

ОГЛАВЛЕНИЕ

Список сокращений	6
Введение	7
Глава 1. Проблемы и перспективы клинической фармакогенетики	9
1.1. Предмет и задачи клинической фармакогенетики	9
1.2. История развития фармакогенетики	11
1.3. Фармакогенетические исследования: фенотипирование и генотипирование	16
1.4. Как проводятся клинико-фармакогенетические исследования?	18
1.5. Проблемы фармакогенетических тестов на пути к клинической практике	20
Глава 2. Фармакогенетические исследования системы биотранс- формации и транспортеров лекарственных средств	29
2.1. Фармакогенетические исследования I фазы биотрансформации	32
2.2. Фармакогенетические исследования II фазы биотрансформации	76
2.3. Фармакогенетические исследования транспортеров лекарственных средств	93
Глава 3. Клиническое значение «фармакодинамических» полиморфизмов генов	110
3.1. Генетический полиморфизм β_2 -адренорецептора	110
3.2. Генетический полиморфизм ангиотензин- превращающего фермента	111
3.3. Генетический полиморфизм V_2 -брадикининовых рецепторов	112
3.4. Генетический полиморфизм ионных каналов	112
3.5. Недостаточность (дефицит) глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы	115
3.6. Фармакогенетика злокачественной гипертермии	117
Глава 4. Клиническая фармакогенетика не прямых антикоагулянтов	118
4.1. Генетический полиморфизм CYP2C9 и не прямые антикоагулянты	118
4.2. Полиморфизм генов, ответственных за фармакодинамику не прямых антикоагулянтов	128

Глава 5. Клиническая фармакогенетика β-адреноблокаторов . . .	131
5.1. Полиморфизм генов, ответственных за фармакокинетику β -адреноблокаторов	131
5.2. Полиморфизм генов, ответственных за фармакодинамику β -адреноблокаторов	141
Глава 6. Клиническая фармакогенетика блокаторов рецепторов ангиотензина II	144
6.1. Полиморфизм генов, ответственных за фармакокинетику блокаторов рецепторов ангиотензина II	144
6.2. Полиморфизм генов, ответственных за фармакодинамику блокаторов рецепторов ангиотензина II	146
Глава 7. Клиническая фармакогенетика статинов	151
7.1. Полиморфизм генов, ответственных за фармакокинетику статинов	151
7.2. Полиморфизм генов, ответственных за фармакодинамику статинов	156
7.3. Полиморфизм генов, участвующих в патогенезе атеросклероза, и терапия статинами	157
Глава 8. Клиническая фармакогенетика антиагрегантов	159
8.1. Клиническая фармакогенетика ацетилсалициловой кислоты	159
8.2. Клиническая фармакогенетика клопидогрела	162
8.3. Клиническая фармакогенетика блокаторов ПВ-IIIА гликопротеиновых рецепторов	167
Глава 9. Клиническая фармакогенетика лекарственных средств, применяемых в ревматологии	170
9.1. Клиническая фармакогенетика нестероидных противовоспалительных средств	171
9.2. Клиническая фармакогенетика азатиоприна	172
9.3. Клиническая фармакогенетика сульфасалазина	174
9.4. Клиническая фармакогенетика метотрексата	174
Глава 10. Проблема преподавания клинической фармакогенетики и его методического обеспечения	177
10.1. Ситуационные задачи	179
10.2. Тесты	184
Заключение	195

Оглавление	✦	5
Приложение 1	199
Приложение 2	208
Приложение 3	214
Приложение 4	218
Список литературы	227

ВВЕДЕНИЕ

Достижения медицинской науки и внедрение огромного количества новых лекарственных средств (ЛС) не снижают актуальность проблем эффективной и безопасной фармакотерапии. Когда говорят о безопасности фармакотерапии, приводят впечатляющие цифры: только в США ежегодно регистрируют более 2 млн нежелательных лекарственных реакций (НЛР); более 100 000 человек умирают по причине НЛР; экономический ущерб от НЛР возрос с 76,6 (1997) до 177,4 млрд долларов (2001). В то же время эффективность фармакотерапии также остается недостаточной. Так, по данным В.М. Silber, на фармакотерапию не «отвечают» из больных с депрессиями 20–40%, язвенной болезнью — 20–70%, бронхиальной астмой — 40–75%, сахарным диабетом — 50–75%, онкологическими заболеваниями — 70–100%, артрозами — 20–50%, шизофренией — 25–75%, с гиперлипидемиями — 30–75%, артериальной гипертензией — 10–75%, мигренью — 30–60%.

Очевидно, что одним из путей повышения эффективности и безопасности фармакотерапии является внедрение в клиническую практику технологий так называемой персонализированной (персонифицированной) медицины. В основе этих технологий — индивидуальный подход к выбору ЛС и его режима дозирования с учетом факторов, влияющих на фармакологический ответ, которые имеются у конкретного пациента. Известно, что индивидуальный фармакологический ответ зависит от множества факторов, таких как пол, возраст, сопутствующие заболевания, совместно применяемые ЛС, характер питания, вредные привычки и т.д. Однако 50% неблагоприятных фармакологических ответов (развитие НЛР или недостаточная эффективность) зависят от генетических особенностей пациента. Именно поэтому клиническая фармакогенетика предоставляет возможность индивидуализации выбора ЛС и режимов их дозирования на основании изучения генотипа конкретного пациента. В основе подобного рода фармакогенетического тестирования лежит полимеразная цепная реакция (ПЦР), а в качестве биологического материала может быть использована кровь больного или даже соскоб со слизистой оболочки щеки. Стоимость подобных анализов постепенно снижается с каждым годом. Кроме того, в настоящее время активно разрабатывают генетические микрочипы (microarray-technology), позволяющие одновременно и в короткие сроки получить информацию о носительстве большого числа аллельных вариантов генов, ответственных за фармакологические эффекты ЛС, что в будущем обернется созданием так называемого генетического паспорта пациен-

та, на основании которого врач будет выбирать ЛС и его дозу для каждого конкретного пациента.

