

РОЛЬ ГЕНЕТИЧЕСКОГО
ПОЛИМОРФИЗМА ЦИТОХРОМОВ P450
В ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ
ФАРМАКОТЕРАПИИ

Клинический ординатор кафедры клинической
фармакологии УО БГМУ

Садовская Ольга Геннадьевна

Минск, 2019

ФАРМАКОГЕНЕТИКА

ПРЕДПОСЫЛКИ К РАЗВИТИЮ

250,0

НАЗНАЧЕН
ИИ



НЛР возникают в почти
250,000 назначений
(Великобритания)

<http://bit.ly/1TqSqqw>



46

МИЛЛИО
НОВ

Ежегодные расходы на
НЛР - £466 миллионов
(Великобритания)



Причиной 5% госпитализаций
во всем мире являются
нежелательные
лекарственные реакции.

5

<http://bit.ly/1rZ4iyg>

3.15



НЛР продлевают сроки госпитализации в
среднем на 3.15 дней (США)

<http://bit.ly/1LYP...>

ФАРМАКОГЕНЕТИКА

ПРЕДПОСЫЛКИ К РАЗВИТИЮ

70



НЛР являются
причиной смерти 7000
человек в год (США)

<http://bit.ly/21Cv0ES>

\$4,2

Стоимость
предотвратимой
НЛР достигает
\$4,263 (США)

<http://bit.ly/1Yc24BB>

\$330b-



Смерти, вызванные НЛР обходятся в 330 -
1130 миллионов \$ в год (США)

<http://bit.ly/1WbKpvd>

\$1130b

ДИНАМИКА РЕПОРТИРОВАНИЯ О НЛР

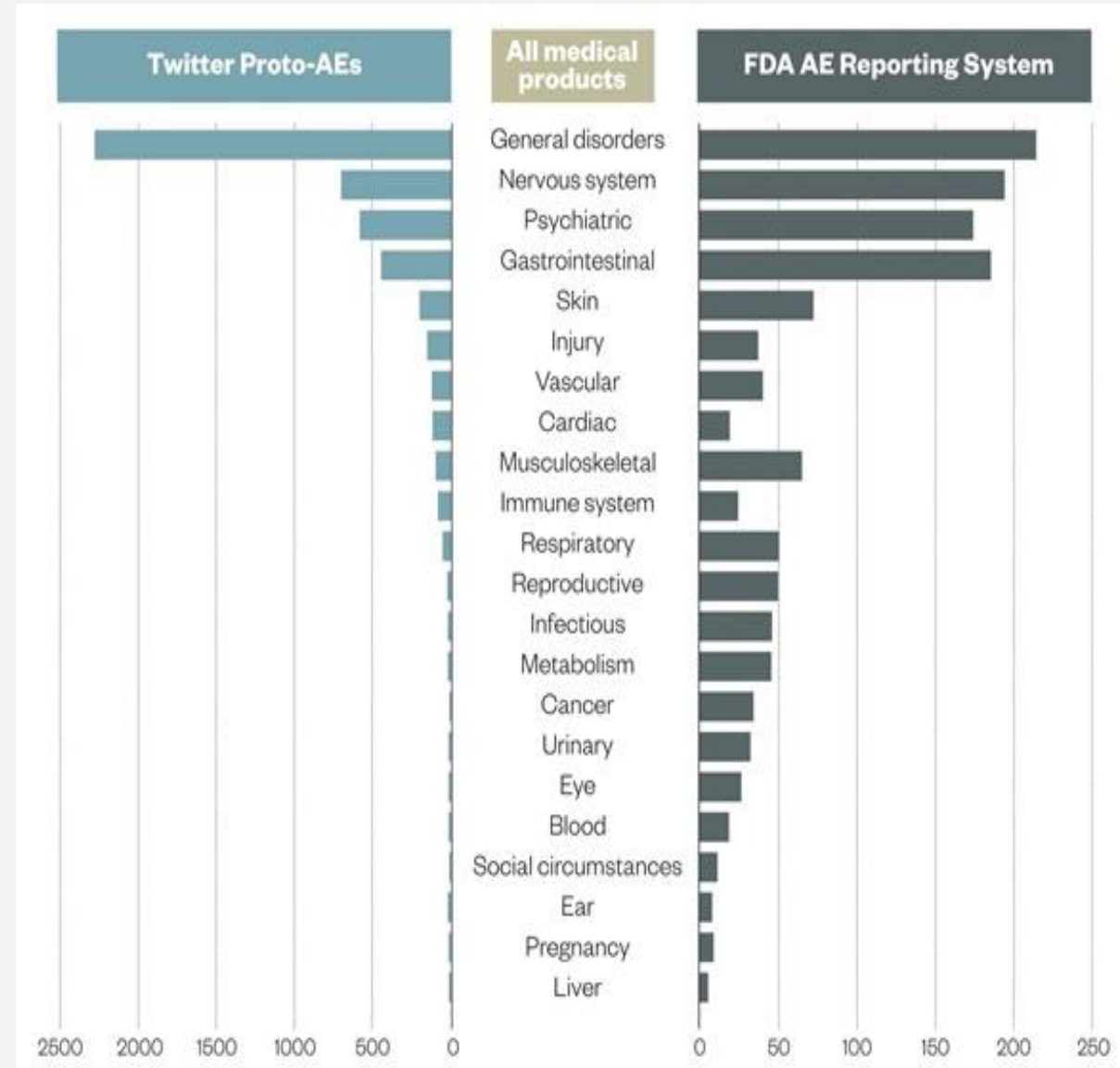


Figure 2: Trend of ADR reports received by European patients and consumers through the NCAs and MAHs.

https://www.ema.europa.eu/documents/report/2016-annual-report-eudravigilance-european-parliament-council-commission_en.pdf

СБОР ИНФОРМАЦИИ О НЛР С ПОМОЩЬЮ TWITTER

Исследователи собрали 6,9 миллионов твитов, идентифицировав 4,401 пост с информацией о потенциальных НЛР (известные как 'Proto-AEs'). Анализ сообщений выявил соответствие отчетам потребителей в Системе отчетности по побочным эффектам FDA.

