



ФАРМАКОГЕНЕТИКА

**основы, современное состояние
и перспективы развития**

ЛЕКЦИЯ 1

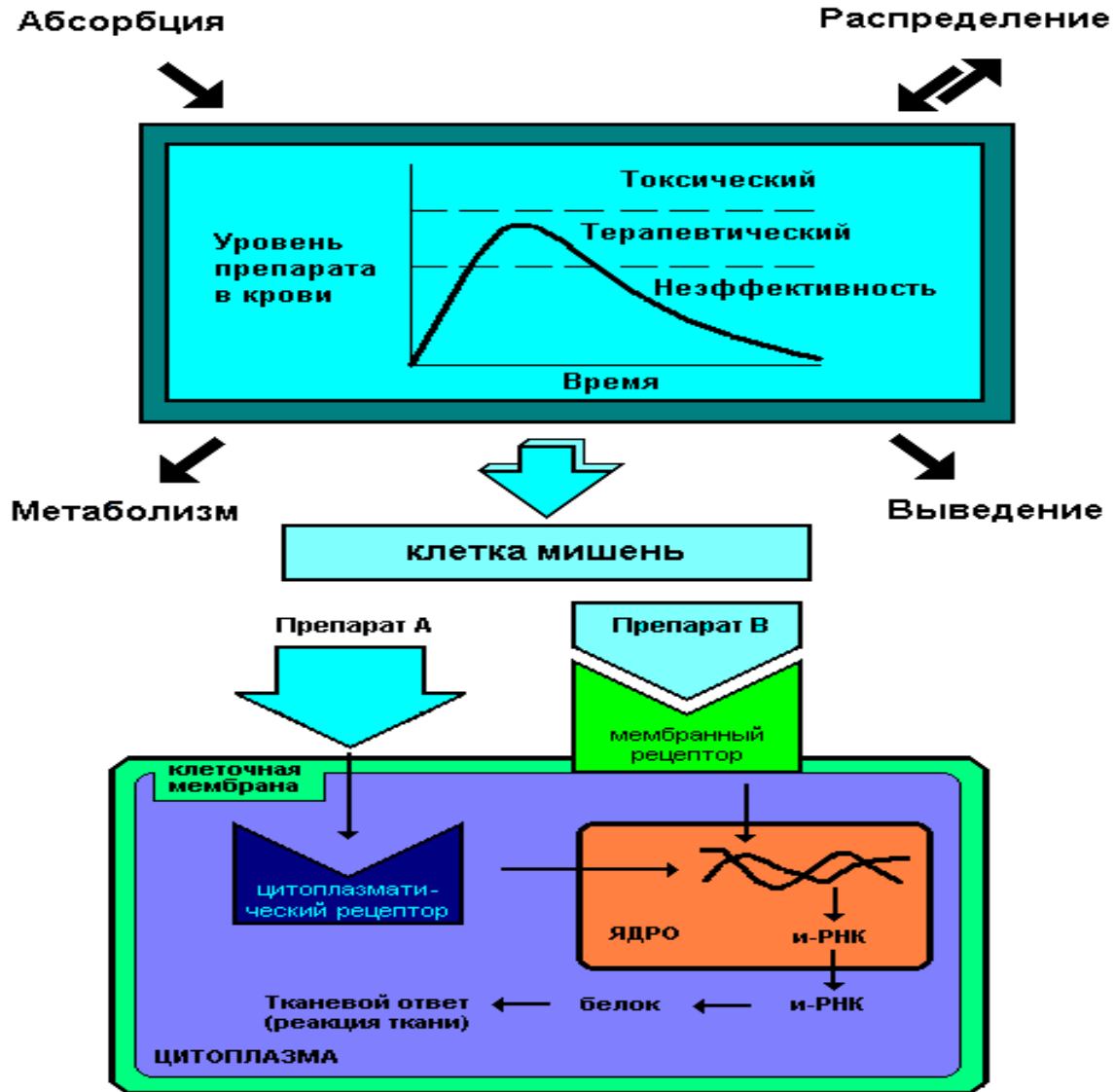
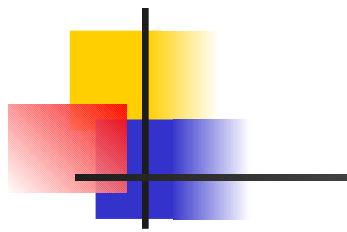


