

**Казахский Национальный Университет им. Аль-Фараби
Биологический факультет
Кафедра Молекулярной биологии и генетики**

Дисциплина «Фармакогенетика»

**Лекция 7. Роль полиморфных вариантов генов,
кодирующих ферменты II фазы
биотрансформации лекарственных средств, в
фармакологическом ответе.**

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



Контрольные вопросы:

- 1. Ферменты I фазы биотрансформации лекарственных средств.**
- 2. Семейство цитохромов P450.**
- 3. Ингибиторы и индукторы цитохрома P450.**
- 4. Дигидропиримидин дегидрогеназа (ДПДГ).**
- 5. Параоксоназа.**
- 6. Бутирилхолинэстераза**
- 7. S-метилтрансфераза.**
- 8. Алкогольдегидрогеназа.**
- 9. Роль полиморфных вариантов генов, кодирующих ферменты I фазы биотрансформации лекарственных средств, в фармакологическом ответе.**

Цель занятия: Ознакомление студентов с ролью полиморфных вариантов генов, кодирующих ферменты II фазы биотрансформации лекарственных средств, в фармакологическом ответе.

План занятия:

- 1. Ферменты II фазы биотрансформации лекарственных средств.**
- 2. УДФ-глюкуронилтрансфераза (UGT).**
- 3. N-ацетилтрансфераза.**
- 4. Тиопурин S-метилтрансфераза.**
- 5. Сульфотрансфераза (SULT).**
- 6. Эпоксидгидроксилаза (EPHX).**
- 7. Глутатион-S-SH-трансфераза.**

Ферменты II фазы биотрансформации лекарственных средств.

Во II фазе биотрансформации лекарственных средств осуществляется конъюгация их или их метаболитов с эндогенными веществами с образованием гидрофильных конъюгатов.

УДФ-глюкуронилтрансфераза (UGT).

Глюкуронирование является наиболее важной реакцией II фазы метаболизма лекарств.

К лекарственному средству присоединяется УДФ за счет катализа с помощью ферментов УДФ–глюкуронилтрансфераз, включающих два семейства и более 20 изоферментов.

Они катализируют большое число лекарств (морфин, хлорамфеникол, парацетамол и др.), их метаболитов, гормонов, пестицидов, канцерогенов.

УДФ-глюкуронилтрансфераза (UGT).

Физиологической функцией UGT является **глюкуронирование** эндогенных соединений (например, билирубина).

Глюкуронированию подвергаются лекарственные средства из следующих групп: **фенолы** (пропофол, парацетамол); **спирты** (хлорамфеникол, кодеин, оксазепам); **алифатические амины** (ламотриджин, amitриптилин); **карбоновые кислоты** (фенилбутазон и др.); **карбоксильные кислоты** (напроксен, кетопрофен).

УДФ-глюкуронилтрансфераза (UGT).

Наследственное нарушение глюкуронирования билирубина наблюдается при **синдромах Жильбера и Криглера-Найяра**.

Мутации в гене UGT1 приводят к синтезу UGT с активностью на 25-30% меньшей по сравнению с нормой, поэтому у больных с синдромом Жильбера наблюдается снижение клиренса толбутамида, парацетамола, рифампицина.

УДФ-глюкуронилтрансфераза (UGT).

Другие генетические полиморфизмы генов, кодирующих разные изоформы UGT, влияют на фармакокинетику и фармакодинамику лоразепама, морфина, карведилола и других лекарств.

Исследование полиморфизма гена UGT1A1 разрешено в США для коррекции терапии иринотеканом (высокоэффективным цитостатиком) с целью профилактики развития гипербилирубинемии.

N-ацетилтрансфераза.

N-ацетилтрансфераза катализирует реакцию ацетилирования ряда ЛС, в том числе изониазида, сульфаниламидов, прокаинамида, гидралазина и др.

Выделено два изофермента N-ацетилтрансферазы: N-ацетилтрансфераза 1 (NAT1) и N-ацетилтрансфераза 2 (NAT2).

Изофермент NAT1 ацетилирует небольшое количество ариламинов и не обладает генетическим полиморфизмом.