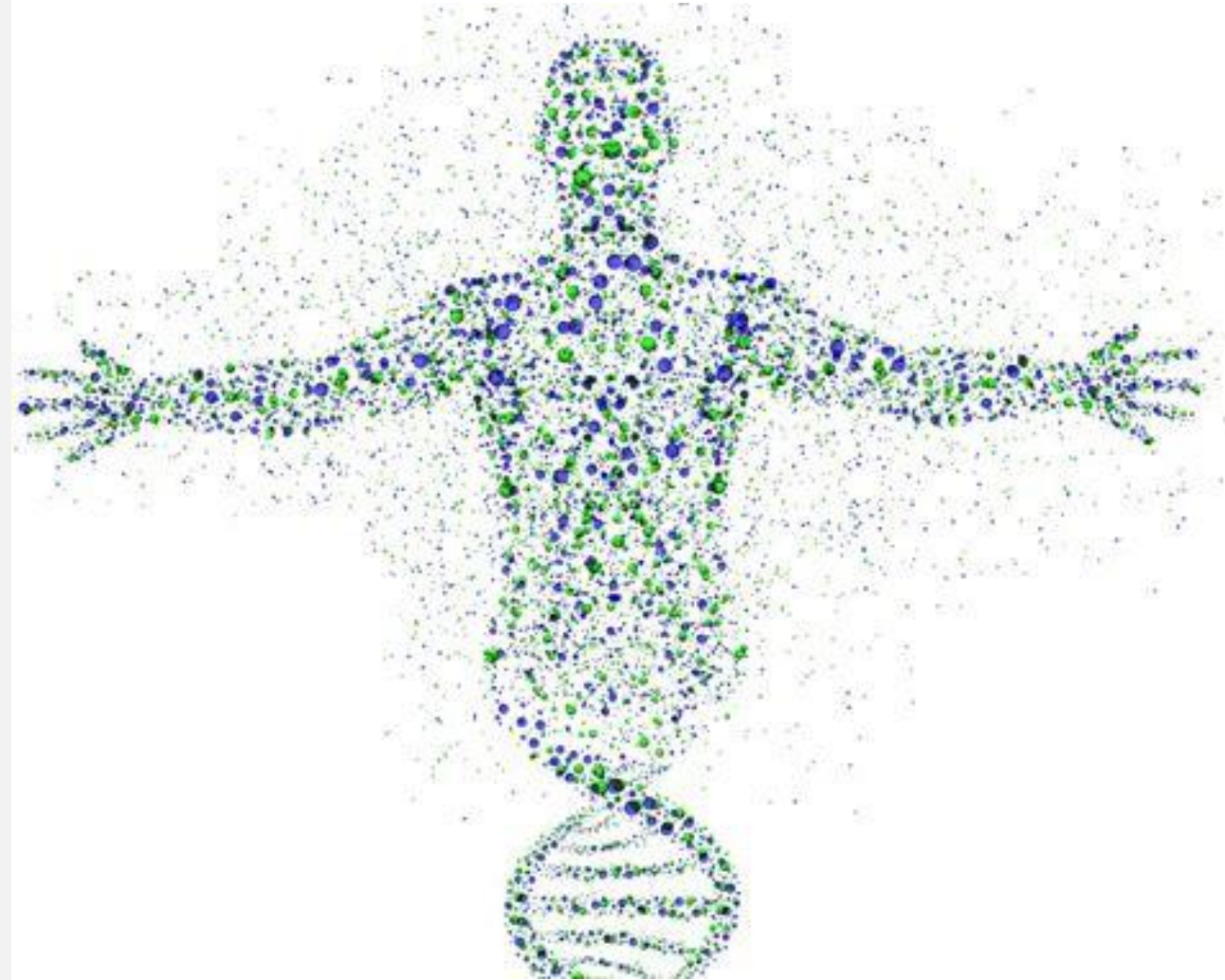


Searching social networks to detect adverse reactions
[The Pharmaceutical Journal](#) 22 JAN 2015 By [Elizabeth Sukkar](#)

ФАРМАКОГЕНЕТИКА (=) ФАРМАКОГЕНОМИКА

Фармакогеномика – отрасль фармакологии и фармацевтики, которая исследует влияние генетической вариации каждого человека в ответе на лекарственное средство.

Фармакогеномика связывает экспрессию конкретного гена или однонуклеотидного полиморфизма в геноме человека с эффективностью или токсичностью лекарства, для того, чтобы разработать рациональные средства оптимизации фармакотерапии.