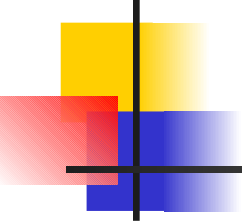
Фармакогенетика

- изучает влияние наследственности на эффекты лекарственных средств

Экогенетика рассматривает роль генетических факторов в формировании реакций на средовые воздействия

Взаимодействие лекарств с организмом





Исторические предпосылки фармакогенетики

Первые упоминания о роли наследственности в эффектах экзогенных соединений:

Работы французского исследователя **Lucien Guenot** и английских ученых **Archibald Garrod** и **William Bateson**, высказавших в 80-х годах 19 века предположение о роли наследственности в процессах химических превращений в организме



Archibald Garrod

- Доказал роль ферментов в детоксикации чужеродных соединений, включая пищевые продукты и лекарства
- Установил индивидуальные различия в активности ферментов
- Доказал, что на индивидуальную токсичность вещества влияет степень его биотрансформации
- Впервые сформулировал идею, что исходно нетоксичные вещества могут образовывать токсичные метаболиты.
- В 1914 г сделал доклад в Британской медицинской ассоциации, посвященный детоксицирующим ферментам



Williams

- выявил основные пути биотрансформации ксенобиотиков микросомальными ферментами печени и разделил эти процессы на две фазы: 1- окисление, восстановление, гидролиз, 2- процессы конъюгации.



Blakeslee

- 20-30-х годах в экспериментальной станции Carnegie изучал способность индивидуумов определять запах розовой и красной вербены
- установил, что $2/3$ обследованных могли чувствовать запах розового, но не красного растения, а остальные – наоборот.



Fox

- в лаборатории Du Pont, наблюдал феномен «**вкусовой слепоты**».
- Обнаружил, что 3/5 обследованных, пробовавших параэтоксифенил-мочевину, находят ее исключительно горькой, тогда как остальные безвкусной.



Snyder

- установил, что «вкусосвая слепота» имеет **аутосомно-рецессивное** менделевское наследование



Первые фармакогенетические феномены

- **1 - Werner Kalow**

Установил различия в активности фермента **бутирилхолинэстеразы** (псевдохоллинэстеразы), приводящие к интоксикации местным анестетиком **прокаином** и миорелаксантом **сукцинилхолином**



Werner Kalow

- установил, что у больных с осложнениями фермент синтезируется в нормальном количестве, однако его аффинность к субстрату значительно снижена.
- Это может быть обусловлено только нарушениями в структуре фермента вследствие мутации.
- Впервые установлена связь между побочным действием лекарства и генетическим дефектом метаболизирующего его фермента.



2 - Alf Alving

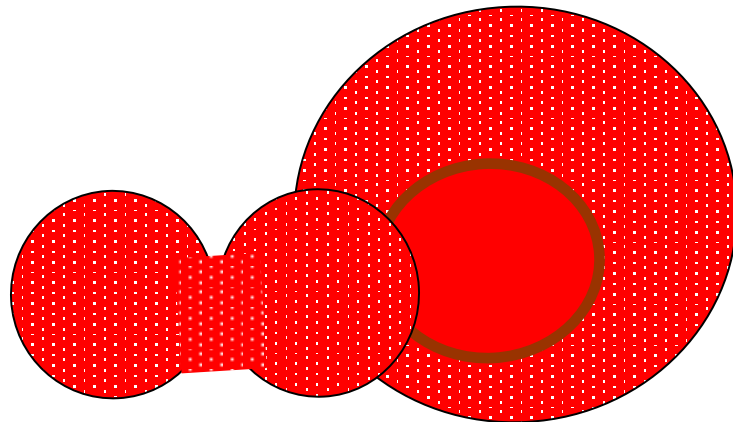
- и его группа проводили апробацию противомалерийного препарата **примахина** на солдатах американской армии.
- Было обнаружено, что примахин вызывает гемолиз у некоторых мужчин африканского происхождения
- Установлена связь с недостаточностью эритроцитарной **глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы.**



Дефицит Г6ФДГ

Глюкозо-6-фосфат + НАДФ $\xrightarrow{\text{Г6ФДГ}}$

6-фосфоглюконат + НАДФ . Н₂







Восстановленный глутатион

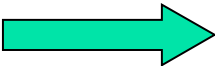
- защищает тиоловые ферменты и гемоглобин от действия различных веществ, **в т.ч. лекарственных окислителей**
- активирует **тиоловые ферменты**, играющие важную роль в поддержании нормальной проницаемости мембран эритроцитов



