Казахский национальный университет имени аль-Фараби

Факультет биологии и биотехнологии

Кафедра молекулярной биологии и генетики

Дисциплина «Фармакогенетика»

Лекция 6

Роль полиморфных вариантов генов ферментов I фазы биотрансформации

Суперсемейство цитохромов P450 (CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4), DPYD, параоксоназа (PON1), бутирилхолинэстераза (BCHE) и ADH2/ALDH2

Автор: Амирова Айгуль Кузембаевна, к.б.н., ассоциированный профессор
Электронная почта: aigul_amir@mail.ru

Цель и структура лекции

Цель: изучить молекулярные основы полиморфизма микросомальных монооксигеназ CYP450 и немикросомальных ферментов I фазы

01 Система цитохромов P450

Строение гемопротеина, номенклатура семейств/подсемейств и локализация в ЭПР

02 Индукторы и ингибиторы CYP

Ядерные рецепторы PXR/CAR/AhR, перекрестная специфичность и ингибирование циметидином

03 Полиморфизм CYP2D6 и CYP2C19

Звездные аллели, метаболизм кодеина и тамоксифена (CYP2D6), клопидогрела и ИПП (CYP2C19)

04 Полиморфизм CYP2C9 и CYP3A4/5

Дозирование варфарина (CYP2C9 + VKORC1) и такролимуса в трансплантологии (CYP3A5)

05 DPYD, PON1 и BCHE

Токсичность 5-ФУ (ДПДГ), чувствительность к ФОС (параоксоназа) и апноэ на суксаметоний

06 Дегидрогеназы ADH2 и ALDH2

Фармакогенетика биотрансформации этанола и этногенетические различия токсичности ацетальдегида

Система цитохрома P450: структура и каталитический цикл

Монооксигеназное окисление ($RH + O_2 + NADPH + H^+ \rightarrow ROH + H_2O + NADP^+$) в мембранах гладкого ЭПР гепатоцитов и энтероцитов

1. Связывание субстрата

Липофильное ЛС вытесняет H_2O из координационной сферы иона Fe^{3+} гема

2. 1-й электрон (POR)

NADPH-CYP-редуктаза переносит электрон через FAD/FMN на гем ($Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$)

3. Связывание O_2

Образование оксикомплекса $Fe^{2+}–O_2$ (в комплексе с CO дает максимум поглощения 450 нм)

4. 2-й электрон и расщепление

Присоединение 2-го электрона, отщепление H_2O и образование оксоферрила $Fe^{4+}=O$

5. Гидроксилирование

Внедрение атома кислорода в субстрат (ROH) — рост гидрофильности молекулы

Из 57 функциональных генов CYP человека семейства 1, 2 и 3 отвечают за метаболизм ксенобиотиков и лекарств.

Таксономическая номенклатура суперсемейства цитохромов P450

Классификация по идентичности аминокислотных последовательностей (пример: CYP3A4 и CYP2D6*4)

CYP — Корень суперсемейства

- Cytochrome P450 — пигмент с пиком поглощения света на 450 нм при восстановлении и связи с угарным газом
- Названия генов/аллелей выделяются курсивом (CYP2D6*4), названия ферментов — прямым шрифтом

Цифра (3) — Семейство (>40% гомологии)

- Объединяет белки с идентичностью аминокислотной последовательности более 40%
- У человека описано 18 семейств CYP; ксенобиотики метаболизируют главным образом CYP1, CYP2 и CYP3

Буква (A) — Подсемейство (>55% гомологии)

- Гены одного подсемейства (например, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19) часто образуют единый хромосомный кластер
- Определяет сходство пространственной укладки активного центра

ра + * (4, *4) — Изофермент и звездный аллель

- Вторая арабская цифра обозначает конкретный ген (CYP3A4, CYP2D6), а цифра после звездочки — аллель (PharmVar)
- Шесть генов (CYP1A1, 1A2, 2C9, 2C19, 2D6, 3A4) обеспечивают ~90% реакций I фазы ЛС