N-ацетилтрансфераза.

Таким образом, основной фермент ацетилирования – изофермент NAT2.

Ген NAT2 локализован в хромосоме 8p23, известно более **20 мутантных аллелей**.

В зависимости от активности фермента NAT2 все люди разделяются на «быстрых», «промежуточных» и «медленных» ацетиляторов.

N-ацетилтрансфераза.

Впервые фармакогенетические закономерности NAT2 были установлены в 1960-е годы на примере лечения изониазидом больных туберкулезом.

Было отмечено, что у «медленных» ацетиляторов в связи с накоплением (кумуляцией) изониазида чаще наблюдаются полиневриты.

N-ацетилтрансфераза.

Так, у «медленных» ацетиляторов период полувыведения изониазида составляет 3 ч, в то время как у «быстрых» ацетиляторов 1,5 ч. То есть, механизм токсического действия препаратов связан с медленным выведением лекарств из-за сниженной скорости ацетилирования, а следовательно, и выведения препарата. Происходит накопление препарата.

Распределение индивидов по скорости ацетилирования представлено на рисунке 1.

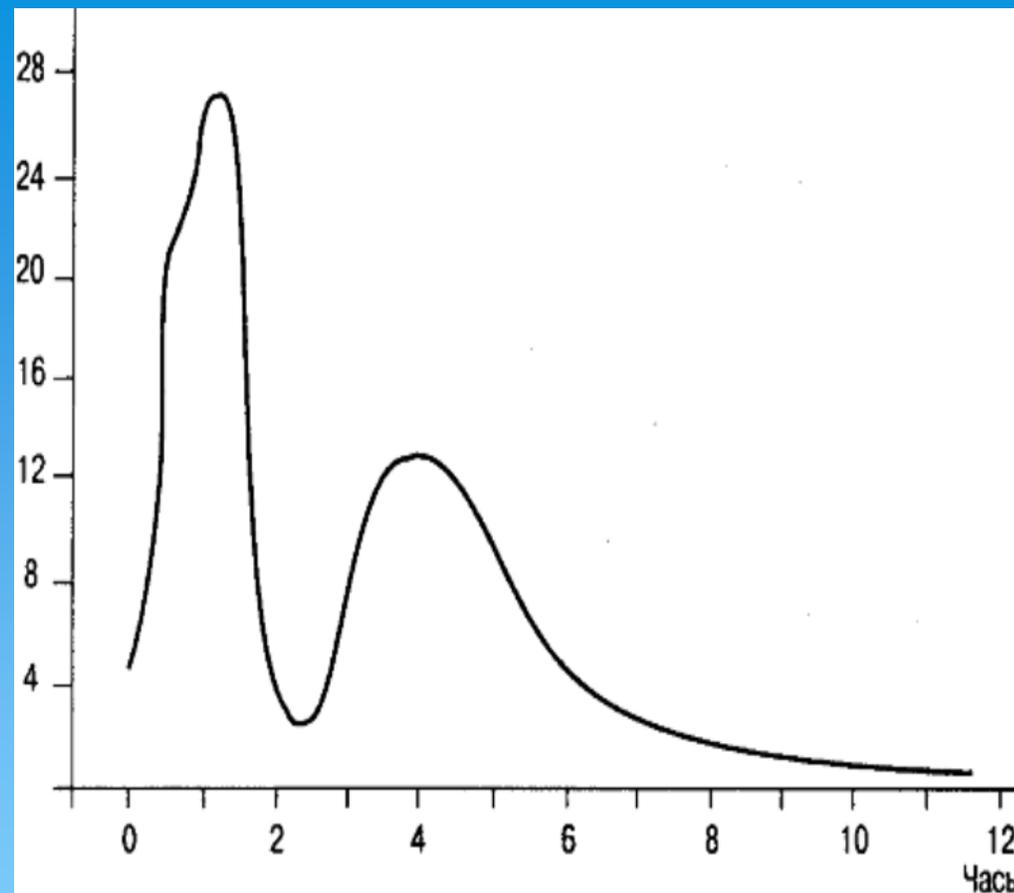


Рисунок 1. Распределение индивидов по скорости ацетилирования изониазида: по оси абсцисс – время после введения, часы; по оси ординат – число лиц (Бочков Н.П. с соавт, 2011).