В представленном учебном пособии сделана попытка раскрыть основные проблемы и перспективы клинической фармакогенетики для повышения эффективности и безопасности применения ЛС. В настоящее время фармакогенетические исследования системы биотрансформации и транспортеров ведут наиболее интенсивно, накоплено много данных в этом направлении, поэтому эти вопросы рассмотрены в отдельной главе. В пособии обобщены как собственный опыт проведения фармакогенетических исследований¹, так и данные литературы. Представлены также и проблемы клинической фармакогенетики отдельных групп ЛС, таких как непрямые антикоагулянты, β -адреноблокаторы, статины, антагонисты ангиотензиновых рецепторов, антиагреганты, ЛС, применяемые в ревматологии. Выбор именно этих ЛС связан, во-первых, с тем, что данные группы ЛС наиболее часто применяют в клинике внутренних болезней, а во-вторых, с тем, что мы имеем результаты и собственных фармакогенетических исследований данных групп ЛС, которые представлены в пособии.

Авторы выражают искреннюю признательность коллективам кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней ММА им. И.М. Сеченова и Института клинической фармакологии ФГУ «НЦ ЭСМП» Росздравнадзора за участие, помощь и содействие в проведении фармакогенетических исследований.

¹ Генетические исследования, упомянутые в пособии, выполняли И.В. Игнатьев, Р.Е. Казаков — сотрудники Института клинической фармакологии ФГУ «НЦ ЭСМП» Росздравнадзора.

Глава 1

Проблемы и перспективы клинической фармакогенетики

1.1. ПРЕДМЕТ И ЗАДАЧИ КЛИНИЧЕСКОЙ ФАРМАКОГЕНЕТИКИ

Клиническая фармакогенетика — раздел клинической фармакологии и клинической генетики, изучающий генетические особенности пациента, влияющие на фармакологический ответ. Эти генетические особенности, как правило, представляют собой полиморфные участки генов белков, участвующих в фармакокинетике или фармакодинамике ЛС (рис. 1-1) [McLeod H.L., 2005]. К первой группе относятся гены, кодирующие ферменты биотрансформации, и гены транспортеров, участвующих во всасывании, распределении и выведении ЛС из организма. В настоящее время активно изучается роль генов, контролирующих синтез и работу ферментов метаболизма ЛС, в частности изоферментов цитохрома P-450 (CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19) и ферментов II фазы биотрансформации (N-ацетилтрансферазы, УДФ-глюкуронилтрансферазы, тиопуринометилтрансферазы, глутатион S-SH-трансферазы и т.д.). В последние годы начали изучать влияние на фармакокинетику ЛС полиморфизма генов так называемых транспортеров ЛС: транспортеров органических анионов (OATP-C, OAT-1, OAT-3), транспортеров органических катионов (OCT-1) и гликопротеина P (MDR1) [Бочков Н.П., 2002, Кукес В.Г., 2004]. Ко второй группе относятся гены, кодирующие молекулы-мишени ЛС (рецепторы, ферменты, ионные каналы), и гены, продукты которых вовлечены в патогенетические процессы [Silber В.М., 2001; Weinshilboum R., 2003]. Именно обнаружение конкретных аллельных вариантов этих генов и является сутью фармакогенетических тестов. Очевидно, что применение таких тестов позволит заранее прогнозировать фармакологический ответ на ЛС (а в некоторых случаях — и тактику ведения пациентов), а следовательно, индивидуализованно подойти к выбору ЛС и его режима дозирования [Середин С.Б., 2004; Ляхович В.В., 2004; Evans W.E., 2003; Kalow W., 2003; Lindpaintner K., 2004].

Генетически детерминированные изменения фармакологического ответа можно классифицировать следующим образом:

- приводящие к серьезным реакциям¹ (например, дефицит глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы) — применение ЛС противопоказано;
- приводящие к нежелательным реакциям, но не относящимся к серьезным (например, носительство «медленных» аллельных вариантов гена CYP2D6, приводящее к фенотипу «медленного метаболизатора») — требуют применения ЛС в низкой дозе;
- неэффективность ЛС или его низкая эффективность (например, дубликация функциональных аллелей гена CYP2D6, приводящая к фенотипу «быстрого метаболизатора») — требуют применения ЛС в высокой дозе.

Представленная классификация, основы которой были заложены Н.П. Скакуном (1981), в нашей модификации удобна для использования в клинической практике, так как позволяет выбрать тактику применения ЛС у пациентов, обладающих теми или иными генетическими особенностями.

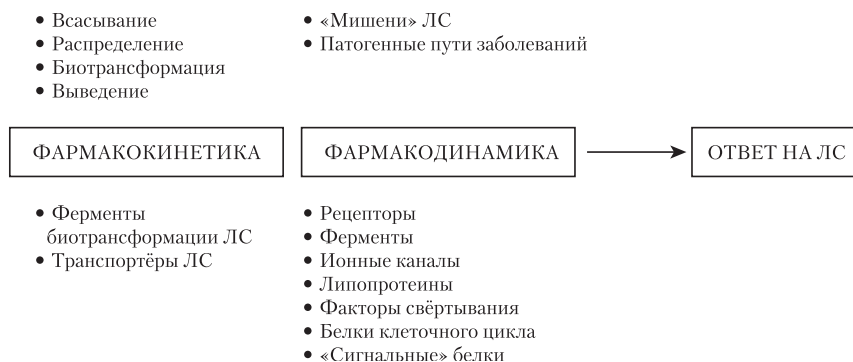


Рис. 1-1. Ответ на лекарственное средство зависит от фармакокинетики и фармакодинамики. Полиморфизмы генов ферментов биотрансформации и транспортеров лекарственных средств могут влиять на фармакокинетику, в то время как полиморфизмы генов белков-мишеней лекарственных средств и белков, участвующих в патогенетических путях заболеваний, могут влиять на фармакодинамику.