Вклад основных изоферментов CYP450 в метаболизм лекарственных средств

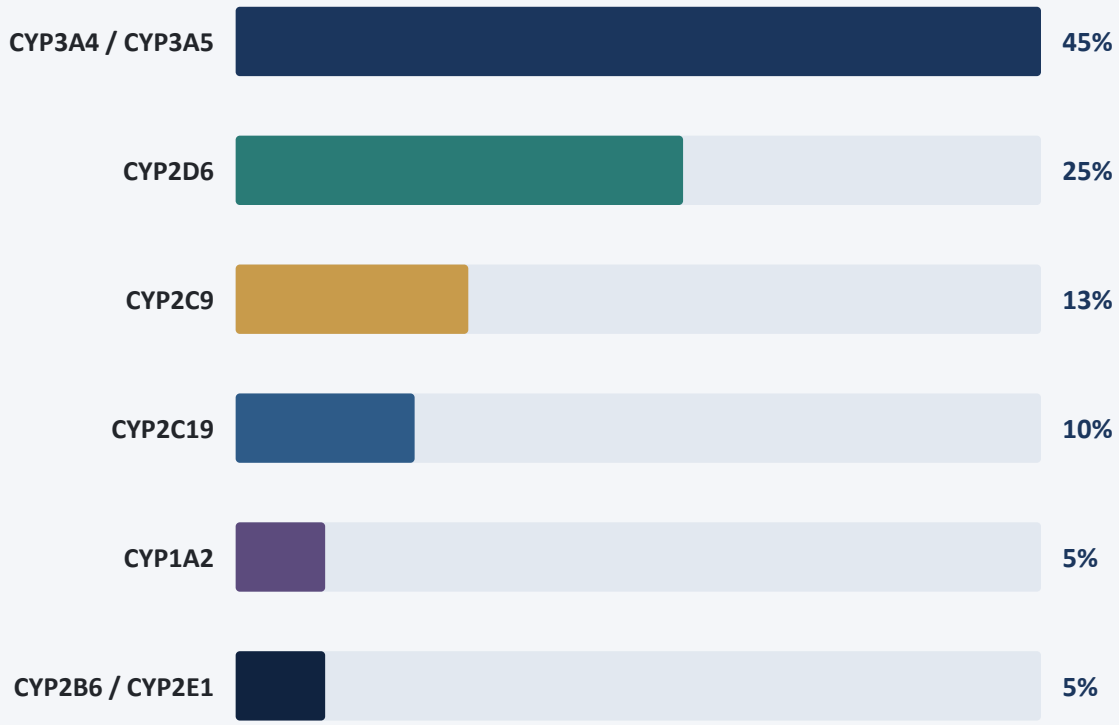
Процентное распределение клинически применяемых препаратов по ключевым ферментам I фазы

75–80%
Доля CYP450 в I фазе

~25%
Метаболизирует CYP2D6

>170
Аллелей CYP2D6 в PharmVar

Доля ЛС, метаболизируемых основными изоферментами CYP450 (%)



Ключевая особенность

- CYP3A4/5 метаболизирует почти половину всех ЛС (макролиды, блокаторы Ca^{2+}, статины, такролимус)
- CYP2D6 составляет лишь ~2–4% белка CYP в печени, но разрушает/активирует до 25% лекарств и не индуцируется ксенобиотиками
- Перекрестная специфичность многих субстратов допускает обходные пути клиренса при блокаде основного CYP

Ингибиторы и индукторы цитохромов P450 в клинике

Негенетическая модуляция активности CYP способна превратить нормального метаболизатора в медленного или ультрабыстрого

Ингибиторы CYP450 (эффект феноконверсии NM → PM)

- Угнетение фермента наступает быстро (с первых доз) и замедляет выведение субстратов
- Классический универсальный ингибитор: циметидин — одновременно блокирует CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 и CYP3A4
- Сильные селективные ингибиторы: пароксетин/хинидин (CYP2D6 → провал тамоксифена), флуконазол (CYP2C9 → кровотечение на варфарине), кларитромицин и грейпфрутовый сок (CYP3A4)
- Омепразол ингибирует CYP2C19 и снижает биоактивацию пролекарства клопидогрела

↔

Индукторы CYP450 (ускорение клиренса через AhR / PXR / CAR)

- Индукция развивается медленно (7–14 дней), требуя синтеза новой мРНК и белка фермента
- Лиганды PXR/CAR (рифампицин, карбамазепин, фенобарбитал, зверобой): ускоряют метаболизм варфарина, циклоспорина и контрацептивов в 2–4 раза
- Лиганды AhR (полициклические углеводороды табачного дыма): индуцируют CYP1A1 и CYP1A2 → у курильщиков ниже концентрация клозапина и теофиллина
- Исключение: изофермент CYP2D6 не индуцируется классическими ксенобиотиками (нет сайтов PXR/CAR в промоторе)

