

**Казахский Национальный Университет им. Аль-Фараби
Факультет Биологии и Биотехнологии
Кафедра Молекулярной биологии и генетики**

Дисциплина «Фармакогенетика»

**Лекция 10. . Генетический
полиморфизм глюкозо-6-фосфат-
дегидрогеназы (Г-6-ФД) и
рианодинового рецептора 1 типа.**

**Лектор: Амирова Айгуль Кузембаевна
Ассоциированный профессор
Кандидат биологических наук**



Контрольные вопросы:

- 1. Генетический полиморфизм ангиотензинпревращающего фермента.**
- 2. Генетический полиморфизм β 2-брадикининовых рецепторов.**

Цель занятия: Ознакомление студентов с генетическим полиморфизмом глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы (Г-6-ФД) и аденилированного рецептора 1 типа.

План занятия:

- 1. Генетический полиморфизм глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы (Г-6-ФД)**
- 2. Генетический полиморфизм рианодинового рецептора 1 типа.**

Генетический полиморфизм глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы (Г-6-ФД)

Генетический полиморфизм глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы (Г-6-ФД)

Ген глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы (**Г6ФД**; G6PD) человека **локализован в субтеломерной области длинного плеча X-хромосомы в позиции - Xq28** (Pai G.S., 1980 ; Szabo P., 1984).

И недостаточность Г-6-ФД наследуется **сцепленно с X-хромосомой.**

Генетический полиморфизм глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы (Г-6-ФД)

Ген глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы (G6PD) человека состоит **из 13 экзонов и 12 интронов**, что составляет по протяженности 18 kb.

Первый интрон (550 bp) расположен в 5'нетранслируемой области на расстоянии 116 нуклеотидов от иницирующего кодона.

Размер экзонов варьирует от 12 до 236 пар оснований, а размер интронов колеблется от 97 пар оснований до 11 kb.

Недостаточность Г-6-ФД (Г6ФД; G6PD) в эритроцитах: генетическая гетерогенность

Для недостаточности Г-6-ФД подобно гемоглобину S тоже характерна значительная генетическая гетерогенность; описано свыше 400 вариантов этого фермента.

Почти всегда это результат замены одной или нескольких пар нуклеотидов, что приводит к замене одних аминокислот на другие в молекуле Г-6-ФД; Делеции нехарактерны.

Структурные нарушения ведут к изменению электрофоретической подвижности и кинетических свойств фермента, а также оптимального pH и термостабильности.

Недостаточность Г-6-ФД (Г6ФД; G6PD) в эритроцитах: генетическая гетерогенность

Многообразие мутаций лежит в основе клинического полиморфизма: тяжесть заболевания колеблется **от несфероцитарной гемолитической анемии**, проявляющейся спонтанно вскоре после рождения, **до гемолитических кризов**, провоцируемых различной силы окислителями, или отсутствием каких-либо клинических проявлений.

Наследственные гемолитические анемии

Наследственные гемолитические анемии - результат врожденного дефекта одного из трех основных компонентов эритроцитов: мембраны, ферментов или гемоглобина –

- " Мембранопатии эритроцитов ",
- " Ферментопатии эритроцитов " и
- " Гемоглобинопатии ", соответственно.

Недостаточность Г-6-ФД (Г6ФД; G6PD) в эритроцитах: генетическая гетерогенность

Морфологические изменения эритроцитов свидетельствуют о том, что при мембранопатии снижается способность эритроцитов к деформации, поэтому их легко захватывают и разрушают клетки ретикулоэндотелиальной системы.

В мазке крови микросфероциты единичны или совсем отсутствуют, отсюда и название - **наследственные несфероцитарные гемолитические анемии.**

Недостаточность Г-6-ФД (Г6ФД; G6PD) в эритроцитах: генетическая гетерогенность

Нормальный вариант Г-6-ФД называется **вариантом В.**

Примерно **у 20% выходцев из Африки** обнаружена Г-6-ФД, отличающаяся от нормальной одной аминокислотой и электрофоретической подвижностью, но обладающая **нормальной активностью.** Этот вариант Г-6-ФД называется **вариантом А+.**

Недостаточность Г-6-ФД (Г6ФД; G6PD) в эритроцитах: генетическая гетерогенность

Первый по частоте вариант: Из аномальных вариантов Г-6-ФД наиболее распространен **вариант А-**.