Недостаточность Г6ФДГ

Уменьшение уровня восстановленного глутатиона 

Снижение активности тиоловых ферментов 

Снижение содержания АТФ, изменение К-На градиента 

Нарушение стабильности мембран эритроцитов 

Препараты, вызывающие гемолиз при недостаточности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы

- Сульфаниламиды
- Сульфоны
- Нитрофураны
- Нитрофуризон
- Гуанидин
- Аналоги витамина К
- Ацетофенидин
- Хлорамфеникол
- Тринитротолуен


Токсические эффекты

ИЗОНИАЗИДА

- Hughes и Smith показали, что изониазид метаболизируется **ацетилированием**

- Изониазид + ацетил-S-КоА

Ацетил-трансфераза



ацетилизониазид + Ко-A-SH



A.Motulsky "Drug Reactions, Enzymes and Biochemical Genetics", 1957

В 1957 г Vogel предложил термин «фармакогенетика»

W.Kalow «Pharmacogenetics: Heredity and response to Drugs» , 1962

"Pharmacogenetics of Drug Metabolism", 1991

Первая международная конференция по фармакогенетике в 1967 г (Нью-Йорк)



Задачи фармакогенетики

- раскрывать фармакодинамические и фармакокинетические механизмы, формирующие неодинаковую чувствительность,
- на их основе определять типизирующие признаки, **маркеры**, которые являются предикторами или прогностическими параметрами фармакологического эффекта у данного индивидуума.



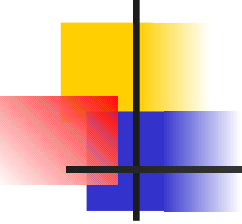
Задачи фармакогенетики

- выбор препарата для типирования, с использованием которого индивидуума можно было бы отнести к тому или иному фенотипу метаболизма.
- популяционные исследования, выявляющие расовые, этнические, географические различия в реакциях на лекарства.



Задачи фармакогенетики

- паспортизация населения по фенотипам как воспринимающих, так и метаболизирующих систем, аналогично тому, что делается для групп крови.


- 
-
- В США от неправильного применения лекарств умирают в год **до 100 000 человек**, что занимает 6-е место среди причин смертности.

Ферменты, участвующие в метаболизме лекарств и имеющие генетические вариации

| | межэтнические различия | ЭСТЕРАЗЫ |
|----|------------------------|---------------------------------|
| 1 | + | Бутирилхолинэстераза |
| 2 | + | Параоксоназа/арилэстераза |
| | | ТРАНСФЕРАЗЫ |
| 3 | + | N-ацетилтрансфераза (NAT1) |
| 4 | + | N-ацетилтрансфераза (NAT2) |
| 5 | + | Катехол-О-метилтрансфераза |
| 6 | 0 | Гистамин метилтрансфераза |
| 7 | 0 | Тиол метилтрансфераза |
| 8 | + | Тиопурин метилтрансфераза |
| 9 | + | Сульфотрансфераза |
| 10 | + | Глутатион-S-трансфераза (GSTM1) |

Ферменты, участвующие в метаболизме лекарств и имеющие генетические вариации

| | | |
|----|---|---|
| 11 | + | Глутатион-S-трансфераза (GSTT1) |
| 12 | 0 | Глутатион-S-трансфераза (GSTM3) |
| 13 | 0 | Глутатион-S-трансфераза (GSTP1) |
| 14 | + | Глюкуроносультрансфераза (UGT1A1) |
| 15 | 0 | Глюкуроносультрансфераза (UGT2B4) |
| 16 | 0 | Глюкуроносультрансфераза (UGT2B7) |
| 17 | 0 | Глюкуроносультрансфераза (UGT2B15) |
| 18 | + | Амобарбитал-глюкозилтрансфераза |
| | | РЕДУКТАЗЫ |
| 19 | + | NAD (P) H:хиноин оксиредуктаза |
| 20 | + | Глюкозо-6-фосфат дегидрогеназа |
| 21 | 0 | Эпоксид гидролаза , микросомальная |
| | | ОКСИДАЗЫ |
| 22 | + | Алкоголь дегидрогеназа, класс 1, ADH2 (β) |
| 23 | + | Алкоголь дегидрогеназа, класс 1, ADH3 (Γ) |
| 24 | + | Альдегид дегидрогеназа, митохондриальная |



