Казахский национальный университет имени аль-Фараби

Факультет биологии и биотехнологии

Кафедра молекулярной биологии и генетики

Дисциплина «Фармакогенетика»

Лекция 5

Роль полиморфных вариантов генов транспортеров ЛС в фармакологическом ответе

Суперсемейства ABC и SLC: гликопротеин-P (ABCB1 / MDR1), транспортеры органических анионов (OAT, OATP / SLCO1B1), катионов (OCT) и ABCG2

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

Цель и структура лекции

Цель: изучить роль мембранных транспортеров в фармакокинетике ЛС и клиническое значение полиморфизмов генов ABCB1, SLCO1B1, ABCG2 и SLC22A

01 Классификация транспортеров

Эффлюксные АТФ-насосы (ABC) и переносчики растворенных веществ (SLC) в фазах 0 и III

02 Гликопротеин-P (MDR1 / ABCB1)

Локализация в кишечнике, печени, почках и ГЭБ; эксперименты на нокаутных мышах CF-1

03 Субстраты, ингибиторы, индукторы

Дигоксин, такролимус, цитостатики; межлекарственные взаимодействия (хинидин, верапамил, рифампицин)

04 Полиморфизмы гена ABCB1

Структурные замены G2677T/A и клиническое значение синонимичного варианта C3435T (Hoffmeyer)

05 Транспортеры OAT, OATP и OCT

Инфлюксный захват статинов, β-лактамов и метформина в печень и почки

06 SLCO1B1*5 и ABCG2 c.421C>A

Статин-индуцированная миопатия и обновленный алгоритм дозирования CPIC 2022 г.

Два суперсемейства мембранных транспортеров лекарственных средств

Согласованная работа систем захвата (Фаза 0) и систем выброса (Фаза III) определяет концентрацию ЛС в крови и клетке

АТФ-связывающие кассетные (ABC — эффлюкс, Фаза III)

- 49 генов у человека; используют энергию прямого гидролиза АТФ в NBD-доменах
- Выкачивают ксенобиотики и конъюгаты из цитоплазмы наружу против градиента концентрации
- Ключевые представители: ABCB1 (гликопротеин-P), ABCG2 (BCRP), ABCC1–4 (MRP1–4), ABCB11 (BSEP)
- Исторически открыты в опухолевых клетках как причина множественной лекарственной устойчивости (MDR)

↔

Семейство переносчиков растворенных веществ (SLC — инфлюкс, Фаза 0)

- Свыше 400 генов; работают по механизмам облегченной диффузии или вторично-активного антипорта/симпорта (Na^+/H^+)
- Обеспечивают захват гидрофильных и ионизированных молекул из крови внутрь гепатоцитов и нефроцитов
- Ключевые семейства: SLCO (OATP1B1, OATP1B3), SLC22A (OAT1/3, OCT1/2), SLC47A (MATE1)
- При дефекте SLC-транспортера препарат не может войти в печень и накапливается в системном кровотоке

Физиологическая роль и локализация гликопротеина-P (Marzolini et al.)

Эволюционный защитный барьер организма (белок 170 кДа, 1280 а.о., ген на хромосоме 7q21.12), препятствующий проникновению ксенобиотиков

КИШЕЧНИК — Апикальная мембрана энтероцитов

- Выполняет роль насоса, выбрасывающего всосавшееся лекарство обратно в просвет кишки
- Ограничивает биодоступность дигоксина, циклоспорина и такролимуса; гормональные различия экспрессии у мужчин и женщин

ПЕЧЕНЬ И ПОЧ — Каналикулярная и апикальная мембраны

- В гепатоцитах активно секретирует ксенобиотики и их метаболиты в желчный каналец
- В проксимальных почечных канальцах ускоряет выведение препаратов и их конъюгатов в мочу

И ПЛАЦЕН — Эндотелий капилляров и трофобласт

- Защищает головной мозг и плод от проникновения липофильных нейротоксинов и цитостатиков
- Выкачивает молекулы обратно в сосудистое русло капилляров; также экспрессируется в семенниках и надпочечниках

ДЕЛЬ CF-1 (-/- — Нокаутные по гену Mdr1a мыши

- Линия мышей с мутацией потери функции Mdr1a фенотипически здорова до встречи с токсином
- При введении обычной дозы ивермектина (противопаразитарное ЛС) препарат проникает через ГЭБ и вызывает летальную нейротоксичность (↑ в 100 раз)

Фармакологическая характеристика P-гликопротеина и его взаимодействия

Тандем P-gp и CYP3A4 в кишечнике и клинически опасные межлекарственные взаимодействия

Основные лекарственные субстраты P-gp

- Сердечные гликозиды: дигоксин (не метаболизируется CYP450, чистый маркерный субстрат P-gp!)
- Прямые оральные антикоагулянты (дабигатрана этексилат) и блокаторы кальциевых каналов (верапамил, дилтиазем)
- Иммуносупрессанты (циклоспорин А, такролимус, сиролимус) и противовирусные ЛС (ингибиторы протеазы ВИЧ)
- Противоопухолевые препараты (доксорубицин, паклитаксел, винбластин) и лоперамид