Он появляется **в результате замены двух пар нуклеотидов** и встречается главным образом **у выходцев из Экваториальной Африки.**

Вариант **А-** характеризуется **одинаковой** с вариантом **А+** электрофоретической подвижностью, но менее стабилен и имеет другие кинетические свойства.

Вариант А- обнаруживают примерно **у 11 % негров,** проживающих **в США.**

Недостаточность Г-6-ФД (Г6ФД; G6PD) в эритроцитах: генетическая гетерогенность

Второй по частоте аномальный вариант Г-6-ФД встречается преимущественно **у выходцев из средиземноморских стран**, особенно у **евреев-сефардов и сардинцев**.

Этот вариант фермента **еще менее активен, чем вариант А-**, и может стать **причиной несфероцитарной гемолитической анемии**.

Средиземноморский вариант Г-6-ФД менее стабилен и гораздо менее активен, чем вариант А-. Поэтому у больных со средиземноморским вариантом Г-6-ФД заболевание протекает тяжелее.

Третий по частоте аномальный вариант Г-6-ФД вызывает менее тяжелые нарушения и распространен **в Южном Китае**.

Недостаточность Г-6-ФД (Г6ФД; G6PD) в эритроцитах: генетическая гетерогенность

Больные мужчины (**гемизиготы**) наследуют мутантный ген от матери, которая обычно гетерозиготна и является носителем.

По причине инактивации одной из двух X-хромосом гетерозиготы имеют два вида эритроцитов: нормальные и с недостаточностью Г-6-ФД. У большинства носительниц нет симптомов заболевания. У тех из них, у кого преобладают эритроциты с недостаточностью Г-6-ФД, возникают симптомы, сходные с таковыми у мужчин.

Генетический полиморфизм глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы (Г-6-ФД)

Причиной изменения фармакодинамики ЛС могут быть **мутации генов ферментов, ответственных за защиту от окисления сульфгидрильных групп белков клеточных мембран** под действием некоторых ЛС, в частности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФД).

При этом у носителей подобных мутаций **из-за дефицита Г-6-ФД возникает гемолиз эритроцитов** при применении ряда ЛС.

Генетический полиморфизм глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы (Г-6-ФД)

Т.о. гемолиз у больных с недостаточностью Г-6-ФД происходит при применении лекарственных средств и токсинов, обладающих окислительными свойствами.

Чаще всего это **сульфаниламиды, противомаларийные средства и нитрофурантоин**. Как причина гемолиза упоминаются **фенацетин, примахин, салицилаты, витамин К**. Часто упоминается **аспирин**, но на больных с вариантом А- он действия не оказывает.

Примеры ЛС, вызывающие гемолиз эритроцитов представлены в таблице 1.

ЛС, вызывающие клинически выраженный гемолиз эритроцитов		
Дапсон	Сульфаниламид	Хинидин
Фуразолидон	Сульфапиридин	Стрептоцид
Нитрофуран	Салазосульфапиримидин	Налидиксовая кислота
Нитрофурантоин	Сальфаметоксипиридазин	
Сульфаметоксозол	Сульфасалазин	

Примеры ЛС, вызывающие гемолиз эритроцитов представлены в таблице 1.

ЛС, вызывающие гемолиз эритроцитов при определенных условиях		
Антипирин	Ацетилсалициловая кислота	Унитиол
Сульфадиазин	Аскорбиновая кислота	Пробеницид
Витамин К	Хлорохин	Нитраты
Хлорамфеникол	Акрихин	Хинидин

Генетический полиморфизм глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы (Г-6-ФД)

Для понимания этого явления необходимо представлять физиологическую роль Г-6-ФД.

Этот фермент катализирует переход глюкозо-6-фосфата в фосфоглюконат, при этом коферментом этой реакции является НАДФ, который восстанавливается до НАДФН.

Генетический полиморфизм глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы (Г-6-ФД)

НАДФН является важным донором электронов в реакции, где окисленный глутатион превращается в восстановленный под действием глутатионредуктазы.

Образующийся **восстановленный глутатион - активный антиоксидант**, он защищает белки клеточных мембран от окисления.

