным инструментом для изучения молекулярно-генетических основ заболевания у пациента, проведения индивидуализированной диагностики и подбора необходимых препаратов и доз для эффективной и рациональной фармакотерапии.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Kearney P.M., Whelton M., Renoylds K. et al. Global burden of hypertension: analysis of worldwide // *Lancet*. — 2005. — № 365. — С. 217—223.
- [2] Кукес В.Г., Грачев С.В., Сычев Д.А. и др. Метаболизм лекарственных препаратов. — М.: Гэотар-Медицина, 2008.
- [3] Грядунов Д.А., Зименков Д.В., Михайлович В.М. и др. Технология гидрогелевых биочипов и ее применение в медицинской лабораторной диагностике // *Медицинский алфавит. Лаборатория*. — 2009. — № 3. — С. 10—14.
- [4] Глотов А.С., Наседкина Т.В., Иващенко Т.Э. и др. Создание биочипа для анализа полиморфизма в генах системы биотрансформации // *Молекулярная биология*. — 2005. — № 39 (3). — С. 403—412.
- [5] Yasar U., Forslund-Bergengren C., Tybring G. et al. Pharmacokinetics of losartan and its metabolite E-3174 in relation to the CYP2C9 genotype // *Clin. Pharmacol. Ther.* — 2002. — Vol. 71. — P. 89—98.
- [6] Wuttke H., Rau T., Heide R. et al. Increased frequency of cytochrome P4502D6 poor metabolizers among patients with metoprolol-associated adverse effects // *Clin. Pharmacol. Ther.* — 2002. — Vol. 72(4). — P. 429—437.

- [7] Сычев Д.А., Игнатъев И.В., Раменская Г.В. и др. Клиническая фармакогенетика. Учебное пособие. — М.: Гэотар-Медицина, 2007.
- [8] Метелица В. И. Справочник по клинической фармакологии сердечно-сосудистых лекарственных средств. — 2-е изд. перераб. и доп. — М.; СПб.: ЗАО «Издательство БИНОМ», «Невский диалект», 2002.

THE IMPORTANCE OF PHARMACOGENETIC RESEARCH FOR OPTIMIZATION OF ANTIHYPERTENSIVE TREATMENT

O.V. Shevchenko

Chair of Pharmacology
Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky
Bolshaya Kazachya str., 112, Saratov, Russia, 410012

E.N. Bychkov

Chair of Psychiatry and Narcology
Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky
Bolshaya Kazachya str., 112, Saratov, Russia, 410012

O.M. Posnenkova

Centre of New Cardiological Informational Technologies
Saratov Research Institute of Cardiology
Chernyshevskaya str., 141, Saratov, Russia, 410028

P.Ya. Dovgalevsky

Saratov Research Institute of Cardiology
Chernyshevskaya str., 141, Saratov, Russia, 410028

S.I. Bogoslovskaya

Chair of Clinical Pharmacology
Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky
Bolshaya Kazachya str., 112, Saratov, Russia, 410012

A.A. Svistunov

Research Institute of Pharmacy
First Moscow State Medical University n.a. M.I. Sechenov
Trubetzkaya str., 8, building 2, Moscow, Russia, 119991

As time goes by, significant individuality of antihypertensive drugs effectiveness may be clarified by pharmacogenetic research methods. Pronounced variability of pharmacological response may be caused by mononucleotide substitutions in genes, coding biotransformation enzymes. The present work is dedicated to investigation of allelic variants of functionally defective genes CYP2D6 and CYP2C9 in patients with arterial hypertension. Possible relation of distinct associations of polymorphous gene variants with difference in individual sensitivity to beta-blockers and angiotensin receptor blockers was shown.

Key words: antihypertensive treatment, cytochrome P450, pharmacogenetics, biochips.