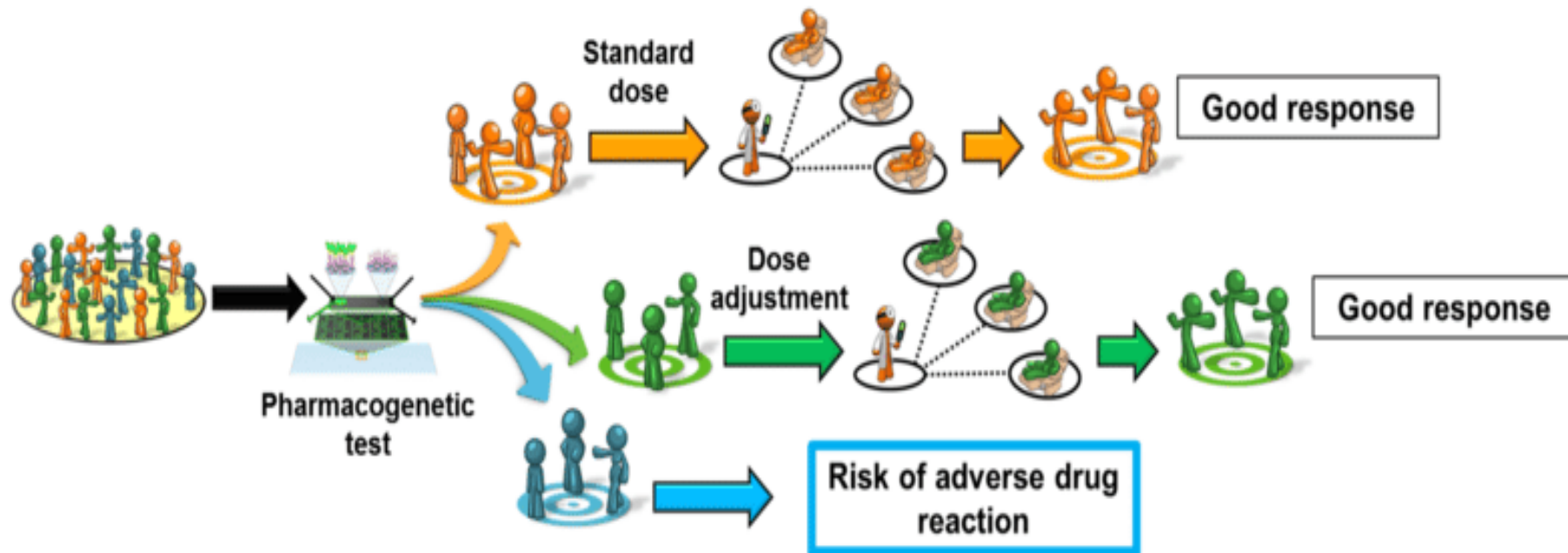


ФАРМАКОГЕНЕТИКА

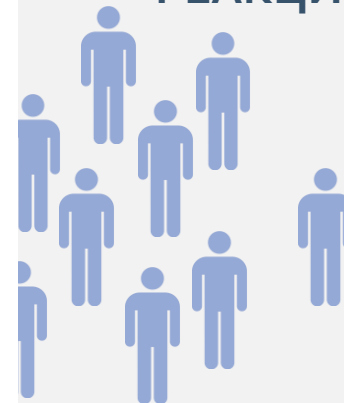
«УЛУЧШЕНИЕ» КИ

ИНДИВИДУАЛИЗАЦИЯ
МА
РОВАНИЯ

В



ОТВЕТ БЕЗ
НЕЖЕЛАТЕЛЬНЫХ
РЕАКЦИЙ

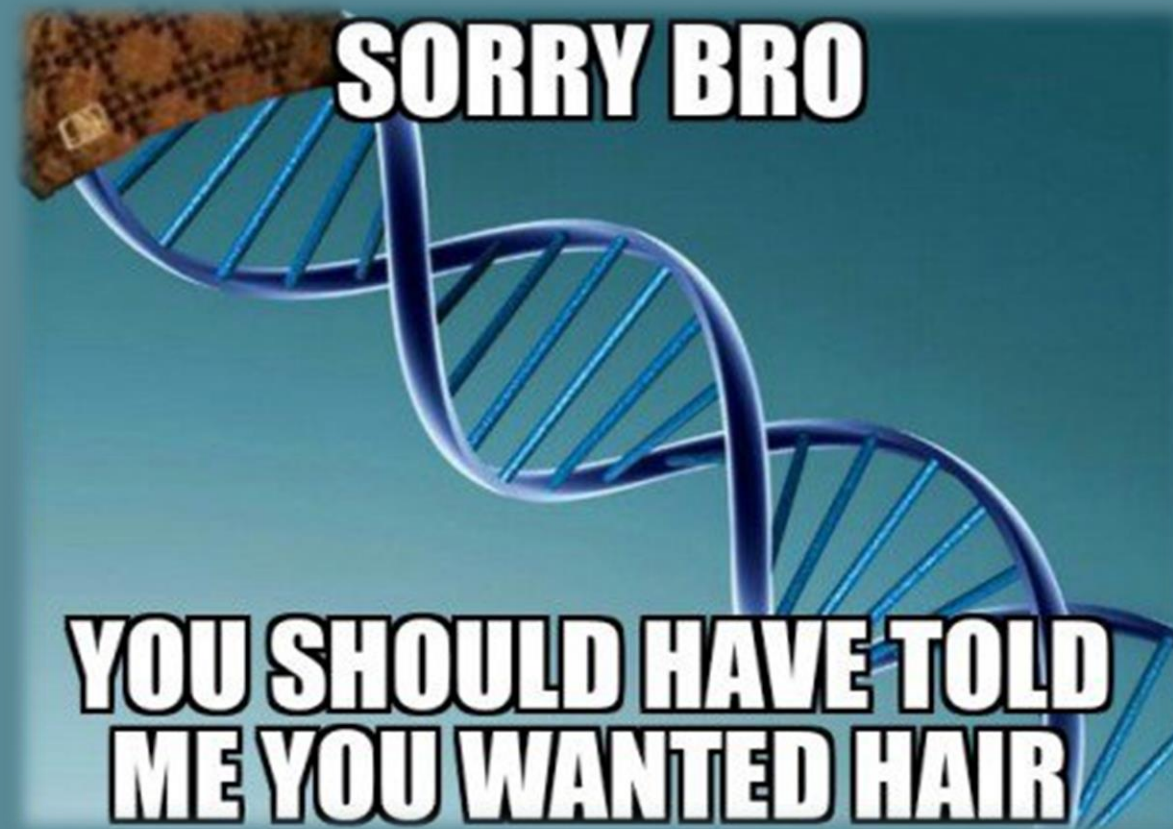


Clinical trial recruitment

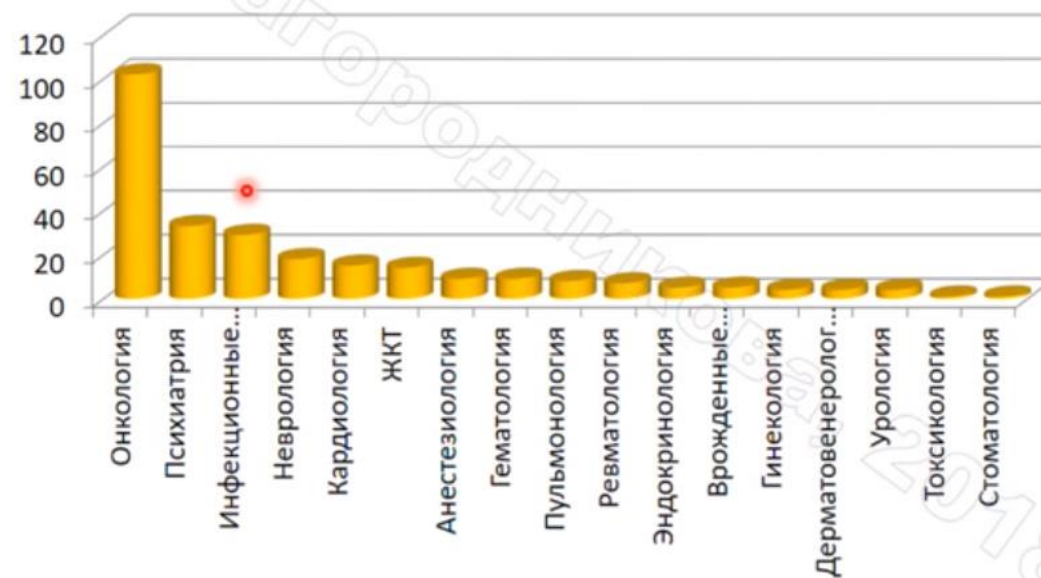
Genetic selection

Drug administration

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ



Фармакогенетические биомаркеры в инструкциях (FDA) n 268



Откуда мы получаем информацию?

ФК
исследования
на здоровых
волонтерах

Натуралистичес
кие
исследования

РКИ с ФГ

GWAS

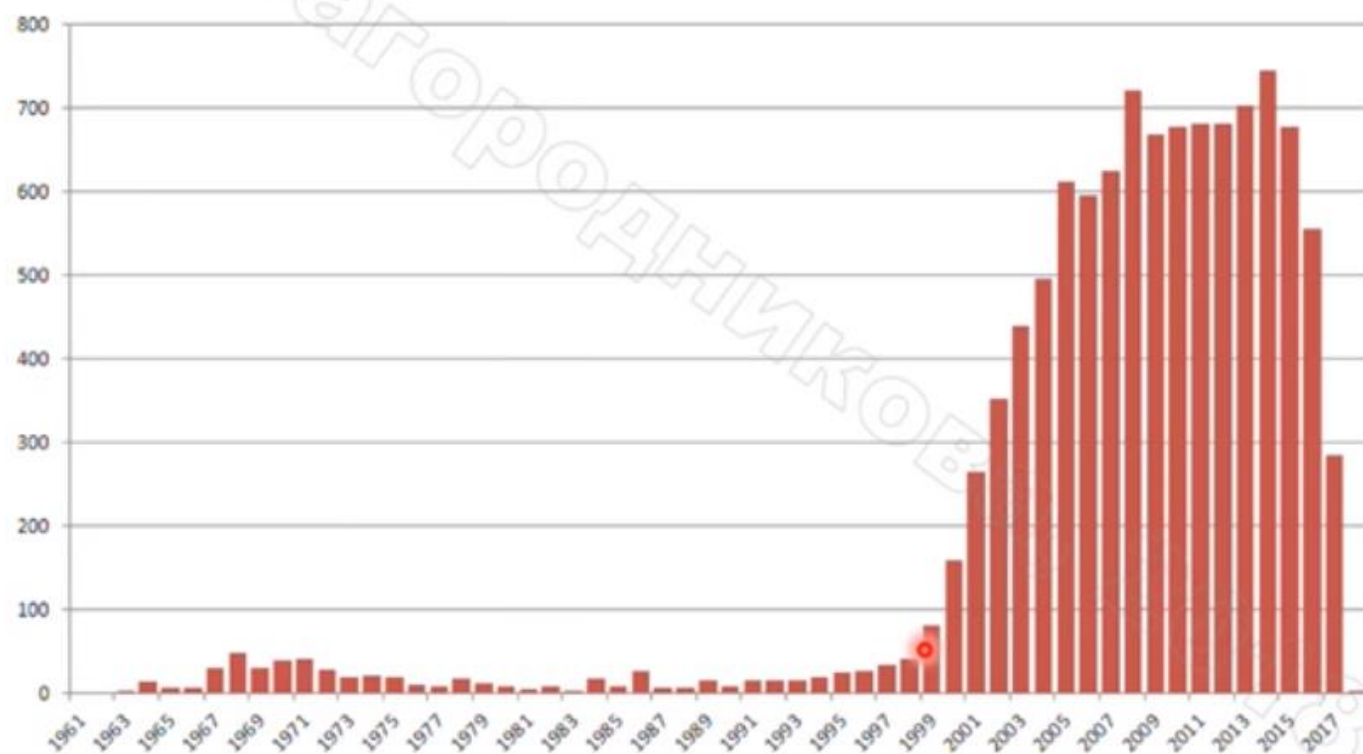
Нет
доказательств
клинического
применения

Низкая сила
доказательств

Новые ЛС,
выборочная
популяция

Перегрузка
информацией,
нет данных о
клинической
пользе

MESH: фармакогенетика/фармакогеномика (PubMed)



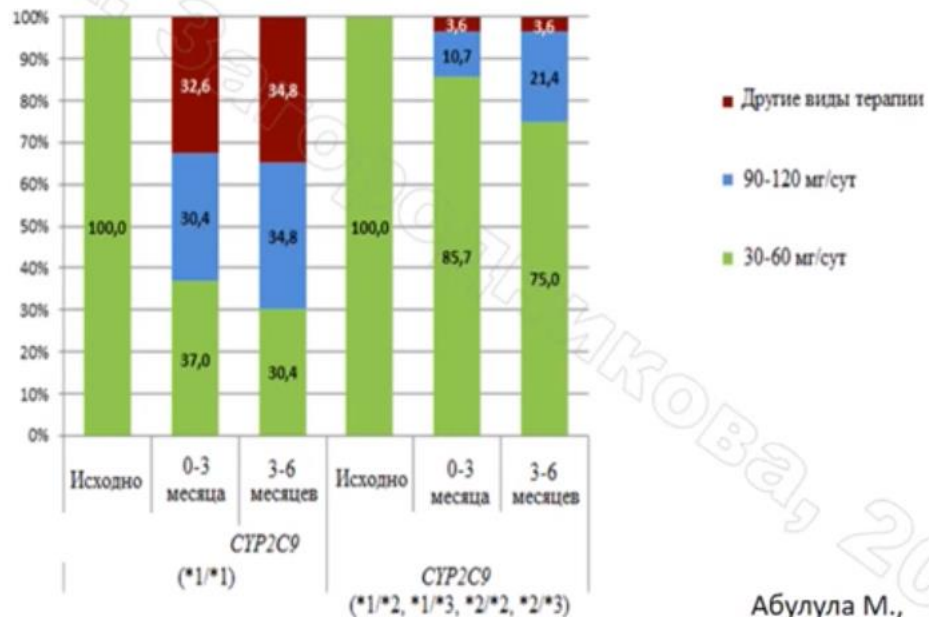
Важными характеристиками фармакогенетического теста являются значения чувствительности, специфичности, предсказательной ценности положительного (PPV) и отрицательного результата (NPV)