N-ацетилтрансфераза.

Появление полиневритов связано с тем, что изониазид тормозит переход пиридоксина (витамина В6) в активный кофермент дипиридоксинфосфат, который необходим для синтеза миелина.

Индивидуальная скорость ацетилирования существенно не влияет на режимы дозирования ЛС при ежедневном приеме, но может уменьшать эффективность терапии при прерывистом применении изониазида.

N-ацетилтрансфераза.

При применении изониазида для лечения туберкулеза в составе комбинированной терапии у «медленных» ацетиляторов закрытие полостей в легких идет быстрее.

«Медленные» ацетиляторы являются **гомозиготами по «медленной» аллели гена NAT2**, а быстрые метаболизаторы – **гомозиготами либо гетерозиготами по «быстрой» аллели гена NAT2**.

Позднее было показано, что полиморфизм ацетилирования характерен не только для изониазида, но и для гидралазина и сульфаниламидов. Позже было обнаружено, что в этот список входят несколько десятков ЛС.

N-ацетилтрансфераза.

Применение прокаинамида и гидралазина у «медленных» ацетиляторов гораздо чаще вызывает поражение печени (**гепатотоксичность**).

Получены данные о том, что фенотип «быстрого» ацетилирования чаще встречается **у светлоглазых и светловолосых людей**.

Также описан феномен **снижения частоты встречаемости «медленных» ацетиляторов с севера на юг**.

N-ацетилтрансфераза.

Распространенность «медленных» ацетиляторов широко варьирует от 10-15% среди монголоидов до 50% среди представителей европеоидной расы.

Только с конца 80-х гг. начали идентифицировать мутации гена NAT2, приводящие к «медленному» ацетилированию.

На сегодняшний день известно около **15 мутантных аллелей гена NAT2.**

Все эти **мутации наследуются по аутосомно-рецессивному типу.** Тип ацетилирования определяют как **методами фенотипирования, так и генотипированием NAT2.**

N-ацетилтрансфераза.

В качестве маркерных субстратов ацетилирования широко используются **дапсон и сульфадимидин**.

Отношение концентрации моноацетилдапсона к концентрации дапсона в плазме крови через шесть часов после введения препарата менее 0,35 характерно для медленных ацетиляторов, а более 0,35 – для быстрых ацетиляторов.

В случае если в качестве маркерного субстрата используется сульфадимидин, наличие менее 25% сульфадимидина в плазме через шесть часов и менее 70% в моче, собранной через 5-6 ч после введения препарата, говорит **о фенотипе медленного ацетилирования.**

N-ацетилтрансфераза.

Помимо ассоциации полиморфизма гена NAT2 с неблагоприятными побочными эффектами лекарств, обнаружена также связь с различными многофакторными заболеваниями.

Частота рака мочевого пузыря в 2-3 раза выше у «медленных» ацетиляторов, чем у «быстрых», а среди последних почти в 2 раза чаще встречается колоректальный рак.

Тиопурин S-метилтрансфераза.

Реакцию S-метиляции катализирует фермент Тиопурин S-метилтрансфераза (ТПМТ). Это основной путь метаболизма эффективных цитостатиков (меркаптопурина, азатиоприна и тиогуанина).

Ген ТРМТ хорошо изучен (локализован в хромосоме 6q22.3). Хотя низкая эффективность ТПМТ наследуется по аутосомно-рецессивному типу, повышенная чувствительность к тиопуринам отмечается не только у гомозигот, но и у гетерозигот.

Тиопурин S-метилтрансфераза.

Известно 8 различных аллелей, кодирующих фермент с низкой активностью, что ведет к нарушению метаболизма меркаптопурина. При наличии таких аллелей требуется снижение стандартной дозы цитостатика в 2-4 раза.

Распространенность гомозигот по всем аллельным вариантам гена TPMT **среди европейского и афроамериканского населения составляет 4-5%.**

Безопасные дозы меркаптопурина для пациентов гомозигот по мутантным аллелям в 10-15 раз ниже среднетерапевтических, для гетерозигот – в 2-4 раза.