| | | |
|----|---|--------------------------------|
| 25 | 0 | Моноаминоксидаза А |
| 26 | 0 | Моноаминоксидаза В |
| 27 | + | Каталаза |
| 28 | + | Супероксиддисмутаза |
| 29 | + | Триметиламин N-оксидаза |
| 30 | + | Дигидропиримидин дегидрогеназа |
| | | ЦИТОХРОМЫ P450 |
| 31 | + | CYP1A1 |
| 32 | + | CYP1A2 |
| 33 | + | CYP2A6 |
| 34 | 0 | CYP2B6 |
| 35 | 0 | CYP2C8 |
| 36 | 0 | CYP2C9 |
| 37 | + | CYP2C18 |
| 38 | + | CYP2C19 |
| 39 | + | CYP2D6 |
| 40 | 0 | CYP2T1 |
| 41 | + | CYP3A4 |
| 42 | + | CYP3A5 |



Положения экспериментальной фармакогенетики (1982 г)

- Наличие значительного числа инбредных линий лабораторных животных позволяет имитировать индивидуальные различия в действии лекарств, наблюдаемые у человека. При отсутствии таких линий регистрация различий в гетерозиготных популяциях позволяет начать селекционную работу.



Положения экспериментальной фармакогенетики (1982 г)

- Возможность регистрации гомологии различий в эффектах лекарств у животных и человека определяется применением комплексов фармакологических методов, которые обладают 90% предикторной значимости при доклинической оценке вновь создаваемых лекарств.



Положения экспериментальной фармакогенетики (1982 г)

- Выявление межлинейных различий в действии лекарства дает основания для построения рабочей гипотезы о фармакодинамических и фармакокинетических механизмах, специфичных для генотипа и определяющих установленные типы эффекта, поскольку основные биохимические процессы, их опосредующие, могут быть также изучены на использованных линиях.



Положения экспериментальной фармакогенетики (1982 г)

- Дает возможность получить **F1 гибриды**. Оценка характера эффекта у F1 поколения и фенотипа опосредующих его механизмов ведет к уточнению гипотезы о наследственной специфике и параметрах **фармакодинамических** и **фармакокинетических процессов**, которые определяют тип эффекта и могут быть отобраны для предикции.



Положения экспериментальной фармакогенетики (1982 г)

- Если отобранные параметры нельзя определить у человека, то следует искать соответствующие коррелирующие показатели в доступных биологических субстратах, либо инструментально измеряемые.