- При низких значениях этих показателей внедрение фармакогенетического теста окажется, скорее всего, экономически не оправданным.
- Применение подобного фармакогенетического теста может привести к тому, что у пациента не будет использовано высокоэффективное ЛС, которое может оказаться у него и высоко эффективным и безопасным, несмотря на результаты теста.
- Эта ситуация наиболее значима в случаях фармакотерапии злокачественных новообразований, ВИЧ-инфекции и других прогностически неблагоприятных заболеваниях

РАСПРЕДЕЛЕНИЯ НЕЖЕЛАТЕЛЬНЫХ ЯВЛЕНИЙ, ВОЗНИКШИХ НА ФОНЕ ЛЕЧЕНИЯ ГЛИКЛАЗИДОМ, В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГЕНОТИПАХ СУР2С9*2 И СУР2С9*3

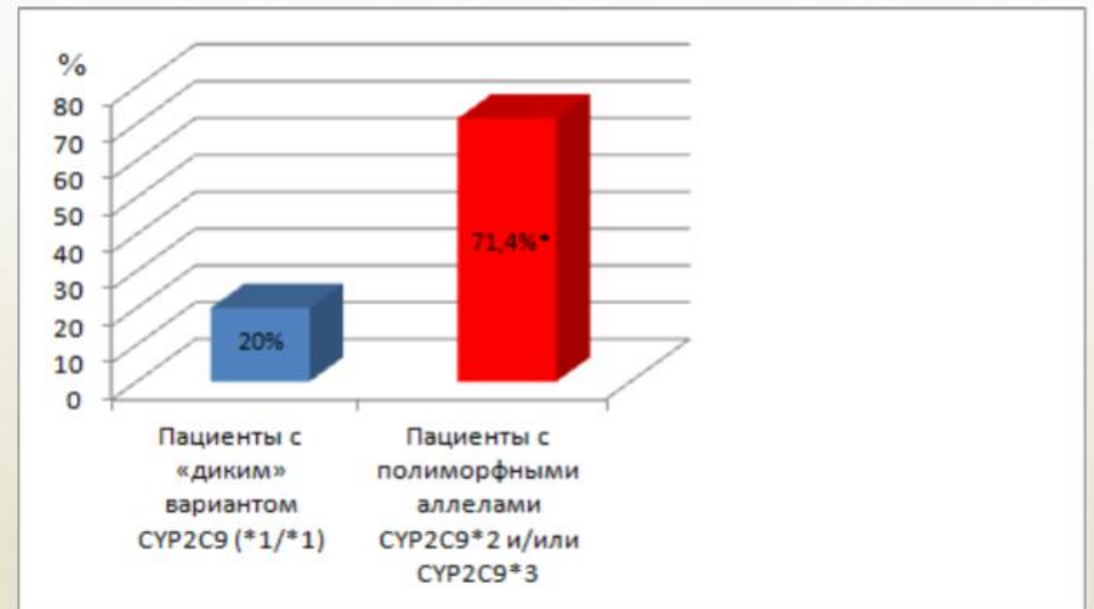


Потребности в дозах гликлазида у пациентов с разными генетическими вариантами СУР2С9



Абулула М.,
Загородникова К.А.


РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПАЦИЕНТОВ С ГИПОГЛИКЕМИЕЙ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ CGMS В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГЕНОТИПОВ СУР2С9



OR (отношение шансов) = 10,0; 95% ДИ: 1,05–95,46 ; * - p = 0,046

К.А. Захарова

Натуралистические исследования
касаются реальной практики. В них
мы получаем клинические сигналы



СЕВОФЛУРАН - ГЕНЫ ВОСТПРИИМЧИВОСТИ К ЗЛОКАЧЕСТВЕННОЙ ГИПЕРТЕРМИИ (RYR1 CASNA1S)

- ИНСТРУКЦИЯ FDA: СЕВОФЛУРАН НЕ ДОЛЖЕН ИСПОЛЬЗОВАТЬСЯ ПРИ НАЛИЧИИ ГЕНОВ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ЗЛОКАЧЕСТВЕННОЙ ГИПЕРТЕРМИИ!

Единственное средство терапии
– дантролен – в РФ не
зарегистрирован!!!



NAT2 N-АЦЕТИЛТРАНСФЕРАЗА

- АУТОСОМНО-РЕЦЕССИВНОЕ НАСЛЕДОВАНИЕ
- НАСЛЕДОВАНИЕ ИЗВЕСТНО С 1940Х
- МЕДЛЕННЫЙ МЕТАБОЛИЗМ – 70% ЕВРОПЕЙЦЕВ
- РИСК НЕЙРОПАТИЙ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ИЗОНИАЗИДА

Скорость ацетилирования не влияет существенно на эффективность изониазида, но медленное ацетилирование может приводить к увеличению риска токсических реакций. (pharmgkb drug label)

Nebert et al, 2017/1999





Нежелательные реакции на лекарства (НЛР)

- 1) Толерантность (отсутствие эффекта несмотря на увеличение дозы)
- 2) Повышенная чувствительность (эффект передозировки при нормальной дозе) – токсический эффект
- 3) Парадоксальная (нетипичная) реакция – неожиданные, исходя из механизма действия препарата, эффекты (осложнения)



С клинических позиций генетически детерминированные изменения фармакологического ответа можно классифицировать следующим образом:

- ЛС, приводящие к возникновению *побочных эффектов* (например, дефицит глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы), применение ЛС в этом случае противопоказано;
- ЛС, приводящие к *нежелательным реакциям, не относящимся к серьёзным* (например, носительство «медленных» аллельных вариантов гена CYP2D6, приводящее к фенотипу «медленного метаболизатора»); ЛС назначают в низкой дозе;
- *неэффективные ЛС или ЛС с низкой эффективностью* (например, дупликация функциональных аллелей гена CYP2D6, приводящая к фенотипу «быстрого метаболизатора»), ЛС используют в высокой дозе.

ОТСУТСТВИЕ ЭФФЕКТА

- У «быстрых» метаболизаторов по CYP2D6 при применении ЛС-субстратов CYP2D6 отмечается снижение их терапевтической эффективности за счёт ускорения метаболизма ЛС-субстратов CYP2D6, что приводит к снижению их концентрации в плазме крови. Например, противорвотное ЛС ондансетрон у больных, являющихся «быстрыми» метаболизаторами по CYP2D6, не предотвращает рвоту при проведении химиотерапии злокачественных опухолей.

Копии функциональных аллелей CYP2D6*1, CYP2D6*2	Повышение активности изофермента цитохрома P-450 2D6 (CYP2D6)	Миртазапин	Гипотония
		Трициклические антидепрессанты	Отсутствие антидепрессивного действия
		Антидепрессанты из группы ингибиторов обратного захвата серотонина	Отсутствие антидепрессивного действия
		Симвастатин	Отсутствие гиполипидемического действия
		Ондансетрон	Отсутствие противорвотного действия

ТОКСИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ

<i>CYP2B6</i>	«Медленные» аллельные варианты: <i>CYP2B6*5</i> , <i>CYP2B6*6</i>	Снижение активности изофермента цитохрома P-450 2B6 (CYP2B6)	Циклофосфамид	Нефротоксичность
---------------	--	---	---------------	------------------

ПАРАДОКСАЛЬНАЯ РЕАКЦИЯ

Парадоксальная реакция

Злокачественная гипертермия

- Температура до 44С, тахикардия, гипоксия
- Провоцирующие факторы – некоторые ингаляционные анестетики (фторотан, этиловый эфир, метоксифлуран), мышечные релаксанты
- Обуславливает около 60% смертности из-за остановки сердца при наркозе
- Причина – мутации в генах кальциевых каналов (MHС1 – MHС6)