¹ Согласно определению ВОЗ, к серьезным реакциям при применении ЛС относят следующие: приводящие к летальным исходам, угрожающие жизни, стойкие/приводящие к инвалидизации, требующие госпитализации, вызывающие врожденные аномалии, требующие вмешательства для предотвращения необратимых повреждений.

1.2. ИСТОРИЯ РАЗВИТИЯ ФАРМАКОГЕНЕТИКИ

Авторы дают разную информацию о том, кто ввел термин «фармакогенетика». По одним источникам, это был F. Vogel (1959), по другим — A.G. Motulsky (1957). С этого времени фармакогенетика прошла ряд условно выделяемых нами этапов:

I этап — накопление фармакогенетических феноменов (1932 г. — начало 1960-х гг.);

II этап — становление фармакогенетики как фундаментальной науки (начало 1960-х–1990-е гг.);

III этап — становление фармакогенетики как прикладной клинической науки, переход от фармакогенетики к фармакогеномике (начало 2000-х гг.).

Наиболее важные события в развитии фармакогенетики представлены в табл. 1-1. Однако фармакогенетика активно развивалась и в СССР, и в России: в ее развитие большой вклад внесли отечественные фармакологи, генетики и клиницисты. Интерес отечественных исследователей к фармакогенетике появляется уже в 60-х гг. XX в. В основном это были публикации, касающиеся таких фармакогенетических феноменов, как повышенная чувствительность к суксаметонию и дефицит глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. Так, в 1965 г. в книге «Современные проблемы физиологии и патологии детского возраста» появился раздел «О фавизме и его этиопатогенезе», написанный И.И. Андреевым (1965). В этом разделе были раскрыты проблемы гемолиза при применении некоторых ЛС и продуктов питания у лиц с наследственным дефицитом глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. После выхода этой работы был выполнен ряд исследований по определению частоты дефицита глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в различных регионах СССР [Джавыдов Р.Ш., 1966; Воронов А.А., 1973; Лысенко А.Я., 1973; Левин Г.С., 1974; Краснопольская К.Д., 1980; Шатская Т.Л., 1980]. А в 1968 г. в журнале «Хирургия» публикуют одну из первых статей, посвященных фармакогенетике миорелаксантов. Эта была статья И.М. Теплунковой «Некоторые проблемы фармакогенетики в анестезиологии (обзор литературы)» [Теплункова И.М., 1968]. С этого времени в СССР проводят исследования по изучению фармакогенетического феномена повышенной чувствительности к суксаметонию [Гладких А.С., 1971; Спицын В.А., 1978; Мачадо М.Х., 1981].

Таблица 1-1. Важнейшие события и открытия в области фармакогенетики

Год	Событие
1932	Описание семейных случаев гемолитической анемии при применении примахина [Cherman, 1932]
1952	Описание семейного случая акаталаземии [Takahara, 1952]
	Описание случая повышенной чувствительности к суксаметонию [Bourne, 1952]
1957	Выдвинуто предположение, что повышенная чувствительность к суксаметонию обусловлена сниженной активностью бутирилхолинэстеразы [Genest, Kalow, 1957]
	Выдвинуто предположение, что идиосинкразия по отношению к лекарственным препаратам может быть вызвана генетическими особенностями и дефицитом ферментов, ничем другим себя не проявляющими [Motulsky A.G., 1957]
1959	Установлено, что причиной гемолиза при применении некоторых ЛС является наследственный дефицит глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы [Gross, Marks, 1959]
	Введен термин «фармакогенетика», означающий «изучение клинически значимых наследственных особенностей» [Vogel F., 1959]
1960	Выявлено, что вариабельность концентрации изониазида в плазме крови обусловлена различной скоростью его ацетилирования (Evans et al., 1960, Blum et al., 1960)
1962	Опубликована книга «Фармакогенетика – наследственность и ответ на лекарственные средства» [Kalow W., 1962]
1969	Определено, что частоты «медленных» ацетиляторов среди европеоидов и монголоидов различаются [Evans, 1969]
1970	Описана низкая активность параоксоназы в плазме крови [Humbert et al., 1970]
	Описано повышение частоты полиневритов при применении изониазида у «медленных» ацетиляторов [Karnow, 1970]
	Установлен тип наследования дефицита глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы [Artus, 1970]
1975	Описан фенотип медленного метаболизма дебризохина [Eichelbaum, 1975]
1977	Установлено, что фенотип медленного метаболизма дебризохина связан с полиморфизмом гена CYP2D6 [Iddle и Mahgoub, 1977] ВОЗ выпускает серию технических докладов № 524 «Фармакогенетика»

Продолжение табл. 1-1

1980	Описан наследственный дефицит тиопуринометилтрансферазы, связанный с токсическим действием меркаптопурина [Weinshilboum, Sladek, 1980]
1985	Описан генетический полиморфизм дигидропиримидиндегидрогеназы как причина повышенной чувствительности к фторурацилу [Touchman, 1985]
1987	Описан генетический полиморфизм CYP2C9 [Aithal, 1988]
1988	Охарактеризованы аллельные варианты гена CYP2D6 [Gonzalez et al., 1988]
1990-е гг. по настоящее время	Исследования ассоциаций между носительством аллельных вариантов различных генов и изменения фармакокинетики и фармакодинамики ЛС
2000	Национальный институт здоровья (National Institute of Health – NIH) (США) объявил о создании исследовательской сети по фармакогеномике (Pharmacogenetics Research Network)
Начало 2000-х гг.	Разработка и внедрение в клиническую практику фармакогенетических тестов для выбора ЛС и их режимов дозирования
2003	Завершение проекта «Геном человека»
2004	FDA одобрено применение первого фармакогенетического чипа AmpliChip P450
2005	Совет международных организаций по научной медицине (Council for International Organizations of Medical Sciences – CIOMS) (создан ВОЗ и ЮНЕСКО в 1949 г.) издал руководство «Фармакогенетика: предстоящее улучшение применения лекарственных средств» (февраль 2005 г.)
	FDA утверждено руководство для фармацевтической отрасли по разработке и исследованиям фармакогенетических тестов (март 2005 г.)