Клиническое значение полиморфизма ведущих генов CYP450 (CPIC 1A)

Молекулярные дефекты аллелей и их влияние на эффективность и токсичность базисных лекарственных препаратов

Изофермент	Основные полиморфные аллели	Ключевые субстраты	Клинический фенотип и тактика CPIC
CYP2D6 (22q13.2)	*4 (сплайсинг), *5 (делеция), *10 (сниж. азиат.), *1xN/*2xN (дупликации)	Кодеин, трамадол, тамоксифен, метопролол, амитриптилин	У PM пролекарство кодеин не дает анальгезии (тамоксифен неэффективен); у UM кодеин вызывает морфиновое апноэ
CYP2C9 (10q23.33)	*2 (Arg144Cys — 70%), *3 (Ile359Leu — 5–15% активности)	S-варфарин, фенитоин, лозартан, целекоксиб, ПСМ	У *2/*3 и *3/*3 резкий рост риска кровотечений на варфарине → снижение дозы по алгоритму IWPC/Gage
CYP2C19 (10q23.33)	*2, *3 (потеря функции); *17 (промоторное усиление функции)	Клопидогрел, омепразол, вориконазол, циталопрам	У *2/*3 тромбоз стента на клопидогреле (замена на тикагрелор/прасугрел); у *17/*17 провал ИПП и вориконазола
CYP3A4 / CYP3A5 (7q22.1)	CYP3A5*3 (сплайсинг 6986A>G — неэкспрессор); CYP3A4*22	Такролимус, циклоспорин А, блокаторы Ca^{2+}	Экспрессорам CYP3A5 (*1/*1, *1/*3) нужна доза такролимуса в 1,5–2 раза выше стандартной во избежание отторжения

Дигидропиримидиндегидрогеназа (DPYD) и токсичность фторпиримидинов

Немикросомальный фермент I фазы (ген DPYD на 1p21.3) — ключевой этап катаболизма урацила, тимина и 5-фторурацила

1. Введение 5-ФУ / Капецитабина

Базовая химиотерапия рака ЖКТ, молочной железы, яичников и головы/шеи

2. Инактивация ДПДГ (>80%)

В норме фермент DPYD переводит >80% дозы 5-ФУ в неактивный дигидрофторурацил

3. Аллели дефицита DPYD

Аутосомно-рецессивный риск: *2A (IVS14+1G>A), *13, c.2846A>T и HapB3 (~3–5% в популяции)

4. Кумуляция цитотоксина

При дефиците DPYD весь препарат уходит в анаболический синтез блокаторов ДНК/РНК (FdUMP)

5. Тактика (EMA / CPIC)

Профилактика летальности (нейтропения, мукозит): снижение дозы на 50% у IM и полная отмена у PM

Обязательное превентивное тестирование DPYD перед началом терапии фторпиримидинами включено в клинические протоколы Европы (EMA) и онкологические стандарты.

Фармакогенетика арилэстеразы — параоксоназы 1 (ген PON1, 7q21.3)

Защитный фермент плазмы крови, связанный с ЛПВП, ответственный за детоксикацию фосфорорганических соединений (ФОС)

Гидролиз параоксона и лактонов

- Название связано со способностью гидролизовать параоксон — высокотоксичный метаболит инсектицида паратиона
- Расщепляет токсичные эфиры фосфорной кислоты (пестициды, боевые отравляющие вещества типа зарина/зомана), а также окисленные липиды ЛПНП

Ключевая миссенс-замена (Q192R, rs662)

- Замена глутамина (аллель Q) на аргинин (аллель R) в положении 192 меняет геометрию активного центра фермента
- Изоформа 192Arg (R) в 6–8 раз быстрее гидролизует параоксон, но медленнее расщепляет диазооксон и зарин по сравнению с 192Gln (Q)

Полиморфизм -108C>T и концентрация белка

- Вариант C(-108)T в промоторной области PON1 регулирует уровень экспрессии фермента и его общую массу в плазме крови
- Носители генотипа -108TT синтезируют в 2 раза меньше белка параоксоназы

Токсикология и кардиология

- Лица с низкоактивными вариантами PON1 (особенно в сельском хозяйстве и химическом производстве) уязвимы к отравлению ФОС
- Сниженная антиоксидантная активность PON1 ускоряет перекисное окисление ЛПНП и риск раннего атеросклероза