- Основными путями устранения препарата являются почечная экскреция и метаболическая биотрансформация. Последние можно подразделить на реакции, опосредованные цитохромом P₄₅₀ (P₄₅₀1), конъюгации (особенно глюкуронидация) и «другие» (таблица 1)

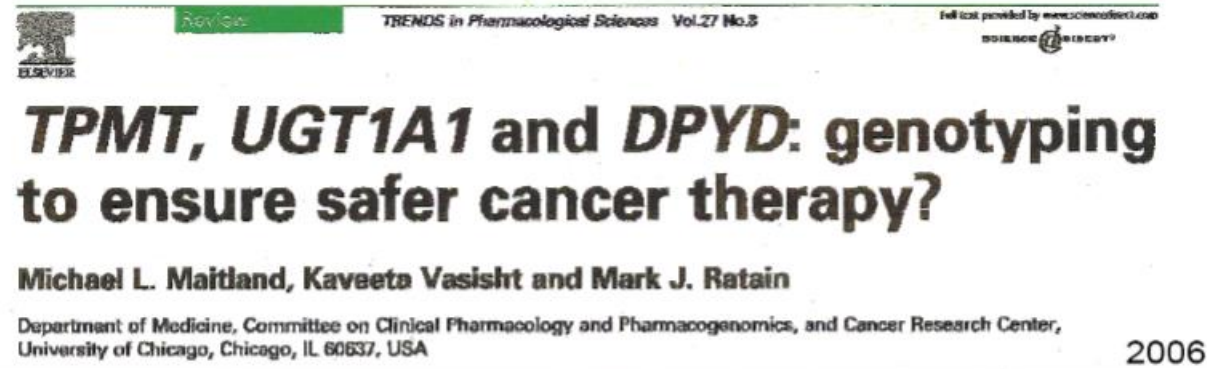
TABLE 1
Approximate incidence of the major pathways of drug elimination

Pathway	Incidence
	%
Renal unchanged	25
P450 metabolism	
CYP3A4	30
CYP2D6	20
CYP2C9/19	10
Glucuronidation	10
Other ^a	5

^a Other includes acetylation, thiopurine methyltransferase, and dihydropyrimidine dehydrogenase.

HLA-B*1502 - КАРБАМАЗЕТИН, КЛОБАЗАМ, ОКСКАРБАЗЕТИН, ЛАМОТРИДЖИН И ДР.

- ВЫСОКИЙ РИСК ЭПИДЕРМАЛЬНОГО НЕКРОЛИЗА У НОСИТЕЛЕЙ МУТАЦИИ
- МУТАЦИЯ ВСТРЕЧАЕТСЯ В 15% У АЗИАТОВ, И ПРАКТИЧЕСКИ НЕ ВСТРЕЧАЕТСЯ У ЕВРОПЕЙЦЕВ
- ВНЕСЕНО В ИНСТРУКЦИИ FDA

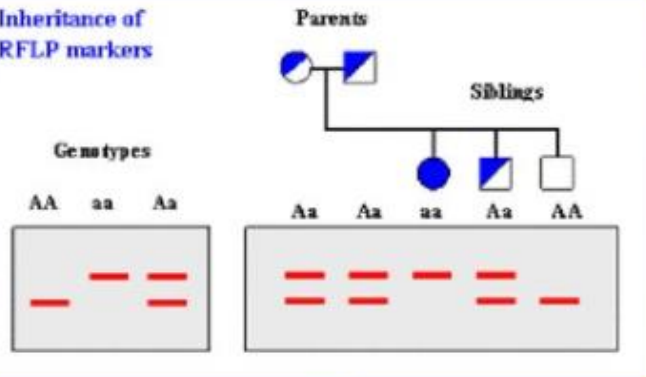


FDA поддержала включение информации о необходимости генетического анализа перед началом применения 6-меркаптопурина (2004г.) и иринотекана (2005 г.)

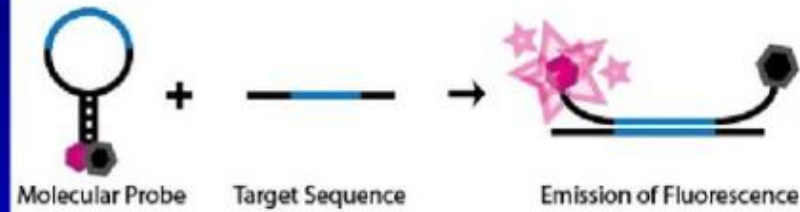
Фармакогенетические методы

ПЦР и рестрикционный анализ

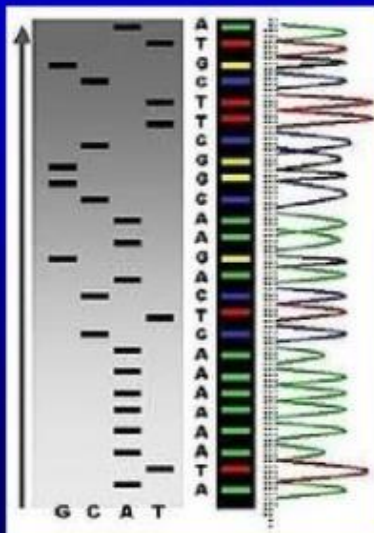
Inheritance of RFLP markers



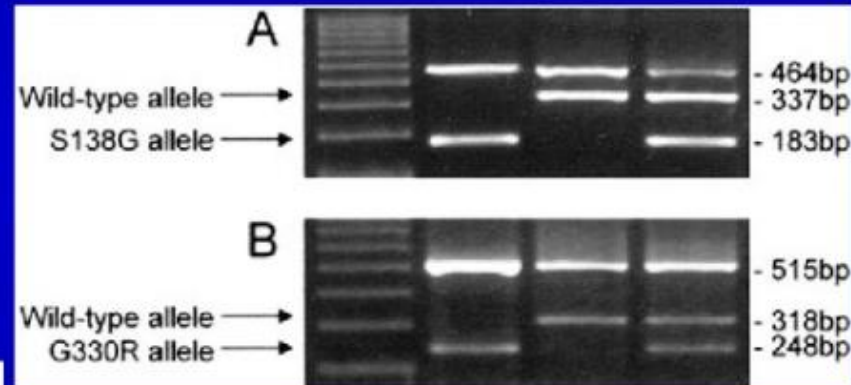
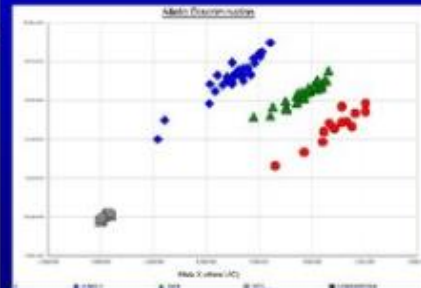
Аллель-специфичный ПЦР



Секвенирование

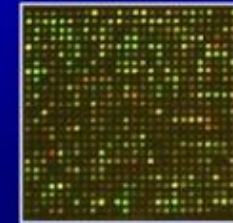


Скрининг зондами Taqman



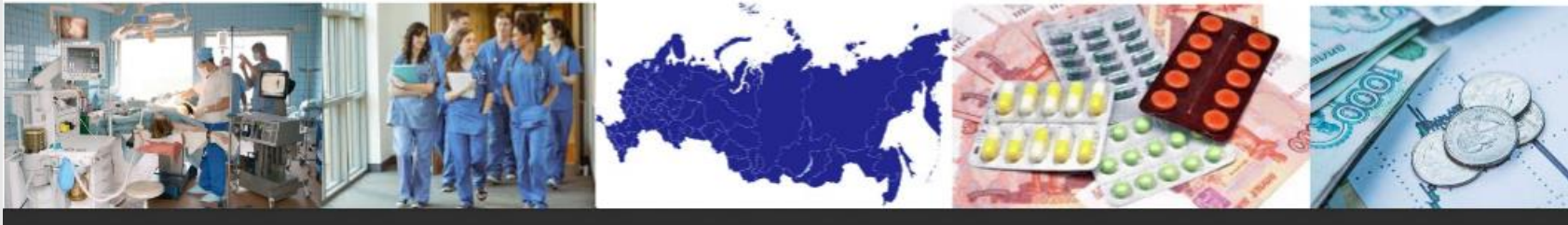
Гибридизация на олигонуклеотидных чипах

Гибридизация на олигонуклеотидных чипах с мелкими шариками (beads)



Анализ кривых плавления

Эра прецизионной медицины грядёт?
Клиническая фармакология поднимется на
новый уровень востребованности и
возможностей?