Тиопурин S-метилтрансфераза.

Для обеспечения безопасности химиотерапии меркаптопурином (острый лимфобластный лейкоз, лимфомы) необходимо проводить фенотипирование (активность ТРМТ в эритроцитах) или генотипирование на мутантные варианты гена ТРМТ.

В клиниках Европы и США одна из этих процедур типирования является обязательной перед началом лечения.

Сульфотрансфераза (SULT).

В организме человека **сульфатированию** подвергаются фенолы (экзогенные), гормоны щитовидной железы, катехоламины, некоторые стероидные гормоны.

Идентифицировано **40 изоферментов SULT**, которые **кодируются 10 генами**.

С фармакогенетической точки зрения **наибольший интерес** представляют **две формы изофермента**.

SULT1A1 метаболизирует парацетамол, морфин, продукты распада лидокаина, эстрадиол и другие лекарственные препараты фенольной структуры.

Сульфотрансфераза (SULT).

Субстратами **SULT1A3** являются допамин, серотонин, норэпинефрин и некоторые другие соединения.

Хотя обнаружен широкий генетический полиморфизм SULT, данных об ассоциации полиморфизмов генов этих ферментов с дозами соответствующих лекарственных препаратов пока не выявлено.

Эпоксидгидроксилаза (EPAH).

Реакцию водной каньюгации, важнейшую в детоксикации большого количества ксенобиотиков, катализирует фермент эпоксидгидроксилаза (**EPAH**).

Известны **две его изоформы и их гены**.

Большая часть водной коньюгации токсических метаболитов лекарственных препаратов (например, фенитоина) осуществляется с помощью **EPAH1**.

Обнаружен **генетический полиморфизм EPAH1**.

Эпоксидгидроксилаза (EPHX).

Точечная мутация является причиной снижения активности фермента (меньше 30% от нормы), что ведет к повышенному риску врожденных пороков развития, **если женщина во время беременности принимает фенитоин.**

Медленный аллель **mEPHX1** встречается примерно у 6% европейского населения. **У носителей мутаций нарушен процесс окисления ксенобиотиков.**

Выявлена **ассоциация этого аллеля с заболеваниями органов дыхания**, особенно у курильщиков (рак, эмфизема, обструктивные пневмонии), а также **с нарушениями в репродуктивной системе** (спонтанные аборты, рак яичников).

Глутатион-S-SH-трансфераза.

Среди лекарственных препаратов конъюгации с глутатионом подвергаются этакриновая кислота и гепатотоксический метаболит парацетамола – N-ацетилбензохинонимин, превращающиеся в нетоксические соединения.

Конъюгацию с глутатионом катализируют ферменты глутатион-S-SH-трансферазы (GST).

Глутатион-S-SH-трансфераза.

Выделено **пять изоферментов GST**, ген **GSTM1** принимает важнейшее участие в инактивации канцерогенов.

Распространенность носителей нулевого аллеля, у которых отсутствует экспрессия **GSTM1**, составляет **40-45%** у европейского населения и **60%** - у негроидного.

Глутатион-S-SH-трансфераза.

Глутатионопосредованная детоксикация имеет важнейшее значение **в сохранении резистентности клеток** к перекисному окислению липидов, алкилированию белков, **освобождению от свободных радикалов**, а также она **предотвращает поломки ДНК**.

Таким образом, глутатион-S-SH-трансферазы прежде всего представляют интерес с экотоксикологической точки зрения.

Их значение в фармакогенетике требует дальнейшего изучения.

Контрольные вопросы:

- 1. Ферменты II фазы биотрансформации лекарственных средств.**
- 2. УДФ-глюкуронилтрансфераза (UGT).**
- 3. N-ацетилтрансфераза.**
- 4. Тиопурин S-метилтрансфераза.**
- 5. Сульфотрансфераза (SULT).**
- 6. Эпоксидгидроксилаза (EPHX).**
- 7. Глутатион-S-SH-трансфераза.**