Фармакогенетика бутирилхолинэстеразы (BCHE) в анестезиологии

Историческая и клиническая модель «немой» моногенной энзимопатии, проявляющейся только при введении миорелаксанта суксаметония

Генетика атипичной псевдохолинэстеразы (3q26.1)

- Фермент плазмы гидролизует холиновые эфиры — деполяризующий миорелаксант суксаметоний (дитилин) и мивакурий, инактивируя 90% дозы за 3–5 минут
- Атипичный вариант A (c.209A>G, p.Asp70Gly): гомозиготы (1 : 3000) не связывают субстрат; дибукаиновое число < 20% (норма 70–85%)
- Вариант K (Kalow, p.Ala539Thr) и варианты Фтора / «молчащие» (S) сдвига рамки дополнительно снижают концентрацию фермента
- Функциональный фенотип определяют in vitro по степени ингибирования фермента местным анестетиком дибукаином («дибукаиновое число»)

Клиническая картина и профилактика апноэ

- У носителя гомозиготного или компаунд-гетерозиготного дефицита BCHE стандартная доза суксаметония при интубации вызывает паралич дыхательной мускулатуры на 2–8 часов вместо 5–10 минут
- Тактика при развитии осложнения: немедленный перевод и длительное поддержание искусственной вентиляции легких (ИВЛ) до спонтанной элиминации препарата
- Профилактика: сбор семейного анестезиологического анамнеза (случаи «длительного пробуждения» у родственников)
- Превентивный скрининг дибукаинового числа и генотипирование BCHE родственников пациента с отметкой в медкарте

Фармакогенетика алкогольдегидрогеназы (ADH1B/ADH2) и альдегиддегидрогеназы (ALDH2)

Классический пример генетического контроля переносимости этанола и накопления токсичного ацетальдегида (локус 4q23 и 12q24)

Этанол → Ацетальдегид → Ацетат

- Шаг 1 (цитозоль): НАД-зависимая алкогольдегидрогеназа (ADH) окисляет этанол в высокотоксичный ацетальдегид
- Шаг 2 (митохондрии): альдегиддегидрогеназа-2 (ALDH2) мгновенно превращает ацетальдегид в безвредную уксусную кислоту

Быстрая конверсия в ацетальдегид

- Атипичный вариант ADH2 (замена G143A / Arg48His) обладает в 40–100 раз более высокой каталитической активностью, чем вариант Arg48
- Широко распространен в Восточной Азии (60–80%); резко ускоряет наработку ацетальдегида в первые минуты после приема спиртного

Блокада распада ацетальдегида

- Доминантно-негативная мутация в митохондриальной ALDH2 (E504K) снижает активность тетрамера до 0–6% у гетерозигот и гомозигот
- Частота ALDH2*2 достигает 30–50% в Восточной Азии (и ~5–12% в Центральной Азии), вызывая острый «алкогольный румянец» (Asian Flush)

Парадокс профилактики алкоголизма

- Сочетание быстрого ADH1B*2 и дефектного ALDH2*2 вызывает тяжелую вазодилатацию, тахикардию и тошноту — отвращение к алкоголю (аналог эффекта дисульфирама)
- Однако употребление алкоголя на фоне дефицита ALDH2*2 резко повышает риск рака пищевода из-за мутагенности ацетальдегида

Роль немикросомальных ферментов и метилтрансфераз в клинике

Сравнение фармакогенетических механизмов токсичности 6-меркаптопурина (TPMT) и карбоксилэстераз (CES1)

Тиопурин-S-метилтрансфераза (TPMT — цитозольный фермент)

- Хотя S-метилирование относится к II фазе, дефект TPMT демонстрирует классическую рецессивную зависимость «доза гена — тяжесть токсичности» при терапии 6-МП и азатиоприном
- Гомозиготы (0,3%) накапливают смертельные дозы 6-тиогуаниновых нуклеотидов (6-TGN) в костном мозге
- Включается в стандартные гематологические панели наряду с ДПДГ для профилактики фебрильной нейтропении
- У гетерозигот требуется редукция дозы до 30–70%, у гомозигот — до 10% (подробно в Лекции 7)

↔

Карбоксилэстеразы (CES1 / CES2) — гидролиз эфиров

- Ферменты I фазы в печени и кишечнике, отвечающие за биоактивацию многих пролекарств и детоксикацию
- Активируют ингибиторы АПФ (эналаприл, рамиприл), озельтамивир, дабигатрана этексилат (CES1) и иринотекан (CES2 → SN-38)
- Снижение активности CES1 (вариант p.Gly143Glu, rs71647871) повышает уровень активного дабигатрана в плазме и замедляет инактивацию метилфенидата и клопидогрела
- Вариации CES1 дополняют тесты CYP2C19 в кардиологии и неврологии