Генетический полиморфизм глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы (Г-6-ФД)

В условиях **недостаточности Г-6-ФД** уменьшается **образование НАДФН**, и, следовательно, наблюдается **дефицит восстановленного глутатиона**.

В связи с этим при применении ЛС, обладающих окислительными свойствами, возможен гемолиз эритроцитов.

Это происходит из-за отсутствия защиты от окисления сульфгидрильных групп белков их клеточных мембран.

Генетический полиморфизм глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы (Г-6-ФД)

У лиц с недостаточностью Г-6-ФД гемолиз эритроцитов возникает не только при применении ЛС, но и при употреблении некоторых продуктов питания, в частности **конских бобов (*Vicia faba*)**.

По этой причине данное заболевание часто называют **фавизмом**.

Генетический полиморфизм глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы (Г-6-ФД)

Наследование мутаций гена Г-6-ФД, обуславливающих ее недостаточность, сцеплено с полом.

Подобных **мутаций** выявлено **более 50**, однако можно особо выделить **две формы недостаточности Г-6-ФД:**

- «негроидную» и
- «средиземноморскую».

«Негроидная» форма **характеризуется ускоренным разрушением Г-6-ФД**, поэтому гемолизу подвергаются только «старые» эритроциты (старше 55 дней).

Генетический полиморфизм глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы (Г-6-ФД)

При этом острый гемолиз отмечается только при первом применении ЛС и длится несколько дней.

При продолжении применения ЛС имеет место лишь хронический слабо выраженный гемолиз эритроцитов.

«Средиземноморская» форма характеризуется **наличием дефектной Г-6-ФД со сниженной активностью**, поэтому гемолизу подвергаются как «молодые», так и «старые» эритроциты.

Генетический полиморфизм глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы (Г-6-ФД)

При этой форме отмечается выраженный гемолиз эритроцитов, возникающий при первом применении ЛС и продолжающийся в течение всего периода назначения ЛС.

Распространенность **недостаточности Г-6-ФД** варьирует в различных популяциях от 1-15%, в некоторых регионах достигает **30-40% (Азербайджан)**.

В европейской популяции недостаточность Г-6-ФД встречается крайне редко.

**Генетический полиморфизм
рианодинового рецептора 1 типа**

Рианодин-чувствительный канал (рианодиновый рецептор, RyR)

RyR - рианодиновый рецептор **скелетных мышц, сердца и мозга.**

Рианодиновый рецептор - олигомер с молекулярной массой субъединицы **567 кДа** (Anderson, ea 1989).

Анкирин-связывающие последовательности в разных типах RyR высококонсервативны.

Рианодин-чувствительный канал (рианодиновый рецептор, RyR)

Рианодин-чувствительный канал (рианодиновый рецептор, **RyR**) — класс кальциевых каналов в различных возбудимых тканях животных и человека, таких как мышцы и нейроны.

Рианодиновый рецептор (RyR) в мышечных клетках выполняет важнейшую функцию сопряжения потенциала действия с мышечным сокращением.

Рианодин-чувствительный канал (рианодиновый рецептор, RyR)

В скелетных мышцах рианодиновые рецепторы активируются посредством специализированного механизма прямого электромеханического сопряжения, а сокращение сердечной мышцы запускается по механизму Ca^{2+} -индуцированного выброса Ca^{2+} .

Обнаружено 3 изоформы рианодинового рецептора: **RyR1**, **RyR2**, **RyR3**, кодируемые тремя разными генами.

Рианодин-чувствительный канал (рианодиновый рецептор, RyR)