СООТВЕТСТВИИ С
индивидуальными различиями
в генах, окружающей среде и
СТИЛЮ ЖИЗНИ.



Saw Swee Hock
School of Public Health

National University Hospital System
Center for Health Services and Policy Research



New Developments in Precision Medicine : Implications for Practice and Policy

Joanne Yoong

Senior Economist, Center for Economic and Social Research, University of Southern California

Associate Professor, National University of Singapore

Deputy Director, Center for Health Services and Policy Research, NUHS

Honorary Senior Lecturer, London School of Hygiene and Tropical Medicine

“An emerging approach for disease treatment and prevention that takes into account individual variability in genes, environment, and lifestyle”

(US National Institutes of Health)

- Ability to predict more accurately which treatment and prevention strategies will work for whom allows us to (i) improve outcomes and (ii) avoid adverse effects or treatment toxicities
- Similar to “personalized medicine”, but not focused on treatment regimes developed uniquely for each individual, rather on identifying which approaches will be effective for which identifiable groups of patients based on genetic, environmental, and lifestyle factors.

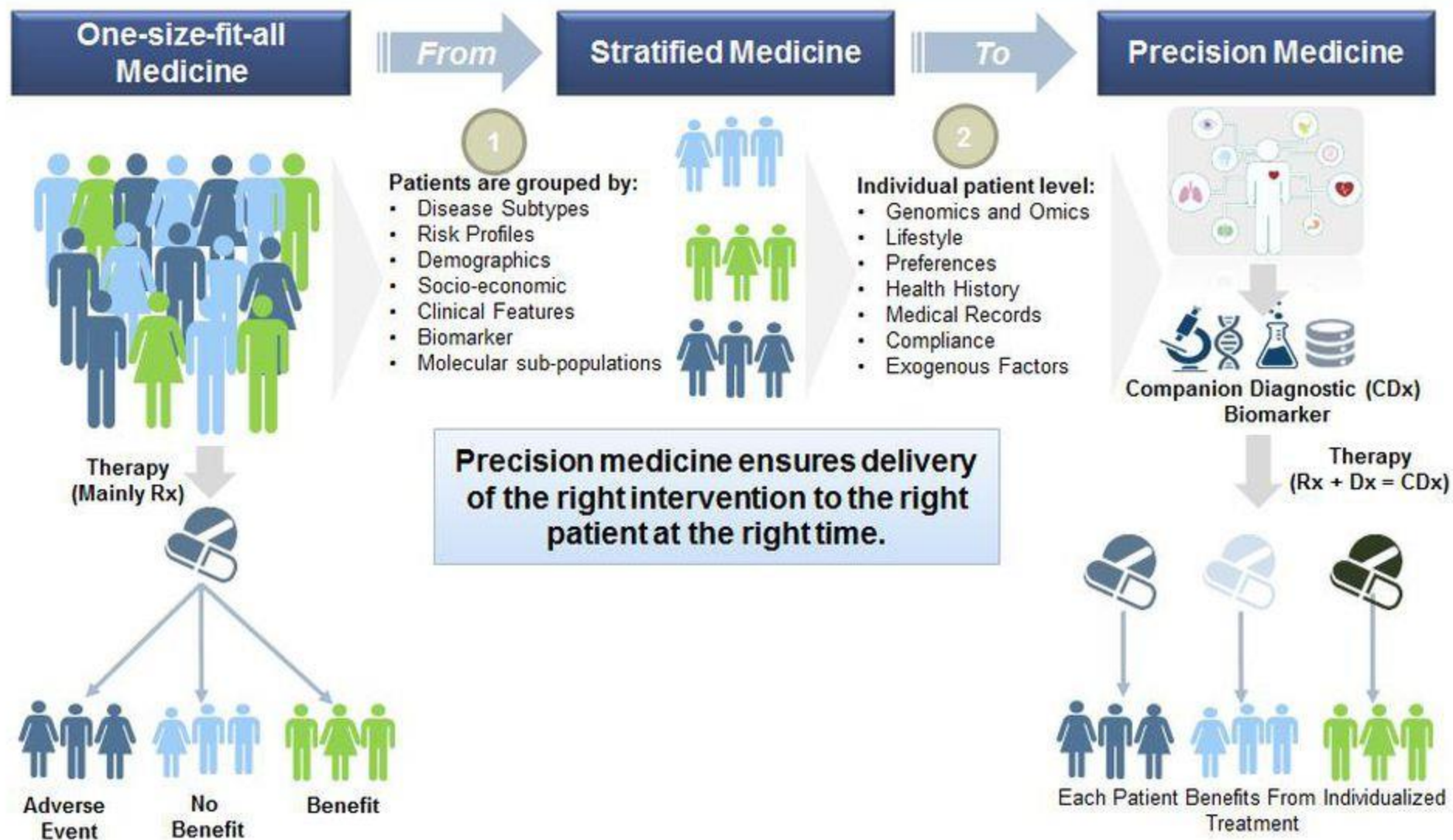
10 технологий, которые изменят мир

1. Металлическая 3D-печать
2. Искусственные эмбрионы
3. «Чувствующий город» (высококотехнологичный квартал в Торонто)
4. Доступный искусственный интеллект
5. Состязательные нейронные сети (для самообучения нейронных сетей)
6. Безуглеродный природный газ
7. Наушники-переводчики
8. Совершенная онлайн-приватность
9. Генетические предсказания при рождении (полигенный анализ)
10. Материальный квантовый скачок

* - По версии MIT Technology Review, апрель 2018

New Paradigm Shift in Treatment

Transitioning From the 'one-size-fits-all' to 'precision medicine' model with multi-level patient stratification.



PM Tools to Individualize Care



Source: We Are All Different: How Your Genes Is Shaping the Future of Healthcare
<http://www.illustration.com/2011/08/04/precision-medicine-illustration/>

PPM tools are tests or algorithms differentiating

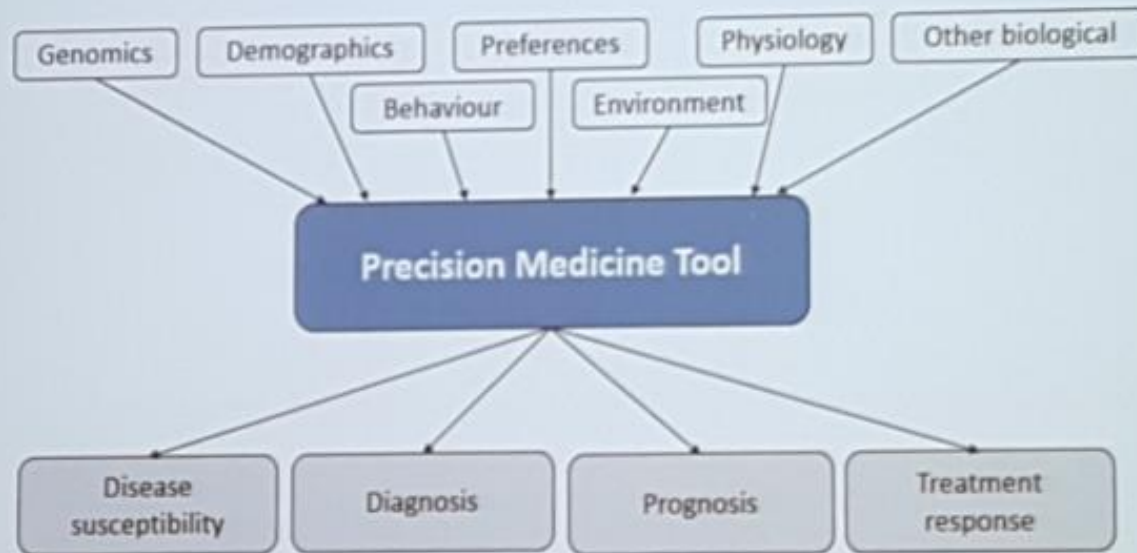
- Responders from non-responders to a specific treatment
- Patients with a good prognosis from patients with a bad prognosis
- People at high risk from those at low risk
- A specific disease state from other ones



Evidence base is needed to inform if, when and how, to incorporate them into clinical practice



Defining Precision Medicine



Precision Medicine is the Future of the modern Medicine

НЛР

250,000 ADMISSIONS 

Adverse drug reactions resulted in approximately 250,000 admissions (United Kingdom only)

<http://bit.ly/1TqSqgw>



466 MILLION

Projected annual costs of adverse drug reactions is £466 million (United Kingdom only)



Approximately 5% of hospital admissions globally are due to adverse drug reactions.