В декабре 1973 г. во 2-м МОЛГМИ им. Н.И. Пирогова создают первую в СССР лабораторию фармакологической генетики, в которой начинают активно проводить фармакогенетические исследования психотропных ЛС. До 1986 г. это научное подразделение работало в составе 2-го ММИ им. Н.И. Пирогова, а затем, по настоящее время, в ГУ НИИ фармакологии РАМН. Главным итогом работы лаборатории фармакогенетики в 1975–1980 гг. стала формулировка научного положения о закономерности индивидуальных реакций на бромдигидрохлорфенил-

бензодиазепин и мезокарб и зависимости их эффектов и других психотропных средств от генетически детерминированного индивидуального ответа на эмоционально-стрессовое воздействие, что обосновало концепцию индивидуальной психофармакотерапии и профилактики [Вальдман А.В., 1979]. Используя экспериментально-фармакогенетическую методологию, сотрудники лаборатории выявили важные нейрохимические механизмы на уровне ГАМК-А-бензодиазепинового рецепторного комплекса, определяющие возникновение в момент стресса реакции страха с замиранием либо активацию поведения. Полученные данные позволили сформулировать концепцию механизма действия и химической структуры нового оригинального соединения, предупреждающего ангиогенез, на основе которой под руководством С.Б. Середенина создан лекарственный препарат афобазол, успешно прошедший клинические испытания и применяемый в клинической практике [Середенин С.Б., 2004]. Другой важной проблемой лаборатории стали исследования по мутагенезу. Проведен большой объем работ на мутагенность. Проведен скрининг более 50 вновь разрабатываемых лекарств. Сотрудники лаборатории участвовали в создании утвержденных Минздравом РФ рекомендаций по схеме изучения мутагенных эффектов лекарств. Изучение механизмов становления мутаций привело коллектив к новой задаче — поиску антимутагенных средств. В этом аспекте был изучен и предложен для практического применения ряд известных и вновь созданных лекарств. Значимым событием явилось доказательство индукции хромосомных повреждений у млекопитающих при эмоционально-стрессовых воздействиях [Середенин С.Б., Дурнев А.Д., 1998]. В 2000 г. на базе отдела фармакогенетики ГУ НИИ фармакологии им. В.В. Закусова была организована первая и пока единственная в России кафедра фармакогенетики РГМУ, возглавляемая С.Б. Середениным, где читают лекции, проводят занятия со студентами медико-биологического факультета РГМУ.

В 1974 г. Н.П. Бочков в статье «Состояние и перспективы развития медицинской генетики», опубликованной в Вестнике АМН СССР, подчеркивает большое значение проведения фармакогенетических исследований для оптимизации применения ЛС [Бочков Н.П., 1974]. В этом же году выходят первые подробные обзоры на русском языке, посвященные состоянию фармакогенетики на тот период времени: «Основные направления генетических исследований в фармакологии», написанный М.О. Мхеидзе, опубликованный в журнале «Клиническая медицина» [Мхеидзе М.О., 1974] и «Фармакогенетика, ее достижения и перспективы (обзор литературы)», опубликованный в журнале «Врачебное дело» и написанный Н.П. Скакуном, который двумя годами поз-

же опубликовал первую монографию по фармакогенетике на русском языке «Основы фармакогенетики» [Скакун Н.П., 1974, 1976]. В этой монографии были изложены основные принципы этой новой науки. Монография была переиздана со значительными дополнениями в 1981 и 2002 гг., в течение многих лет оставаясь единственным пособием по фармакогенетике на русском языке. В 1976 г. вышло еще несколько обзорных статей по фармакогенетике, написанных коллективом авторов под руководством Н.П. Скакуна [Кудрин А.Н. и соавт., 1976].

Стимулом для фармакогенетических исследований системы биотрансформации в СССР и России был выход двух монографий: «Микросомальное окисление» [Арчаков А.И., 1975] и «Биотрансформация лекарственных веществ» [Лакин К.М., Крылов Ю.Ф., 1981]. В эти годы активно проводили исследования, посвященные изучению клинического значения определения скорости ацетилирования изониазида, сульфаниламидов и других ЛС [Добровольская М.П., 1967; Буловская Л.Н., 1978; Холодов Л.Е., 1979; Лильин Е.Т., 1979, 1981]. В настоящее время под руководством С.Ш. Сулейманова проводят исследования роли скорости ацетилирования, оцениваемой по так называемому изониазидовому тесту, в течении различных заболеваний [Сулейманов С.Ш.]. В.И. Погорельцевым и соавт. проведены работы, посвященные применению определения фенотипа ацетилирования по так называемому сульфадимидиновому тесту для индивидуализации фармакотерапии психотропными ЛС [Погорельцев В.И.].

В 1984 г. выходят еще две монографии по фармакогенетике: «Введение в современную фармакогенетику» [Лильин Е.Т., Трубников В.И., Ванюков М.М., 1984] и «Основы и педиатрические аспекты фармакогенетики» [Соради И., пер. с венгерского, 1984]. В настоящее время главы по фармакогенетике присутствуют во всех крупных учебниках и руководствах по фармакологии и клинической фармакологии [Белоусов Ю.Б., 1997, 2002; Кукес В.Г., 1999, 2004, 2006].