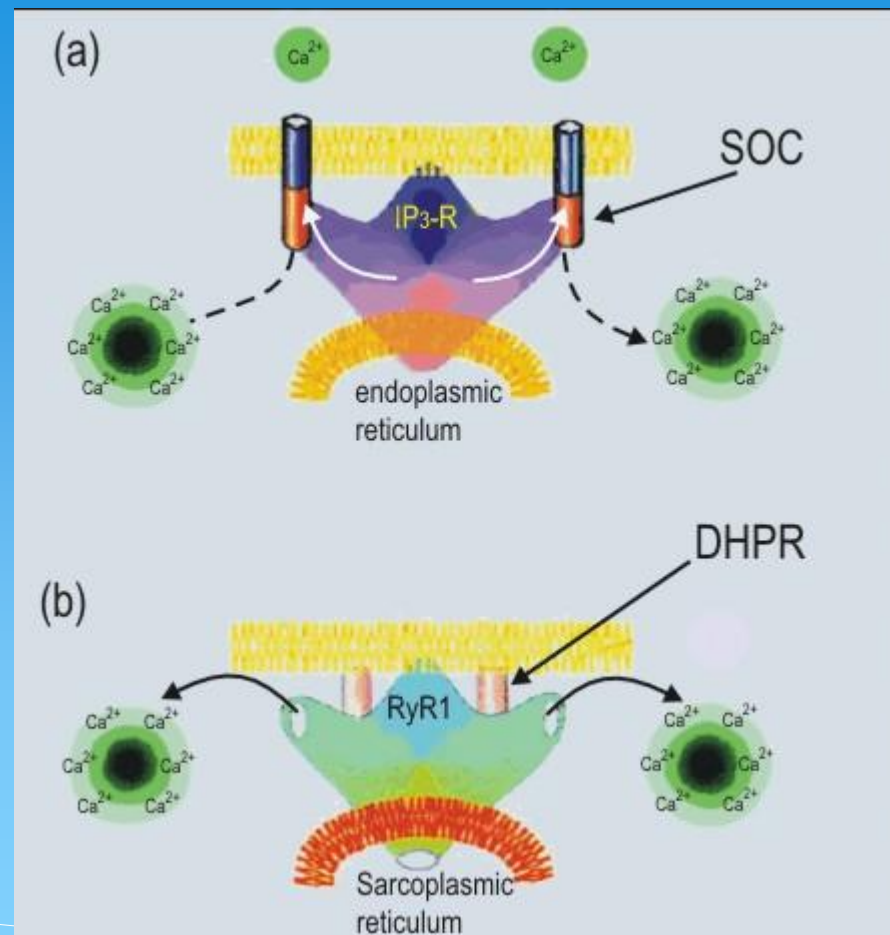
Сайты регуляции рианодин-чувствительных каналов RyR имеют несколько мест регуляции, которая осуществляется **Ca₂⁺, АТР, кальмодулином (КМ), иммунофилином и кальцинеурином.**

Рецептор фосфорилируется СаКМРК II (**СаКМ-зависимая протеинкиназа II**) и дефосфорилируется **кальцинеурином.**

Рианодин-чувствительный канал (рианодиновый рецептор, RyR)

В скелетных мышцах RyR1 расположен на цистернах **СР** (саркоплазматический ретикулум, **СР**) примыкающих к цитоплазматической мембране и его длинный цитоплазматический "хвост" (так называемый "foot"-регион, или "ножка") соприкасается с дигидропериридиновым рецептором (**DHPR**) на плазмалемме.

Рис. Сопряжение рианодинового и IP3 рецепторов с каналами



Модель предполагает, что конформационные изменения в IP3R (a) и RyR (b) могут индуцироваться прямым взаимодействием с белками - каналами плазматической мембраны. (a) - Депо-зависимые каналы (SOC) и (b) - дигидропериридиновый рецептор (DHPR)
http://humbio.ru/humbio/cell_sign3/00038049.htm

Рианодин-чувствительный канал (рианодиновый рецептор, RyR)

Однако, непосредственное функциональное взаимодействие между RyR и DHPR на молекулярном уровне еще не показано. Обсуждается вопрос об участии третьего белка в образовании контакта между RyR и DHPR.

Согласно разным структурным моделям С-конец RyR содержит от до 10 (12) трансмембранных доменов, формирующих мембранную пору.

Активность RyR модулируется **растительным алкалоидом рианодином из коры *Ryania speciosa***, что и определило его название.