5%

<http://bit.ly/1rZ4jyg>

<http://bit.ly/1TqSqgw>

<http://bit.ly/1rZ4jyg>

7000

<http://bit.ly/21Cv0ES>



Adverse drug reactions are implicated
in 7000 deaths annually (USA only)

<http://bit.ly/21Cv0ES>

\$330_B- \$1130_B



Adverse drug reaction related morbidity and mortality
costs are estimated to be between US\$330 billion to US\$1130
billion annually (USA only)

<http://bit.ly/1WbKpvO>

<http://bit.ly/1WbKpvO>

3.15 DAYS



Adverse drug reactions result in an average increase in length of hospital stay by 3.15 days (USA only)

<http://bit.ly/1TLY2P7>

<http://bit.ly/1TLY2P7>

\$4,263

The cost per preventable Adverse Drug Reaction is estimated to be US\$4,263 (USA only)

<http://bit.ly/1Yc24BB>

<http://bit.ly/1Yc24BB>

HISTORICAL CONTEXT

- **Historical Context.** In the pre-genomics era, the frequency of genetic variation was hypothesized to be relatively uncommon, and the demonstration of inherited drug-response traits applied to a relatively small number of drugs and pathways ([Eichelbaum and Gross, 1990](#); [Evans and Relling, 2004](#); [Johnson and Lima, 2003](#)). Historically, uncommon severe drug-induced phenotypes served as the triggers to investigate and document pharmacogenetic phenotypes. **Prolonged neuromuscular blockade following normal doses of succinylcholine, neurotoxicity following isoniazid therapy ([Hughes et al., 1954](#)), and methemoglobinemia in glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency ([Alving et al., 1956](#)) were discovered to have a genetic basis in the first half of the 20th century.** In the 1970s and 1980s, debrisoquine hydroxylation and exaggerated hypotensive effects from that drug were related to an autosomal recessive inherited deficiency in the cytochrome P450 isoenzyme 2D6 (CYP2D6) ([Evans and Relling, 2004](#)). Since the elucidation of the molecular basis of the phenotypic polymorphism in CYP2D6 ([Gonzalez et al., 1988](#)), the molecular bases of many other monogenic pharmacogenetic traits have been identified ([Meyer and Zanger, 1997](#)).

- В то время, однако, ключевой ответ на вопрос, почему существует индивидуальная изменчивость в метаболизме, еще не был дан ответ, что стало известно только после повторного открытия исследования Менделя о наследственности на рубеже 20-го века. Хорошо известным примером, иллюстрирующим это, было влияние генетических открытий Уильяма Бейтсона на исследования сэра Арчибальда Гаррода об алкаптонурии и фенилкетонурии, представленные в книге под названием «Врожденные ошибки метаболизма» (Garrod 1909). Фактически, результаты, основанные Гарродом, стали вехой в объяснении метаболической изменчивости с генетической точки зрения. После этого некоторые предшественники отдельно описали серию наблюдений, предшествовавших концептуализации фармакогенетики (PGx).
- В середине 20-го века наконец появились доказательства, необходимые для поддержки превращения разбросанной «фармакологической наследственности» в новую науку. Во-первых, Хетти Хьюз описала связь между уровнем ацетилирования изониазида (противотуберкулезного препарата) и возникновением периферического неврита (Hughes et al. 1954), что, безусловно, стало знаковым шагом для будущей демистификации «одного размера для всех» система назначения лекарств. Другой вехой в PGx стало независимое расследование смерти пациентов, вызванной в целом безопасным местным анестезирующим препаратом прокаинамом (Kalow, 1962). Дальнейшие эксперименты позволили авторам предположить, что генетически детерминированное изменение структуры фермента может вызвать аномальную и летальную низкую активность холинэстеразы. Атипичный фермент не гидролизует анестетик с эффективностью, что приводит к длительному периоду высоких уровней препарата в крови и повышенной токсичности (Kalow 2005). Одновременно Альф Алвинг и его коллеги отметили, что афро-американские солдаты представляли повышенный риск развития острых гемолитических кризов после введения примахина (противомалярийного препарата) по сравнению с кавказскими (Clayman et al. 1952). Как будет показано позже, эта чувствительность вызвана генетически обусловленным дефицитом глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (G6PD), который изменяет метаболизм эритроцитов (Alving et al. 1956). Таким образом, потребовалось приблизительно 2400 лет, чтобы объяснить наблюдение Пифагора о фавизме с молекулярной точки зрения. В настоящее время считается, что дефект в гене G6PD связан с индуцированной фава гемолитической анемией у некоторых лиц средиземноморского происхождения.

- «Экстенсивные» метаболизаторы (*extensive metabolism, EM*) - лица с нормальной скоростью биотрансформации определённых ЛС; как правило, гомозиготы по «дикому» аллелю гена соответствующего фермента. К «экстенсивным» метаболизаторам принадлежит большинство населения.
- «Медленные» метаболизаторы (*poor metabolism, PM*) - лица со сниженной скоростью биотрансформации определённых ЛС; как правило, гомозиготы или гетерозиготы по «медленному» аллелю гена соответствующего фермента. Иногда выделяют и «промежуточных» метаболизаторов (*intermedium metabolism, IM*), к которым относят гетерозигот по «медленному» аллелю (при аутосомно-рецессивном типе наследования). У этих индивидуумов происходит синтез «дефектного» фермента либо вообще отсутствует синтез фермента биотрансформации. В результате ферментативная активность снижается или отсутствует. У этой категории лиц регистрируются высокие значения отношения концентрации ЛС к концентрации его метаболита. При этом у «медленных» метаболизаторов ЛС накапливается в организме в высоких концентрациях, что приводит к появлению выраженных нежелательных лекарственных реакций, вплоть до интоксикации. В связи с этим для «медленных» метаболизаторов должен быть осуществлён тщательный подбор дозы ЛС: она должна быть меньше по сравнению с назначаемой «экстенсивным» метаболизаторам.
- «Сверхактивные», или «быстрые», метаболизаторы (*ultraextensive metabolism, UM*) - лица с повышенной скоростью биотрансформации определённых ЛС. Это, как правило, гомозиготы (при аутосомно-рецессивном типе наследования) или гетерозиготы (при аутосомно-доминантном типе наследования) по «быстрому» аллелю гена соответствующего фермента или, что встречается чаще, несущие копии функциональных аллелей. У этой категории лиц регистрируют низкие значения отношения концентрации ЛС к концентрации его метаболита. В результате концентрация ЛС в крови недостаточна для достижения терапевтического эффекта. Для «сверхактивных» метаболизаторов доза ЛС должна быть выше, чем такая для активных метаболизаторов.

Poor Metabolizer

There are **two variants present**. Typically one is on the maternal-derived chromosome and a second variant on the paired paternal-derived chromosome. The alleles on both chromosomes produce "loss-of-function" enzymes.

Intermediate Metabolizer

There is only **one variant present**, located either on the maternal-derived chromosome, or on the paternal-derived paired chromosome.

The variant allele produces "loss-of-function" enzymes, while the ordinary allele on the paired chromosome generates normal enzymes.

Extensive Metabolizer

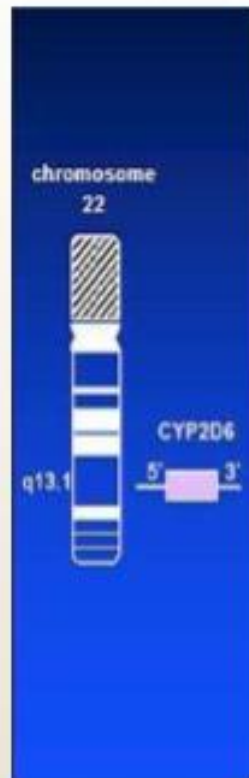
No variant alleles present on either of the patient's paired chromosomes.