С конца 1990-х гг. на кафедре клинической фармакологии ММА им. И.М. Сеченова и в Институте клинической фармакологии НЦ ЭСМП Росздравнадзора активно проводят возглавляемые В.Г. Кукесом клинические фармакогенетические исследования системы биотрансформации (CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4) и транспортеров (гликопротеин Р) ЛС, целью которых является разработка алгоритмов выбора ЛС (непрямые антикоагулянты, сердечные гликозиды, β -адреноблокаторы, статины и т.д.) и их режимов дозирования в зависимости от генетических особенностей пациентов. Кроме того, у представителей различных этнических групп России и стран СНГ проводят исследования, направленные на изучение частот аллелей и генотипов по клинически значи-

мым аллельным вариантам генов, кодирующих изоферменты цитохрома P-450 и транспортеры ЛС, различия в которых являются основой этнической чувствительности к ЛС. Первым подобным исследованием русского населения г. Воронежа было исследование, выполненное под руководством Ю.Н. Чернова, в котором участвовали люди, русские по национальности [Gaikovitch E.A., 2003].

Изучение влияния носительства различных аллельных вариантов генов, кодирующих ферменты I и II фаз биотрансформации, на эффективность фармакотерапии бронхиальной астмы и эндометриоза проведено под руководством В.С. Баранова [Баранов В.С., 2002]. Этим же коллективом создан первый отечественный фармакогенетический чип [Глотов А.С., 2005]. Роль полиморфизма гена MDR1, кодирующего гликопротеин P, в течении лейкозов изучают под руководством В.В. Ляховича [Ляхович В.В., 2004]. Под руководством В.В. Носикова и Д.А. Затеищикова выполнен ряд работ по изучению влияния полиморфизма генов, кодирующих изоферменты цитохрома P-450 и различные молекулы-мишени ЛС, на эффективность ЛС, применяемых в кардиологической практике [Носиков В.В., Затеищиков Д.А., 2005].

Таким образом, в России в течение нескольких десятков лет проведено множество фармакогенетических исследований, и интерес к фармакогенетике в нашей стране возрастает с каждым годом. Однако на пути к реальной клинической практике фармакогенетика в России, так же как и во всем мире, сталкивается с пока не решенными проблемами, о которых пойдет речь ниже.

1.3. ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ: ФЕНОТИПИРОВАНИЕ И ГЕНОТИПИРОВАНИЕ

Первыми фармакогенетическими тестами были такие методики исследования, в основе которых лежало определение активности ферментов биотрансформации (фенотипирование пациентов) по фармакокинетике ЛС (ЛС-маркеры), являющихся субстратами данных ферментов и (или) их метаболитов. Так определяют скорость ацетилирования, окисления (суммарное- антипириновый тест или по отдельным изоферментам цитохрома P-450, например CYP2D6 — дебризохиновый тест, спартеиновый тест и т.д.). По сути, эти тесты оценивают фенотипические проявления полиморфизма генов, кодирующих ферменты биотрансформации. По нашему мнению, фенотипирование пациентов имеет следующие недостатки.

- Для проведения теста необходим однократный прием ЛС-маркера, при этом возможно возникновение нежелательных реакций.
- Инвазивность (необходим многократный забор крови) и неудобство для пациентов (трудность применения в амбулаторных условиях — необходимо долго находиться в клинике).
- Необходимо определять концентрацию ЛС-маркера и (или) его метаболита в плазме крови в нескольких временных «точках».
- Тесты оценивают активность ферментов биотрансформации, которая может определяться не только генетическими особенностями пациента, но и совместно применяемыми ЛС (ингибиторами/индукторами), возрастом, полом, суточным биоритмом (активность CYP3A4 изменяется в течение суток), характером питания, курением, приемом алкоголя и т.д. В связи с этим результаты тестов не постоянны и могут изменяться во времени.
- Тесты трудно использовать для крупных популяционных исследований и оценки этнической чувствительности к ЛС.

Этих недостатков лишены собственно фармакогенетические тесты, в основе которых лежит выявление аллельных вариантов генов системы биотрансформации и транспортеров ЛС, определяющих фармакологический ответ (генотипирование пациентов). Их преимущества следующие.

- Тест не требует приема ЛС-маркеров, т.е. может прогнозировать фармакологический ответ до приема ЛС.
- Необходим однократный забор крови или даже другого биологического материала (соскоб с внутренней поверхности щеки, волосы) в любое время.
- Тест не требует определения в нескольких временных «точках».
- Результаты не изменяются во времени в течение всей жизни, что создает перспективу для создания так называемого фармакогенетического паспорта пациента.
- Тесты оценивают только «генетический» компонент, влияющий на фармакологический ответ.
- Тесты относительно недороги (требуется оборудование только для выполнения ПЦР).
- С помощью этих тестов можно проводить крупные популяционные исследования.

1.4. КАК ПРОВОДЯТСЯ КЛИНИКО-ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ?

Внедрению фармакогенетического теста в клиническую практику всегда предшествует серия клинико-фармакогенетических исследований. Сначала необходимо найти и доказать наличие ассоциации между носительством конкретного аллельного варианта того или иного гена и неблагоприятным фармакологическим ответом на определенное ЛС (развитие НЛР или недостаточная эффективность) [Kirchheiner J., 2005]. При изучении полиморфизма генов ферментов биотрансформации и транспортеров ЛС проводят определение концентрации ЛС у групп лиц, разделенных в зависимости от носительства того или иного аллельного варианта. Как правило, это ЛС, для которых уже известно, что они являются субстратами для фермента биотрансформации или транспортера, полиморфизм гена которого изучают. На первом этапе в клинические испытания включают небольшое количество здоровых добровольцев (12–30 человек), а ЛС применяют однократно, при этом анализируют не только фармакокинетические параметры, но и, если это возможно, фармакодинамические эффекты (например, АД — для антигипертензивных ЛС, содержание глюкозы в плазме крови — для пероральных гипогликемических ЛС и т.д.). Однако если изучаемое ЛС вызывает фармакодинамические эффекты только при длительном применении (статины) или только при наличии патологии (анальгетики), то ограничиваются анализом только их фармакокинетики. Уже на этом этапе могут быть найдены различия фармакокинетических параметров (клиренс, период полувыведения, АУС и т.д.) у лиц, являющихся носителями того или иного аллельного варианта изучаемого гена, по сравнению с теми, кто его не несет. В последующем проводят клинические испытания также с участием здоровых добровольцев, при этом ЛС применяют длительно. В этих клинических испытаниях, как правило, изучают равновесную концентрацию ЛС, регистрируют фармакодинамические эффекты, в том числе и НЛР. После этого проводят клинические испытания с участием пациентов. Их также делят в зависимости от носительства аллельных вариантов того или иного гена, и они получают ЛС в течение длительного времени. При этом иногда проводят укороченные фармакокинетические исследования ЛС (до 4–6 ч), однако чаще ограничиваются определением равновесной концентрации ЛС. В данных клинических испытаниях, наряду с НЛР, изучают и эффективность ЛС в зависимости от генотипа.