↔

Ингибиторы и индукторы P-гликопротеина

- Ингибиторы (хинидин, амиодарон, верапамил, кларитромицин, итраконазол): блокируют выброс в кишечнике и почках
- Пример: хинидин резко повышает концентрацию дигоксина в плазме → риск дигиталисной интоксикации
- Пример 2: лоперамид в сочетании с ингибитором P-gp проникает через ГЭБ и угнетает дыхание
- Индукторы (рифампицин, зверобой продырявленный через PXR): усиливают синтез P-gp и снижают уровень дигоксина и дабигатрана на 40–50%

Клинически значимые полиморфизмы гена ABCB1 (MDR1)

Гаплотип сцепленных вариантов C1236T – G2677T/A – C3435T и уникальная роль синонимичной замены C3435T

Полиморфизм (Локализация)	Тип мутации	Молекулярный эффект	Клинические и популяционные особенности
c.1236C>T (экзон 12, rs1128503)	Синонимичная (Gly412Gly)	Находится в сильном неравновесии по сцеплению (LD) с 2677 и 3435	Используется в анализе гаплотипов (1236–2677–3435)
c.2677G>T/A (экзон 21, rs2032582)	Миссенс-замена (Ala893Ser/Thr)	Триаллельный полиморфизм; меняет структуру 10-го внутриклеточного участка	Влияет на транспортную активность в отношении паклитаксела и дигоксина
c.3435C>T (экзон 26, rs1045642)	Синонимичная (Ile1145Ile)	Редкий кодон ATT замедляет рибосому → меняется ко-трансляционный фолдинг белка	По работам Hoffmeyer et al.: у 3435TT ниже экспрессия P-gp в кишке и выше пик дигоксина
Межэтнические различия	Частота аллеля 3435T	Разная структура LD-блоков у европеоидов, азиатов и африканцев	3435T: ~50–55% в Европе и Казахстане, ~40% в Вост. Азии, 10–20% в Африке

Молекулярный парадокс замены ABCB1 C3435T: как «молчащая» мутация меняет функцию

Открытие (Kimchi-Sarfaty et al., Science): изменение кинетики трансляции определяет третичную структуру трансмембранного белка

1 Смена кодона без смены аминокислоты

- Замена цитозина на тимин (ATC → ATT) кодирует одну и ту же аминокислоту изолейцин (p.Ile1145Ile)
- Однако частота встречаемости соответствующей тРНК для кодона ATT в клетке существенно ниже

2 Пауза рибосомы и фолдинг

- Ожидание редкой тРНК создает временную паузу рибосомы при сборке полипептидной цепи
- Изменение ритма ко-трансляционной укладки меняет конформацию субстрат-связывающего кармана P-gp

3 Снижение экспрессии и функции

- У носителей генотипа 3435TT экспрессия мРНК и белка P-gp в эпителии двенадцатиперстной кишки снижена в 2 раза
- Также снижается уровень P-gp в CD56+ лимфоцитах и на плацентарном барьере

4 Влияние на фармакокинетику

- По данным Hoffmeyer et al., у 3435TT повышается всасывание и плазменная концентрация дигоксина
- Напротив, сцепленный гаплотип и межэтнический фон могут давать разнонаправленные результаты в других популяциях

Суперсемейство SLC: транспортеры органических анионов и катионов

Ключевые инфлюксные переносчики печени, почек, кишечника и головного мозга (Na^+-независимые и потенциал-зависимые системы)

Подсемейство / Белок (Ген)	Органная локализация	Основные лекарственные субстраты	Клиническое значение
OATP1B1 / OATP-C (ген SLCO1B1)	Синусоидальная мембрана гепатоцитов печени	Статины (симва-, аторва-, розувастатин), репаглинид, метотрексат, билирубин	Захват статинов в печень; полиморфизм c.521T>C вызывает миопатию (CPIC 1A)
OAT1 / OAT3 (SLC22A6 / SLC22A8)	Базолатеральная мембрана почечных канальцев	β-лактамные антибиотики, петлевые диуретики (фуросемид), НПВС, метотрексат, ацикловир	Обеспечивают активную почечную секрецию анионных ЛС (блокируются пробенецидом)
OCT1 (ген SLC22A1)	Синусоидальная мембрана гепатоцитов	Метформин, активный метаболит трамадола (M1), морфин, ондансетрон	Аллели потери функции снижают вход метформина в печень и повышают риск диареи
OCT2 (SLC22A2) и MATE1	Базолатеральная и апикальная мембраны почек	Метформин, цисплатин, прокаинамид, циметидин	Почечный клиренс метформина и нефротоксичность цисплатина (аллель c.808G>T)

Полиморфизм гена SLCO1B1 (OATP1B1) и статин-индуцированная миопатия

Классический механизм фармакогенетического нарушения захвата лекарства органом-мишенью (исследование SEARCH, NEJM)

1 Норма: *1/*1 (c.521TT)

Транспортер OATP1B1 активно переносит статины из портальной крови внутрь гепатоцита