Популяционная распространенность ключевых вариантов I фазы биотрансформации

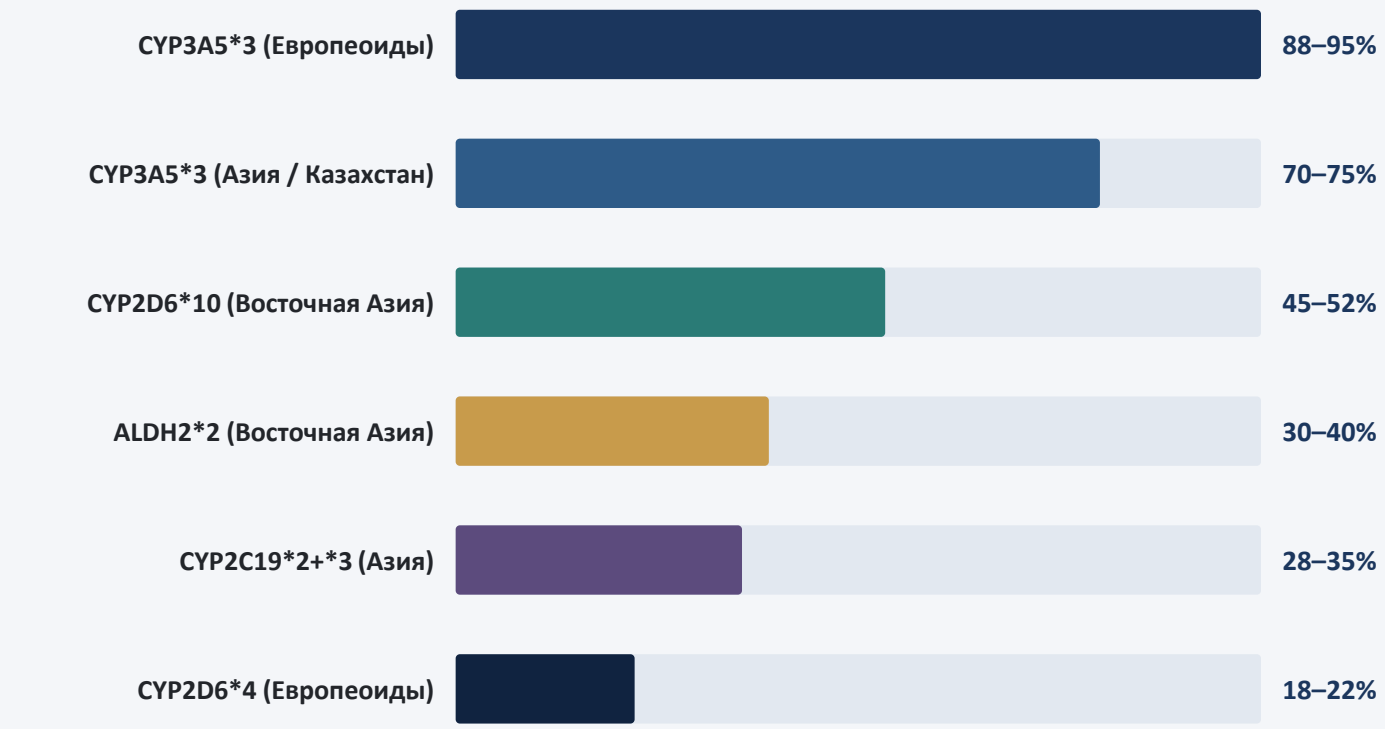
Частота встречаемости (%) медленных метаболизаторов и дефектных аллелей в различных регионах мира

70–95%
CYP3A5*3/*3 в Евразии

3–5%
Носители дефекта DPYD

1:3000
Гомозиготы BCHE*A/*A

Популяционная частота аллелей и фенотипов I фазы биотрансформации (%)



Этнофармакогенетика

- Ни одна популяция не имеет «универсального» профиля аллелей — панели для РК должны учитывать как европейские (*4 CYP2D6), так и азиатские (*10, CYP2C19*3, ALDH2*2) варианты
- Африканские популяции отличаются высокой частотой экспрессоров CYP3A5*1 (70%) и дупликаций CYP2D6