При изучении полиморфизма генов, кодирующих молекулы-мишени (рецепторы, ферменты, ионные каналы), анализируют фармакодинамические эффекты ЛС в зависимости от носительства аллельных вариантов того или иного гена сначала у здоровых добровольцев при его однократном и длительном применении, а затем у больных также при однократном и длительном применении. В этих клинических испытаниях задействовано небольшое количество участников. При изучении полиморфизма генов, продукты которых вовлечены в патогенез заболеваний, в клинические испытания включают обычно только пациентов, страдающих данными заболеваниями.

Подобного рода клинические испытания и стали основными источниками большинства данных по ассоциациям полиморфизма различных генов с изменениями фармакокинетики и фармакодинамики и, как следствие, развитием НЛР или недостаточной эффективностью ЛС.

Кроме того, одним из способов изучения ассоциаций между НЛР и аллельными вариантами является изучение их частот в группах пациентов, у которых были зарегистрированы НЛР. Например, подобное исследование проводили в Германии. Wootke и соавт. (2002), опросив 1200 немецких врачей, изучили генотип CYP2D6 у 26 пациентов с серьезными НЛР метопролола (коллапс, асистолия, выраженная брадикардия, АВ-блокады III степени) и установили, что 38% из них были гомозиготами по функционально дефектным аллельным вариантам гена CYP2D6. Эта частота была в пять раз выше по сравнению с пациентами, у которых не наблюдали серьезных НЛР при применении метопролола [Wuttke H., 2002]. Однако количество подобного рода исследований ограничено.

Очевидно, что наиболее достоверно доказать ассоциацию между носительством аллельного варианта того или иного гена и неблагоприятным фармакологическим ответом можно только в мультицентровом клиническом испытании. Этот подход можно назвать фармакогенетикой с позиций доказательной медицины или доказательной фармакогенетикой. Лишь небольшое количество подобных ассоциаций подтверждено в мультицентровых исследованиях. Кроме того, не секрет, что большинство проводимых в настоящее время мультицентровых клинических испытаний дополняются определением у пациентов аллельных вариантов различных генов. Если спонсором мультицентрового исследования являются государственные структуры, то, как правило, результаты анализа ассоциаций становятся известны широкой медицинской общественности. Однако большинство клинических испытаний финансируется крупными фармацевтическими компаниями, при этом нет гарантий, что данные по найденным ассоциациям будут опубликованы.

После выявления и доказательства ассоциации между носительством аллельного варианта того или иного гена и неблагоприятным фармакологическим ответом разрабатывают тактику фармакотерапии в зависимости от результатов фармакогенетического теста. После этого необходимо провести специальные клинические испытания, в которых сравнивались бы эффективность и безопасность ЛС при традиционном подходе и с учетом результатов фармакогенетического теста. Немаловажным аспектом является изучение и фармакоэкономического преимущества применения ЛС с учетом результатов фармакогенетического теста.

Следует отметить, что основные принципы проведения фармакогенетических исследований изложены в специальных рекомендациях FDA, принятых в марте 2005 г. (Guidance for industry. Pharmacogenomics data submissions. FDA).

На основании анализа результатов собственных исследований и данных литературы мы пришли к выводу, что фармакогенетическое тестирование в клинической практике в перспективе будет показано в следующих ситуациях.

- У пациентов с высоким риском развития НЛР.
- Перед назначением ЛС с узким терапевтическим диапазоном.
- Перед назначением ЛС с большим спектром НЛР.
- Перед назначением ЛС, вызывающего прогностически неблагоприятные НЛР.
- Если планируют длительное применение ЛС.

1.5. ПРОБЛЕМЫ ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКИХ ТЕСТОВ НА ПУТИ К КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

По нашему мнению, фармакогенетический тест можно считать пригодным для клинической практики при следующих условиях.

- Наличие выраженной ассоциации между выявляемой аллелью того или иного гена и неблагоприятным фармакологическим ответом (развитие НЛР или недостаточная эффективность).
- Выявляемую (как правило, минорную) аллель должны наблюдать в популяции с частотой не менее 1%.
- Фармакогенетический тест должен обладать высокой чувствительностью, специфичностью, предсказательной ценностью положительного (PPV) и отрицательного (NPV) результатов.

- Должен быть хорошо разработан алгоритм применения ЛС в зависимости от результатов фармакогенетического теста: выбор ЛС, его режима дозирования, «агрессивная» тактика ведения пациента и т.д.
- Должны быть доказаны преимущества применения ЛС с использованием результатов фармакогенетического теста по сравнению с традиционным подходом: повышение эффективности, безопасности фармакотерапии, а также экономическая рентабельность.

Разберем каждое из этих требований.