Рианодин-чувствительный канал (рианодиновый рецептор, RyR)

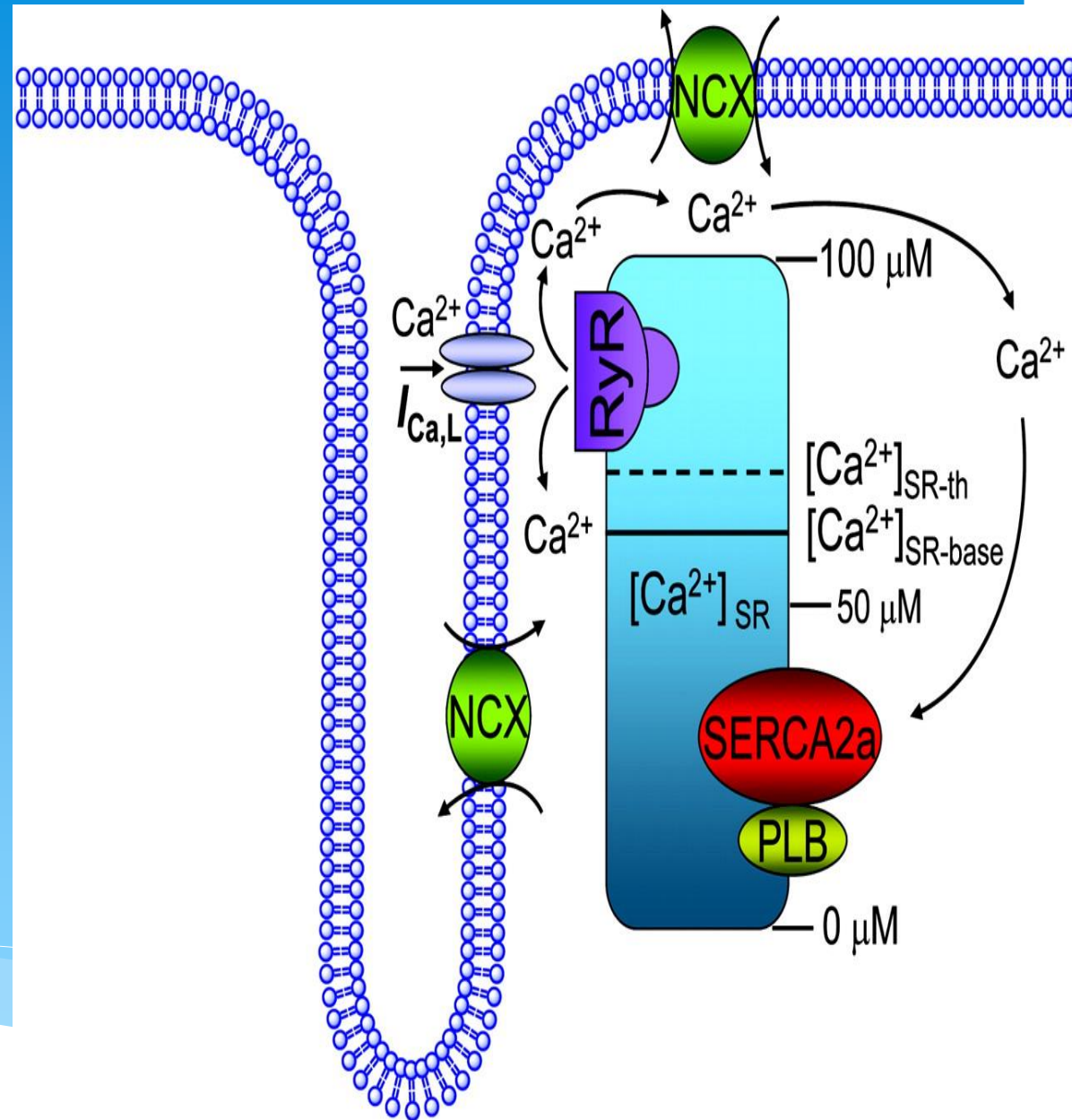
На каналы изолированные из мышц позвоночных и ракообразных рианодин в концентрациях от нМ до мкМ оказывает активирующее влияние, тогда как в концентрациях выше 100 мкМ он вызывает полное закрывание каналов.

Было постулировано, что рианодин связывается с каналом в открытом состоянии.

Рианодиновый рецептор 1-го типа (RyR1)

Рианодин-чувствительный канал клеток впервые застали в действии.

Специалисты Медицинского центра Колумбийского университета впервые реконструировали кальциевый канал RyR1, регулирующий сокращение скелетной мышечной ткани, в активном состоянии. Результаты работы представлены в Cell. 23.09.2016



Рианодинорый рецептор 1-го типа (RyR1)

Рианодинорый рецептор 1-го типа (RyR1) — изоформа олигомера, которая обеспечивает **сокращение скелетных мышц** за счет прямого электромеханического сопряжения. ...