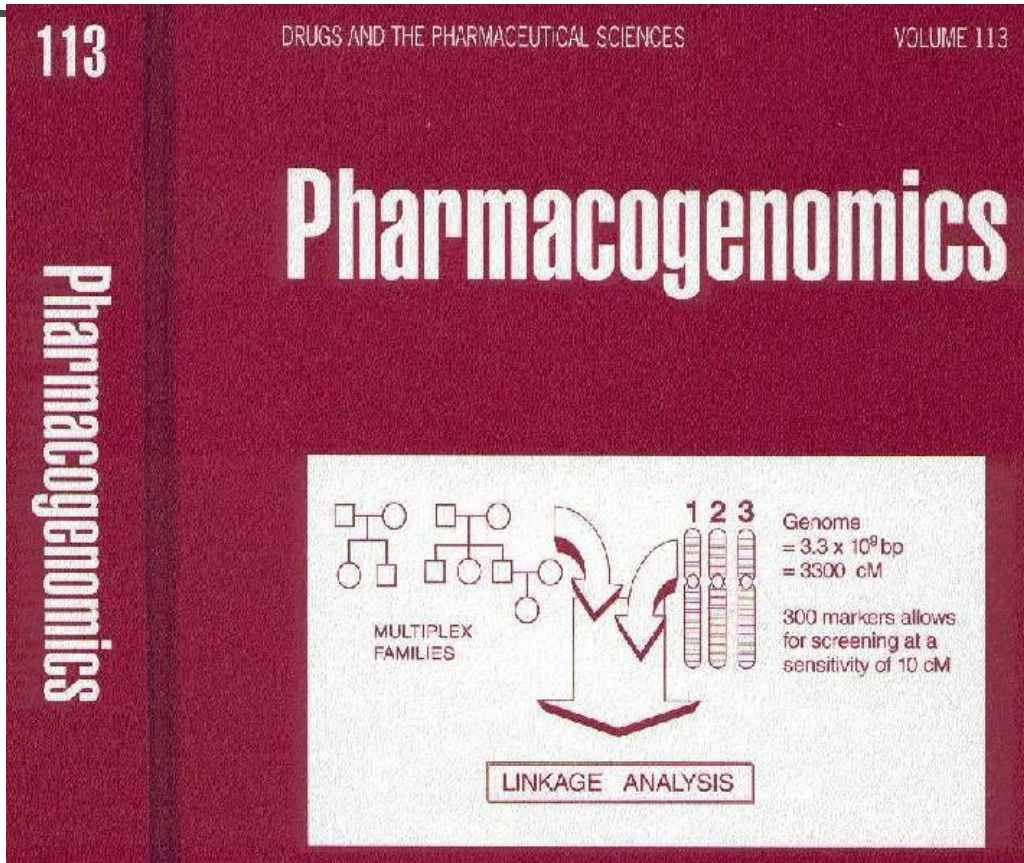


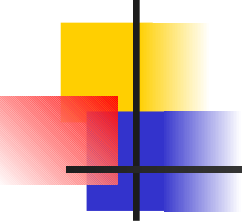
Положения экспериментальной фармакогенетики (1982 г)

- Установленные маркеры должны быть испытаны у человека в качестве **предикторов индивидуальных реакций на лекарство**, в результате чего рабочая гипотеза может быть подтверждена, либо отвергнута.

Pharmacogenomics

Eds. Kalow, Meyer, Tyndale (Marcel Dekker, May 2001)





Фармакогенетика и фармакогеномика

- 1. Методы **фенотипирования**, применявшиеся фармакогенетикой, будут дополняться **генотипированием**. Фенотипирование останется необходимым для понимания медицинского значения обнаруженных в ДНК различий.
- 2. Анализ генома в целом, а не продуктов отдельных генов, позволит ближе подойти к выяснению наследственных основ мультифакториально контролируемых заболеваний. Эти данные могут характеризовать **новые мишени фармакологического воздействия**, будь то гены или белки, вовлеченные в патологические процессы.



Фармакогенетика и фармакогеномика

- 3. **Фармакогенетика** основной целью имеет обеспечение безопасности применения лекарств.
- **Фармакогеномика**, сохраняя эту задачу, определяет возможность создания новых лекарств и совершенствование фармакотерапии.



Цели фармакогенетики:

прогресс в понимании природы ряда заболеваний и лекарственных эффектов;

- **выявление вклада полиморфизмов в восприимчивость к терапии;**
- **обязательное создание персонализированных методов фармакотерапии с высокой эффективностью и отсутствием токсичности,**



Геномика

- Функциональная геномика - подход к глобальному изучению мРНК и белковых продуктов, экспрессирующихся геном, с выявлением их корреляций со специфическими признаками болезни или нарушенных функций (Witzmann)



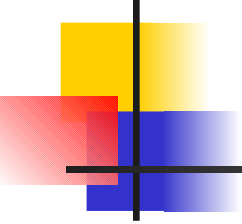
Развитие геномики

- Задача **протеомики** - оценка вклада различий в продуктах генов в формирование патологии.
- Информация протеомики колоссальна по объему, в связи с чем развивается новая наука – **биоинформатика**.

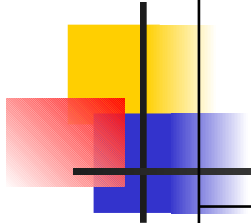


Выборочные медицинские и социальные аспекты проекта "Геном человека" (по F.Collins)

| Декада | Предполагаемые достижения |
|--------|--|
| 2010 | Генная диагностика и патогенетические средства лечения станут доступными примерно для 25 болезней |
| | Среди лекарств будут превалировать малые молекулы, некоторые из них биопроисхождения, включая антисмысловые последовательности нуклеотидов для генной терапии. |
| | Фармакогеномные принципы диагностики и терапии будут использоваться для нескольких лекарств |
| | Медико-генетические подходы будут использоваться на этапе первичной медицинской помощи |
| | В США будут приняты законы, предупреждающие дискриминацию и вмешательство в частную жизнь по генетическим признакам |



| | |
|-------------|---|
| 2020 | На рынке появятся созданные на принципах фармакогеномики средства лечения диабета, гипертонии и других хронических заболеваний |
| | Диагностическое и фармакотерапевтическое использование принципов фармакогеномики будет стандартным для многих лекарств |
| | Изменится диагностика и появятся новые методы лечения психических заболеваний, изменится их социальная оценка |
| | Появятся безопасные методы генной терапии половых клеток, основанные на гомологичных рекомбинациях |
| 2030 | Составлен полный каталог генов, контролирующих старение человека. Выйдут на клинические испытания средства продления жизни. |
| | Полная компьютерная модель человеческой клетки заменит многие лабораторные исследования |
| | Полный анализ генома индивидуума станет рутинным исследованием стоимостью менее 1000\$ |
| | Значительные антитехнологические движения активизируются в США и по всему миру |