Следует отметить, что к настоящему времени для большого числа аллельных вариантов различных генов данные по подобным ассоциациям, полученные в клинических испытаниях, противоречивы или они получены только в единичных исследованиях. Так, в настоящее время проведено восемь клинических испытаний, в которых изучали влияние аллельного варианта С3435Т гена MDR1, кодирующего гликопротеин Р, на фармакокинетику дигоксина. В пяти исследованиях показано, что содержание дигоксина в плазме крови выше у лиц с ТТ-генотипом, в двух — у лиц с СС-генотипом и в одном исследовании не найдено ассоциации между носительством аллельного варианта С3435Т и содержанием дигоксина в плазме крови [Сычев Д.А., 2005]. Исключение составляют несколько генов ферментов биотрансформации, для которых фармакогенетические тесты уже разработаны и внедрены в клиническую практику (табл. 1-2). Кроме того, не все ассоциации между носительством аллельного варианта того или иного гена и неблагоприятным фармакологическим ответом проверены в мультицентровых клинических испытаниях. Этому есть объективные причины, такие как незаинтересованность фирм-спонсоров в подобных исследованиях или умышленное утаивание результатов. Такие исследования, скорее, являются исключением, чем правилом. Например, в 2001 г. компания «Genaisance» начала исследование STRENGTH, целью которого было изучение влияния генетических особенностей пациентов на эффективность и безопасность статинов, что позволит выбирать наиболее эффективный и безопасный препарат для каждого больного с учетом его генотипа [Kewal J., 2002].

Таблица 1-2. Фармакогенетические тесты, используемые в клинической практике для индивидуализации фармакотерапии

Лекарственные средства	Показания к применению	Фармакогенетический тест	Тактика
Трастузумаб ¹	Рак молочной железы	Выявление экспрессии HER2 в опухоли	При выявлении экспрессии HER2 в опухоли показано применение трастузумаба
Меркаптопурин ¹	Лимфобластный и миелобластный лейкозы	Выявление «медленных» аллельных вариантов гена TPMT	При выявлении гетерозиготного носительства «медленных» аллельных вариантов показано назначение меркаптопурина в минимальной дозе (50 мг/(м ² ×сут), при выявлении гомозиготного носительства – воздержаться от применения меркаптопурина
Тиоридазин ¹	Шизофрения, маниакально-депрессивный психоз	Выявление «медленных» аллельных вариантов гена CYP2D6	Выявление «медленных» аллельных вариантов является противопоказанием для применения тиоридазина
Трициклические антидепрессанты	Депрессии	Выявление «медленных» аллельных вариантов гена CYP2D6	При выявлении «медленных» аллельных вариантов необходимо начинать применение антидепрессантов с минимальных доз

Продолжение табл. 1-2

Атомоксетин ¹	Синдром гипер-активности и нарушения внимания у детей	Выявление «медленных» аллельных вариантов гена CYP2D6	При выявлении «медленных» аллельных вариантов: допускают применение атомоксетина только под контролем терапевтического лекарственного мониторинга (концентрация атомоксетина в плазме крови); не допускают комбинации с пароксетином, флуоксетином, хинидином
Пергексиллина малеат ^{2, 3}	Стенокардия напряжения	Выявление «медленных» аллельных вариантов гена CYP2D6	При выявлении «медленных» аллельных вариантов следует отказаться от применения пергексиллина
Варфарин	Профилактика и лечение тромбозов и тромбоэмболических осложнений	Выявление «медленных» аллельных вариантов гена CYP2C9	При выявлении гетерозиготного носительства «медленных» аллельных вариантов начинать терапию варфарином следует с дозы 2,5 мг/сут, при выявлении гомозиготного носительства — 1,25 мг/сут
Суксаметония йодид	Миорелаксация при проведении оперативных вмешательств	Выявление «медленных» аллельных вариантов гена BCHE	При выявлении «медленных» аллельных вариантов следует отказаться от применения суксаметония йодида

Окончание табл. 1-2

Сульфасалазин	Ревматоидный артрит, неспецифический язвенный колит	Выявление «медленных» аллельных вариантов гена NAT2	При выявлении «медленных» аллельных вариантов поддерживающая доза сульфасалазина не должна превышать 1,5 г/сут
---------------	---	---	--

Примечание: ¹ Фармакогенетический тест одобрен FDA.

² Фармакогенетический тест применяют только в Австралии и Новой Зеландии.

³ Препарат в России не зарегистрирован.

Очевидно, что фармакогенетический тест целесообразно внедрять в клиническую практику, только если частота выявляемого аллельного варианта в популяции составляет более 1%. Однако если носительство аллельного варианта ассоциируется с опасной для жизни НЛР, то такой тест необходимо использовать, даже если частота данного аллельного варианта менее 1%. Например, частота «медленных» аллельных вариантов гена TPMT составляет 0,3%. В связи с тем, что носительство «медленных» аллельных вариантов гена TPMT ассоциируется с серьезными поражениями костного мозга при применении меркаптопурина, выявление подобных генетических особенностей пациентов используют для индивидуализированного выбора режима дозирования данного ЛС, что значительно повышает безопасность проводимой терапии [Weinshilboum R., 2002]. Однако частота аллельных вариантов может значительно отличаться в различных этнических группах. Так, фармакогенетический тест может быть клинически значимым в регионах, в которых частота выявляемого аллельного варианта в этнических группах, проживающих на данной территории, высокая. При этом внедрение того же фармакогенетического теста будет менее актуальным, если частота выявляемого аллельного варианта в этнических группах, проживающих на данной территории, наоборот, низкая. Например, частота «медленных» аллельных вариантов CYP2C9*2 и CYP2C9*3, носительство которых ассоциируется с высоким риском кровотечений при приеме варфарина, в европейских этнических группах составляет 11% и 7%, а в азиатских — 0,1% и 3% соответственно [Xie H.G., 2002]. Из этого следует, что перед внедрением в клиническую практику фармакогенетического теста в определенном регионе необходимо изучить частоту выявляемого аллель-

ного варианта в этнических группах, проживающих в нем. Подобные исследования активно проводят в различных странах, и, на наш взгляд, эти исследования особенно актуальны для многонациональных государств, таких как Россия. Так, в Москве, Санкт-Петербурге, Воронеже и даже в Чукотском автономном округе проведено исследование частоты аллельных вариантов генов, кодирующих изоферменты цитохрома P-450 и гликопротеина P в этнической группе русских [Кукес В.Г., 2002; Сироткина О.В., 2004; Сычев Д.А., 2005, Gaikovitch E.A., 2003].