Затем ворота каналов открываются, и в клетку высвобождается кальций, провоцируя сокращение мышц. RyRs были визуализированы в 1988 году.

Генетический полиморфизм рианодинового рецептора 1 типа

Злокачественная гипертермия представляет собой заболевание, возникающее при применении местных анестетиков, препаратов для ингаляционного наркоза, сукцинилхолина.

Для злокачественной гипертермии характерен **аутосомно-доминантный тип** наследования.

Симптоматика злокачественной гипертермии складывается из лихорадочного синдрома, сопровождающегося нарушениями ритма сердца, ОПН, а также некротическими изменениями в поперечно-полосатой мускулатуре.

Генетический полиморфизм рианодинового рецептора 1 типа

Злокачественная гипертермия - это острый синдром с усиленным обменом веществ.

Злокачественная гипертермия впервые была зарегистрирована более 30 лет назад в связи **с высокой частотой смертей при анестезировании** (Denborough et al., 1962 , Britt et al., 1969) **характеризуется повышенной температурой, гиперметаболизмом и мышечным тонусом** при воздействии на восприимчивых индивидуумов общей анестезии, такой как **галотан** , конкурирующий с сукцинилхолином, необходимым для снятия мышечного тонуса (MacLennan & Phillips, 1992).

Генетический полиморфизм рианодинового рецептора 1 типа

В некоторых семьях восприимчивость к подобного рода нарушениям связана с дефектностью рецепторов кальциевых каналов (рианодин) скелетных мышц.

Клонирование рецептора ионного канала свиньи продвинуло понимание механизма заболевания у человека.

В этих исследованиях была выявлена точечная мутация ррианодинового рецептора. Выяснено, что происходит замена остатка Arg у нормальной особи на цистеин у чувствительной (Fujiu et al., 1991). <http://humbio.ru/humbio/01122001/medgen/00064b25.htm#00024ead.htm>

Генетический полиморфизм рианодинового рецептора 1 типа

В основе патогенеза злокачественной гипертермии **лежит увеличение концентрации внутриклеточного кальция**, которое индуцировано вышеперечисленными ЛС.

В последнее время выяснилось, что возникновение злокачественной гипертермии обусловлено носительством ряда аллельных **вариантов гена, кодирующего ррианодиновые рецепторы 1 типа (RYR1)**, расположенного в **локусе 19q13.1**.