All enzymes produced by these alleles have normal activity.

Ultra-Rapid Metabolizer

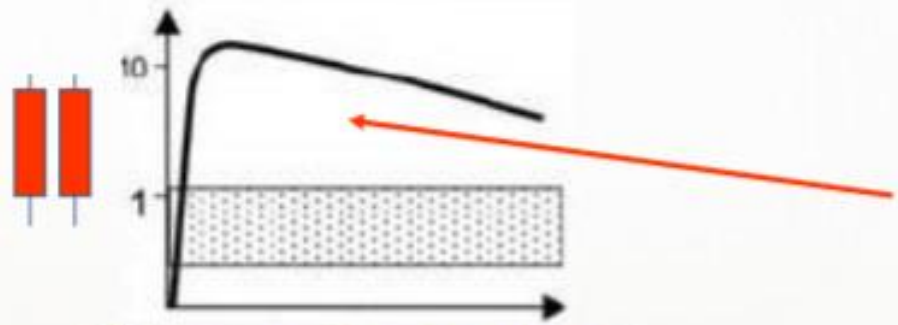
In **CYP2C19** the presence of a single *17 variant causes a slight increase in CYP2C19 enzyme activity.

In **CYP2D6** the presence of a *2 variant in some patients exists in multiple copies on the same DNA strand. This results in an increase in total CYP2D6 enzyme activity.



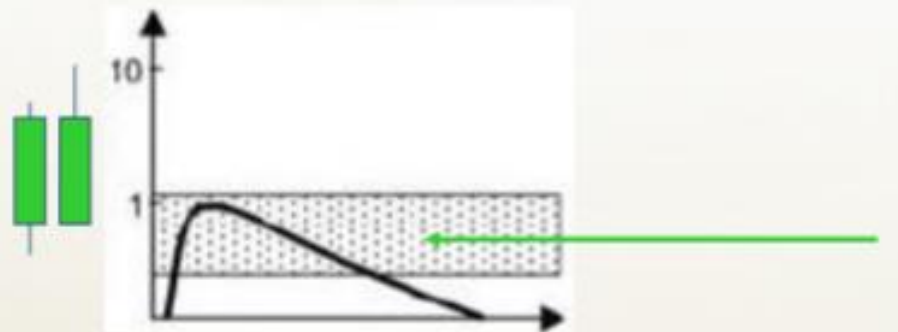
10%

5%



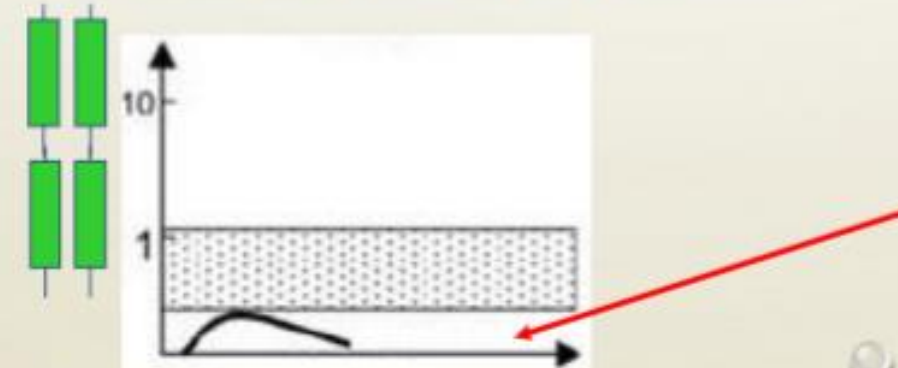
Медленные инактиваторы

Диапазон побочных эффектов



Нормальные инактиваторы

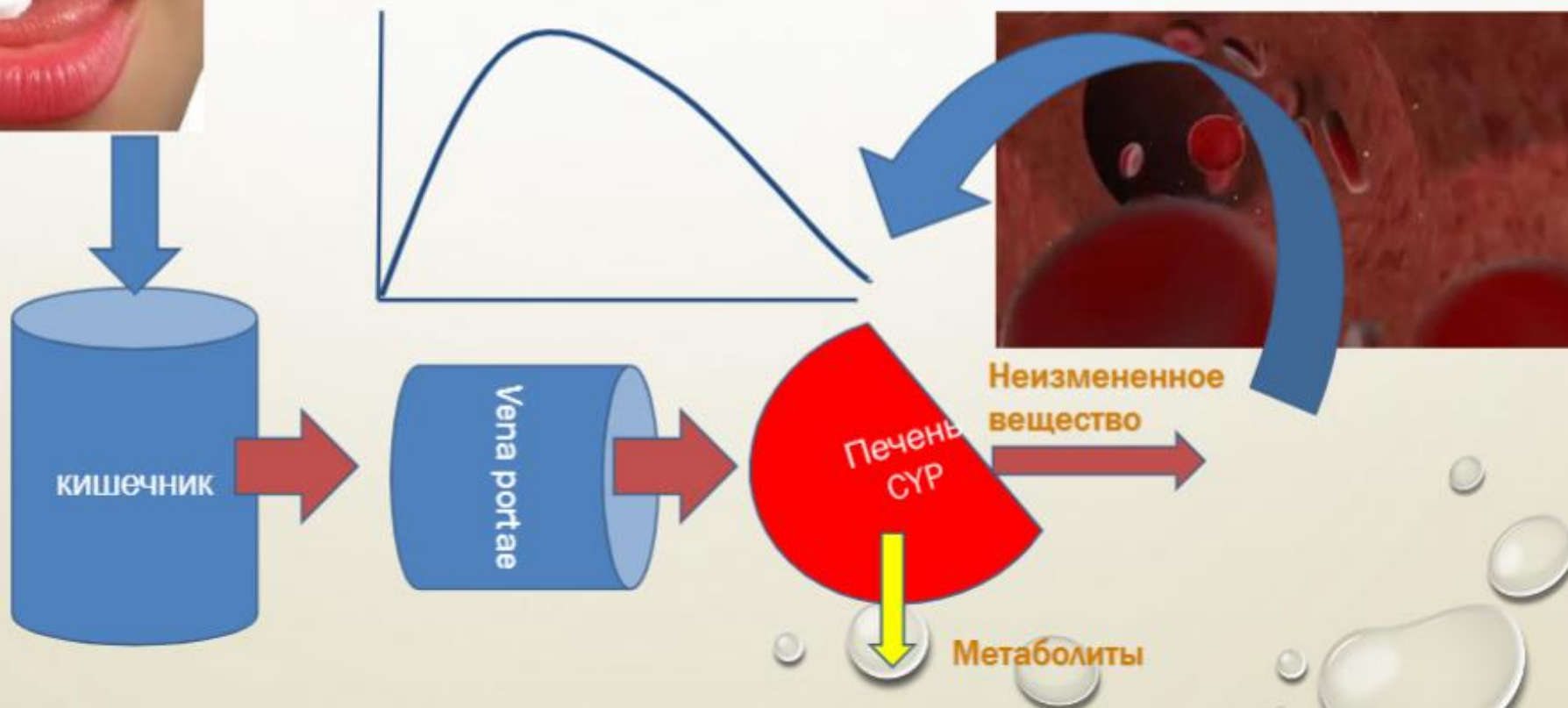
Ожидаемый эффект



Быстрые инактиваторы

Неэффективность препарата

ЧАЩЕ ВСЕГО ОТВЕТ НА ТЕРАПИЮ ЗАВИСИТ ОТ
КОНЦЕНТРАЦИЙ В ОБЛАСТИ МИШЕНИ ДЕЙСТВИЯ



ЗАМЕНА КРОХОТНОГО НУКЛЕОТИДА В ДНК МОЖЕТ ИЗМЕНИТЬ МНОГОЕ

Иван

TTGACGTCA**G**TGCCCGTGAC

Николай

TTGACGTCA**C**TGCCCGTGAC

Иван

TTGACGTCA**G**TGCCCGTGAC

Петр

TTGACGTCA...TGCCCGTGAC