Важными характеристиками фармакогенетического теста являются значения чувствительности, специфичности, предсказательной ценности положительного (PPV) и отрицательного результатов (NPV). При низких значениях этих показателей внедрение фармакогенетического теста окажется, скорее всего, экономически не оправданным. Кроме того, 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 [Rothstein M.A., 2003]. Значения PPV и NPV некоторых фармакогенетических тестов представлены в табл. 1-3.

Таблица 1-3. Предсказательные ценности положительного и отрицательного результатов некоторых фармакогенетических тестов

Лекарственные средства	Прогнозируемое изменение фармакологического эффекта	Фармакогенетический тест	PPV, %	NPV, %
Трициклические антидепрессанты	Гипотензия, агитация, сонливость	Выявление «медленных» аллельных вариантов гена CYP2D6	63	80
Варфарин	Кровотечения	Выявление «медленных» аллельных вариантов гена CYP2C9	16	97

Продолжение табл. 1-3

Пеницилламин	Высокая эффективность при ревматоидном артрите	Выявление нулевых аллелей гена GSTM1	30	87
Изониазид	Полиневриты	Выявление «медленных» аллельных вариантов гена NAT2	24	94

Примечание: PPV — предсказательная ценность положительного результата.
NPV — предсказательная ценность отрицательного результата.

Тактика применения ЛС в зависимости от результатов фармакогенетических тестов разработана только для тех тестов, которые уже используются в клинической практике (см. табл. 1-2). Экономические последствия внедрения фармакогенетических тестов в клиническую практику в большинстве случаев рассчитаны лишь теоретически. Так, по подсчетам, сделанным в США, выявление «медленных» аллельных вариантов гена CYP2C19 для прогнозирования антисекреторного эффекта ингибиторов протонного насоса и выбора их режима дозирования может сохранить примерно 5 000 долларов на каждые 100 протестированных пациентов из азиатских этнических групп [Wedlund P.J., 2000]. Только для двух фармакогенетических тестов продемонстрировано, что их применение приводит к снижению затрат на лечение. Это тесты, в которых выявляют «медленные» аллельные варианты гена CYP2C9, для прогнозирования кровотечений при применении варфарина и «медленные» аллельные варианты, а также функциональных аллелей гена CYP2D6 для прогнозирования НЛР и эффективности трициклических антидепрессантов [Rothstein M.A., 2003]. Так, при сравнении стоимости лечения варфарином с выявлением «медленных» аллельных вариантов гена CYP2C9 и без него оказалось, что данный фармакогенетический тест позволяет снизить расходы на 4700 долларов на каждые 100 пациентов, пролеченных в течение одного года [You J.H., 2004].

Таким образом, существование ряда пока неразрешенных проблем, связанных с фармакогенетикой, является причиной того, что фармакогенетические тесты в клинической практике применяют крайне редко [Kirchheiner J., 2005]. По данным S.J. Gardiner и E.J. Begg, (2005), в Австралии и Новой Зеландии за один год проводят не больше 1000 тес-

тов. При этом наиболее часто используют определение аллельных вариантов генов TPMT (400 тестов в год) и CYP2D6 (250 тестов в год), а определение «медленных» аллельных вариантов генов CYP2D6 и NAT2 за исследуемый год не применяли ни разу. В России фармакогенетические тесты в клинической практике также редко используют. Их иногда выполняют в некоторых НИИ РАМН и крупных коммерческих медицинских центрах, хотя в России существует законодательная база для использования фармакогенетических тестов в практическом здравоохранении. Так, в приказе Минздрава РФ № 494 от 22.10.03 «О совершенствовании деятельности врачей–клинических фармакологов» говорится о том, что в крупных ЛПУ должны быть организованы специальные лаборатории фармакогенетики, в которых будут проводить подобные исследования, результаты которых клиницисты должны использовать для персонализированного подхода к выбору ЛС и его режима дозирования (http://www.pharmvestnik.ru/issues/0320/documents/0320_17.html). Однако в приказе нет указаний на то, какие именно фармакогенетические тесты должны быть использованы и как их следует интерпретировать. Кроме того, не указана техническая база подобной лаборатории (примерный перечень оборудования и расходных материалов), поэтому указанный приказ носит пока лишь декларативный характер.

Однако, несмотря на это, перспективность фармакогенетического тестирования для практического здравоохранения настолько очевидна, что это нашло свое отражение в специальных рекомендациях по этическим, юридическим и социальным последствиям генетического тестирования, составленных экспертами Европейской комиссии (http://europa.eu.int/comm/research/conferences/2004/genetic/pdf/recommendations_en.pdf).

Серьезным препятствием к внедрению фармакогенетических тестов в клиническую практику является низкий уровень компетенций в области клинической фармакогенетики у врачей и организаторов здравоохранения, о чем подробно речь пойдет в главе 9.

За последние несколько десятков лет фармакогенетика достигла серьезных успехов. Количество фармакогенетических исследований растет как снежный ком. В сети Интернет даже существует постоянно обновляемый ресурс, на котором собраны результаты всех проведенных фармакогенетических исследований: www.pharmgkb.org [Thorn C.F., 2005]. И в настоящее время уже нет никаких сомнений в том, что внедрение фармакогенетических тестов в клиническую практику является реальным путем к персонализированной медицине и, как следствие, к повышению эффективности и безопасности фармакотерапии. Уже разработан ряд фармакогенетических тестов. Кроме того, активно ведется раз-

работка генетических микрочипов (microarray-technology), позволяющих выявлять одновременно целые серии мутантных аллелей, ответственных за изменение фармакологического ответа. Однако темпы внедрения фармакогенетики в реальную клиническую практику нельзя признать удовлетворительными. Предстоит еще решить ряд проблем, для того чтобы клиническая фармакогенетика стала прикладной наукой, а фармакогенетические тесты стали бы обязательными исследованиями в повседневной клинической практике.