Генетический полиморфизм рианодинового рецептора 1 типа

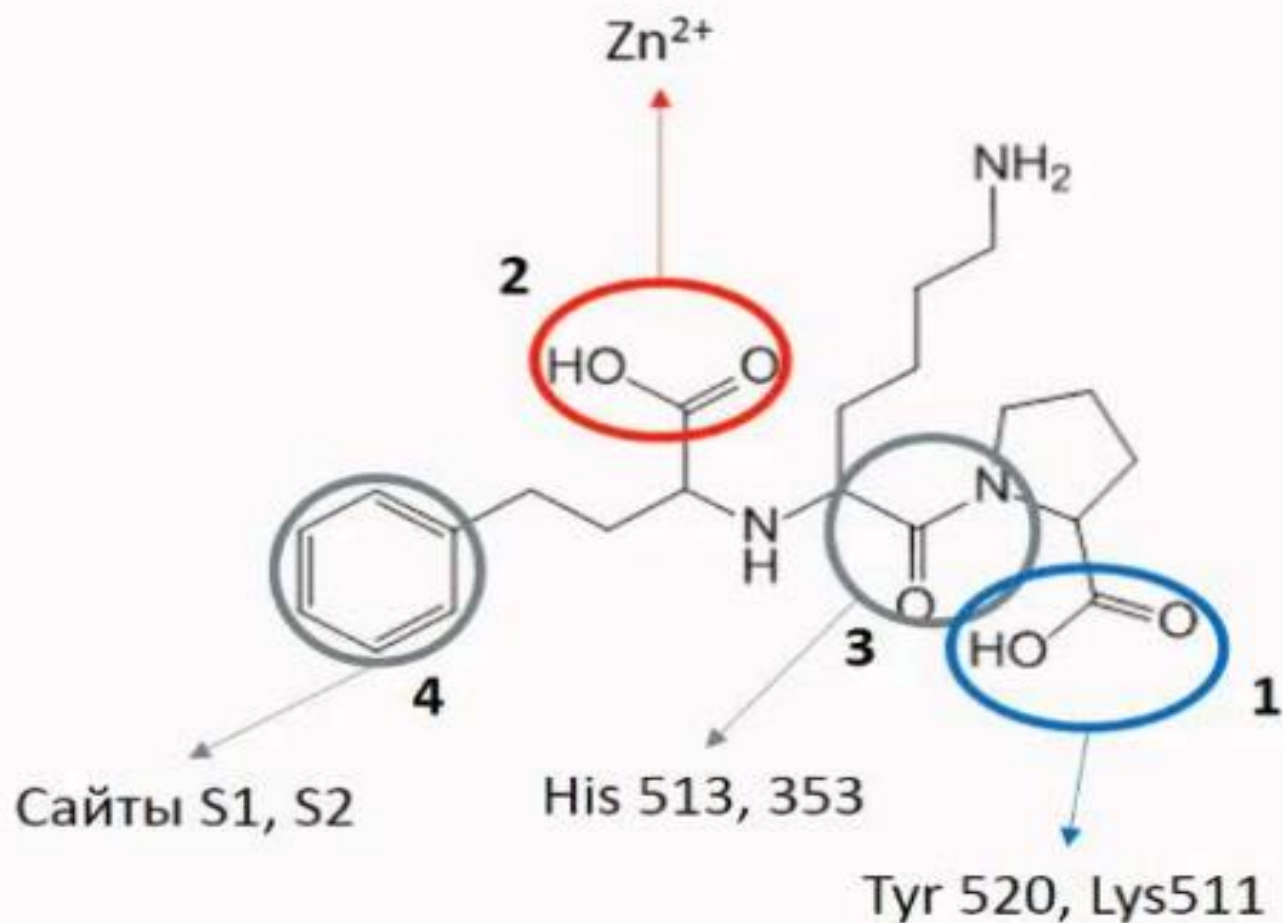
На сегодняшний день выявлено **более 40 аллельных вариантов гена RYR1**, ответственных за развитие злокачественной гипертермии.

Обсуждается вопрос о целесообразности идентификации этих мутаций у всех пациентов, которым предполагается использовать местные анестетики, препараты для ингаляционного наркоза или сукцинилхолин.

1. Ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (иАПФ)

- Механизм действия – блокада активности ангиотензинпревращающего фермента
- АПФ – важнейшая молекулярная мишень для лечения сердечно-сосудистых заболеваний
- Препараты: **каптоприл, эналаприл, лизиноприл, рамиприл, периндоприл, фозиноприл, хинаприл, трандолаприл, спираприл, моэксиприл, цилазаприл**

Молекулярная фармакодинамика иАПФ



- Связываются с АПФ четырьмя группами
- Обязательно наличие в молекуле двух кислотных групп:

1. **Одна** (карбоксильная) связывается с тирозином 520 и лизином 511
2. **Другая** связывает ион цинка в составе АПФ

Лизиноприл – активное лекарство

Классификация иАПФ

1. По химической структуре

▪ иАПФ классифицируются на основе типа содержащейся в них кислотной группы, связывающей ион цинка:

1. Содержащие карбоксильную группу: **эналаприл, лизиноприл, рамиприл, периндоприл**, трандолаприл, спираприл, хинаприл, моэксиприл, цилазаприл
2. Содержащие сульфгидридную группу: **каптоприл**, зофеноприл
3. Содержащие фосфатную группу: фозиноприл

Активат
Чтобы акт

2. По фармакологической активности

▪ Вторая кислотная группа активна не у всех препаратов, у большинства она связана в виде сложного эфира

1. Активные лекарства: каптоприл, лизиноприл
2. Пролекарства: эналаприл, рамиприл, периндоприл и все остальные

Классификация иАПФ

3. По продолжительности действия

1. Короткого действия (6 ч): каптоприл
2. Среднего действия (12 ч): эналаприл, мозексиприл
3. Длительного действия (24 ч): лизиноприл, рамиприл, периндоприл и все остальные

Метаболизм иАПФ-пролекарств



- Метаболизм протекает в стенке кишечника и печени
- Ферменты – эстеразы
- Гидролиз необходим для активации второй кислотной группы, связывающей Zn^{2+}