| | |
|-------------|---|
| 2040 | Основанное на ясном понимании генома здравоохранение станет нормой. Предрасположенность к болезням может быть определена на самых ранних стадиях (автор ставит знак вопроса, определяя этот этап. Здесь, очевидно, возможны морально-этические проблемы) |
| | Станет доступной и в основном эффективной предупредительная терапия |
| | Молекулярные исследования позволят раннюю диагностику болезней |
| | Генная терапия и воздействующие на ген лекарства будут использоваться для большинства заболеваний |
| | Средняя продолжительность жизни достигнет 90 лет, резко изменяя предшествующие социально-экономические устои |
| | Неравенство в мире будет оставаться, обуславливая международную напряженность |
| | Возникнут серьезные дискуссии о возможности человека вмешиваться в собственную эволюцию |





Полиморфизм бутирилхолинэстеразы, глюкозо-6-дегидрогеназы.



Бутирилхолинэстераза

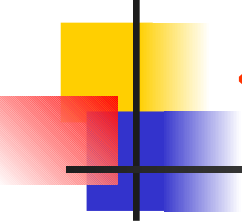
- **BCHE** (E.C. 3.1.1.8.),
- находится в плазме крови
- кодируется одним геном, локализованным в 3q 21-26 (Lochridge, 1990) .

- ацетилхолинэстераза (E.C. 3.1.1.7) – в мембранах эритроцитов



Бутирилхолинэстераза

- Атипичная BChE –
- единичная трансзиция Asp70Gly снижает аффинность для положительно заряженных субстратов. частота 1:3500 среди белых
- "Молчащая" форма BChE
- мутация сдвига рамки в 117 позиции приводит к преждевременному окончанию синтеза белка



Бутирилхолинэстераза; «фторидные» варианты

- **G вариант** - активность снижена на 66%, частота 1 : 150000, **Tre 243 Met**
- **H вариант** - активность снижена на 90%, **Gly 390 Val.**
- **K вариант**, частота 1 : 100, активность снижена на 33%, **Ala 539 Tre.**

Лекарственные средства, гидролизируемые сывороточной бутирилхолинэстеразой (BChE) человека

| Препарат | Назначение | Эффект BChE |
|------------------------------|--|----------------------------------|
| Сукцинилхолин | миорелаксант деполаризующего действия | инактивация |
| Прокаин | местный анестетик | инактивация |
| 2-Хлоропрокаин | местный анестетик | инактивация |
| Меприлкаин | местный анестетик | инактивация |
| Изобукаин | местный анестетик | инактивация |
| Тетракаин | местный анестетик | инактивация |
| Аспирин | аналгетик | инактивация |
| Героин | наркотик | превращение в 6-ацетил морфин |
| Кокаин | стимулятор ЦНС и местный анестетик | |
| Метилпреднизоло на ацетат | противовоспалительное средство | активация |
| Апрофен | антиспазматическое и противосудорожное средство | инактивация |
| Мивакуриум | недеполяризующий мышечный релаксант | инактивация |
| Бамбутерол | бронхорасширяющее средство | активация |



Глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназа (Г6ФДГ, G6PDH)

- G6PDH A и G6PDH A(-) – у черных. G6PDH A имеет нормальный уровень активности в эритроцитах, а G6PDH A(-) – лишь 10% от нормы.
- G6PDH B- у белых
- В результате обработки трипсином было установлено, что в чувствительной к окислителям A-форме присутствуют остатки аспарагиновой кислоты, а в B-форме – аспарагин.
- Транзиция A \square G в 376 Ht



Глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназа (Г6ФДГ, G6PDH)

- снижение ферментной активности А(-) формы обусловлено дополнительной транзицией G \square A в 202 Ht, ведущей к замене Val \square Met в 68 положении.
- G6PDH Santamaria - замена A \square T в 542 Ht, вызывающая замещение Asp \square Val в 181 позиции.



Глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназа (Г6ФДГ, G6PDH)

- У средиземноморского населения наиболее распространена мутация **G** \square **T** в 563 Ht, что ведет к замене **Ser** \square **Phe** в 188 позиции.
- у восточных популяций одна из наиболее распространенных форм G6PDH Canton имеет транзицию в 1376 Ht, ведущей к замене **Arg** \square **Leu** в 459 положении.