Практический чек-лист клинического применения тестов I фазы

Интеграция биомаркеров в рутинные протоколы кардиологии, онкологии, психиатрии и анестезиологии

Фермент	Препарат / Воздействие	Опасный генотип	Практическое решение врача
CYP2D6	Кодеин, трамадол, тамоксифен	PM (*4/*4, *5/*5) или UM	Исключить кодеин/трамадол; при тамоксифене у PM переход на ингибиторы ароматазы
CYP2C19	Клопидогрел, вориконазол	IM (*1/*2) и PM (*2/*3)	После ЧКВ заменить клопидогрел на тикагрелор или прасугрел (CPIC 1A)
CYP2C9	Варфарин, фенитоин	*1/*3, *2/*3, *3/*3	Уменьшить стартовую дозу варфарина на 30–50% по алгоритму IWPC или выбрать ПОАК
DPYD	5-фторурацил, капецитабин	*2A, *13, c.2846A>T	Обязательный скрининг до 1-го курса: редукция 50% (IM) или отмена (PM)
BCHE / PON1	Суксаметоний / ФОС	BCHE*A/*A; PON1 Q192R	Использовать недеполяризующие миорелаксанты (рокуроний); защита персонала от ФОС

Контрольные вопросы и ключевые выводы

Закрепление материала лекции 6

? Контрольные вопросы

- 1. Объясните принцип номенклатуры изоферментов системы цитохрома P450 (на примере CYP2D6 и CYP3A4) и роль редуктазы POR.
- 2. Приведите примеры ингибиторов (циметидин, пароксетин, омепразол) и индукторов (рифампицин, ПАУ дыма) и объясните разницу в скорости их действия.
- 3. Почему полиморфизмы CYP2D6, CYP2C9 и CYP2C19 требуют противоположных врачебных решений при приеме активных препаратов и пролекарств?
- 4. Какова роль дигидропиримидиндегидрогеназы (ДПДГ / DPYD) в безопасности химиотерапии фторпиримидинами?
- 5. Раскройте фармакогенетическое значение полиморфизмов параоксоназы (PON1), бутирилхолинэстеразы (BCHE) и дегидрогеназ ADH2 / ALDH2.

✓ Ключевые выводы

- Семейства CYP1, CYP2 и CYP3 обеспечивают ~75–80% окислительного метаболизма I фазы, причем 6 изоферментов доминируют в клинике.
- Ингибиторы CYP450 вызывают быструю феноконверсию NM → PM, а индукторы ускоряют клиренс через ядерные рецепторы AhR, PXR и CAR.
- Дефицит ДПДГ (DPYD) и атипичная псевдохолинэстераза (BCHE) — жизнеугрожающие моногенные дефекты, требующие обязательного учета в онкологии и хирургии.
- Мутации параоксоназы (PON1 Q192R) и дегидрогеназ этанола (ADH1B*2, ALDH2*2) определяют индивидуальную чувствительность к токсикантам.

Рекомендуемая литература

Источники по ферментам I фазы биотрансформации и клиническим руководствам

1 Основная литература

- 1. Кукес В.Г., Грачев С.В., Сычев Д.А. Метаболизм лекарственных средств: научные основы персонализированной медицины. — М.: ГЭОТАР-Медиа.
- 2. Сычев Д.А. и др. Клиническая фармакогенетика: учебное пособие. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2021.
- 3. Lee C.R. et al. CPIC Guideline for CYP2C19 Genotype and Clopidogrel Therapy: 2022 Update // Clinical Pharmacology & Therapeutics. — 2022.
- 4. Amstutz U. et al. CPIC Guideline for Dihydropyrimidine Dehydrogenase Genotype and Fluoropyrimidine Dosing // Clinical Pharmacology & Therapeutics. — 2018.

2 Дополнительная литература и ресурсы

- 1. Crews K.R. et al. CPIC Guideline for CYP2D6, OPRM1, and COMT Genotypes and Select Opioid Therapy. — 2021.
- 2. Таблица субстратов, ингибиторов и индукторов CYP450 (Flockhart Table): https://drug-interactions.medicine.iu.edu
- 3. PharmVar (официальная база аллелей CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19, CYP3A5, DPYD): https://www.pharmvar.org
- 4. PharmGKB Very Important Pharmacogenes (VIP Summaries): https://www.pharmgkb.org/vips

Благодарю за внимание! • Кафедра молекулярной биологии и генетики КазНУ