Классификация иАПФ

4. По растворимости

1. Гидрофильные: лизиноприл
2. Липофильные: каптоприл, эналаприл, рамиприл, лизиноприл, периндоприл и все остальные

- Липофильные – пролекарства за исключением каптоприла
- Имеют более высокую биодоступность

Классификация иАПФ

5. По путям элиминации

1. Элиминируются почками: каптоприл, лизиноприл, эналаприл, периндоприл, цилазаприл
2. Элиминируются печенью и почками: рамиприл, фозиноприл, хинаприл, моэксиприл, спираприл, трандолаприл

Классификация иАПФ

6. По воздействию на типы РААС

1. Действующие на циркулирующую РААС: каптоприл, эналаприл
2. Действующие на циркулирующую и тканевую РААС: лизиноприл, рамиприл, периндоприл и все остальные

Фармакокинетика иАПФ

Препарат	Активное вещество	Биодоступность (%)	Связь с белками (%)	Период полувыведения (ч)	Путь элиминации
Каптоприл	Каптоприл	65-70	23-31	2-6	Почки
Эналаприл	Эналаприлат	40-60	50-60	2-11	Почки
Периндоприл	Периндоприлат	60-80	20	27-53	Почки
Лизиноприл	Лизиноприл	6-60	5-10	7-13	Почки
Рамиприл	Рамиприлат	55-65	56	23-48	Почки/Печень
Зофеноприл	Зофеноприлат	70-78	88	4,5	Почки/Печень
Спиреприл	Спиреприлат	28-69	89	40	Почки/Печень
Моэксиприл	Моэксиприлат	22	50-72	10	Почки/Печень
Фозиноприл	Фозиноприлат	32-36	95-98	12-15	Почки/Печень

Фармакодинамика иАПФ (1)

- **Ангиотензинпревращающий фермент** – дипептидиловая карбоксипептидаза (протеаза), отщепляющая два аминокислотных остатка от С-конца белковых цепей эффекторных вазоактивных пептидов:
 - Ренин-ангиотензин-альдостероновой системы
 - Калликреин-кининовой системы
- Другое название – **кининаза II**

- Катализирует 2 основные реакции:
 1. Ангиотензин I (неактивный) → Ангиотензин II (активный)
 2. Брадикинин (активный) → низкомолекулярные кинины (неактивные)

Ингибиторы брадикинина (B1, B2)

- * Локализация рецепторов – чувствительные нервные окончания, ЦНС.
- * B1 – важны при хронической боли
- * B2 – стимуляция при острой боли
- * Стимулируют выделение других медиаторов боли и воспаления – простагландинов, цитокинов.
- * Эндогенный агонист – *брадикинин*
- * Антагонисты – разработаны пептидные препараты, имеют сложности с использованием: вводятся только инъекционно. Существующие непептидные B1-2 блокаторы недостаточно безопасны.
- * Эффекты блокады B1и B2 рецепторов – мощная анальгезия при воспалении, угнетается тактильная и температурная чувствительность.

Брадикинин рецептора В 2 является G-белком рецептор для брадикинина , кодируемый BDKRB2 гена в организме человека.

- * Пептид брадикинина из 9 аминокислот вызывает множество реакций, включая расширение сосудов , отек , спазм гладких мышц и стимуляцию болевых волокон.**
- * Большинство эффектов брадикинин осуществляет через В2 рецепторы, которые экспрессируются в различных тканях и при связывании с брадикинином участвуют в развитии боли и воспаления , особенно в дыхательных путях и при кардиоваскулярной ишемии.
- * Взаимодействие брадикинина с В1 рецепторами вызывает гиперальгезию, связанную с хроническим воспалением. Активация рецепторов брадикинина приводит к мобилизации внутриклеточного Ca^{2+} с последующим активированием протеинкиназы С , запускающей каскад передачи сигнала внутри клетки через вторичные мессенджеры, такие как оксид азота (NO), циклический гуанозинмонофосфат (cGMP), простагландины (PG2).
- * Образование этих мессенджеров в эндотелиальных клетках и поступление их в гладкомышечные клетки обеспечивает процесс сосудистой релаксации.

Контрольные вопросы:

- 1. Генетический полиморфизм глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы (Г-6-ФД)**
- 2. Генетический полиморфизм рианодинового рецептора 1 типа. <https://studfile.net/preview/2910070/>**

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!