2 Мутация: c.521T>C (*5)

Замена p.Val174Ala (rs4149056) снижает встраивание OATP1B1 в мембрану и транспортную функцию

3 Системная кумуляция

Статин не входит в печень: площадь AUC симвастатиновой кислоты возрастает на +221%

4 Токсичность на мышцах

Избыток препарата в плазме повреждает скелетные миоциты (дефицит CoQ10, апоптоз)

5 Исход: Рабдомиолиз

Боль, слабость, рост КФК (>4–10 ВГН), миоглобинурия (риск OR = 16,9 у гомозигот CC)

Доказано снижение клиренса питавастатина, симвастатина, аторвастатина, правастатина и розувастатина у носителей аллеля c.521C (*5 / *15).

Влияние генотипа SLCO1B1 c.521CC (*5/*5) на экспозицию (AUC) статинов

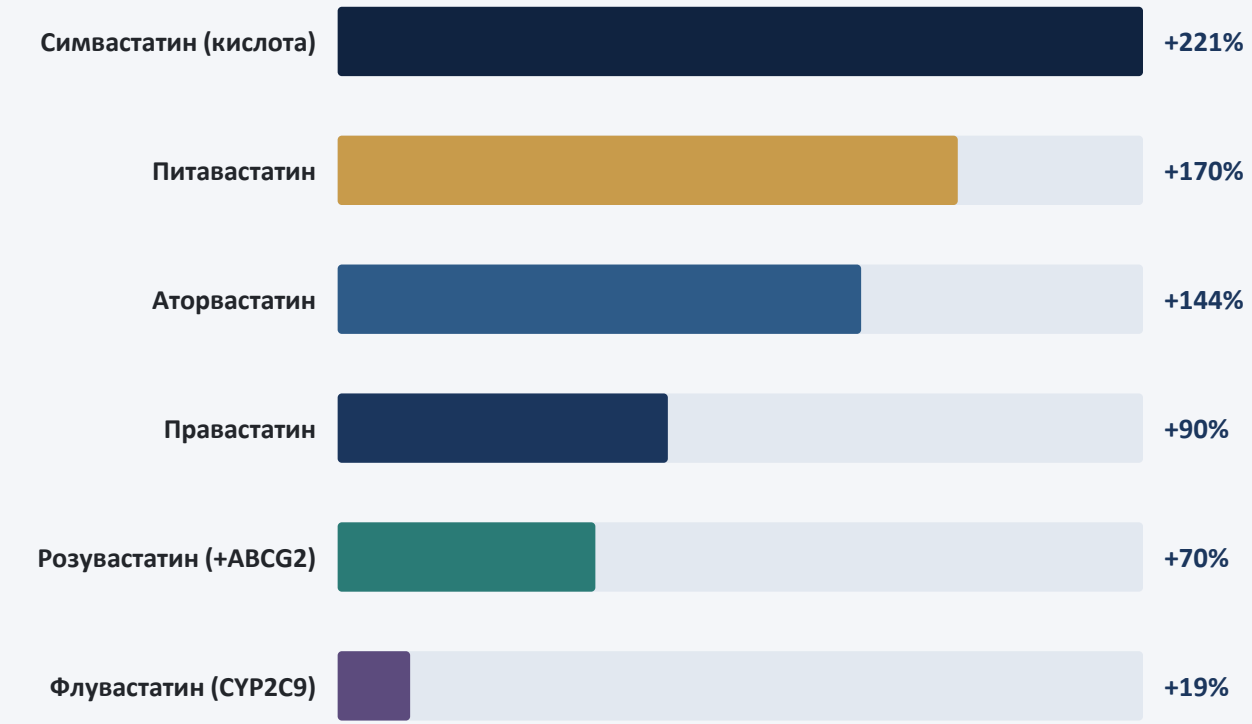
Процентный прирост площади под фармакокинетической кривой статинов у гомозигот CC по сравнению с нормой TT

16,9x
OR миопатии (CC, 80 мг)

4,5x
OR миопатии (TC, гетеро)

12–20%
Частота c.521C в Евразии

Прирост системной экспозиции (AUC) у гомозигот SLCO1B1 c.521CC (%)



Выбор безопасной альтернативы

- Наиболее уязвим симвастатин (при c.521CC назначение противопоказано, при c.521TC доза ≤20 мг/сут)
- Флувастатин меньше всего зависит от OATP1B1 и служит препаратом выбора (с учетом CYP2C9)
- Экспозиция розувастатина дополнительно контролируется эффлюксным насосом ABCG2 (BCRP)

Эффлюксный насос ABCG2 (BCRP) и алгоритм выбора статина (CPIC, 2022)

Полиморфизм ABCG2 c.421C>A особенно широко распространен в Центральной и Восточной Азии (25–35%)

Генетика транспортера ABCG2 (4q22.1)

- Замена c.421C>A (p.Gln141Lys, rs2231142) вызывает деградацию белка BCRP в эндотелии и энтероцитах
- Частота аллеля риска A составляет ~25–35% у азиатов и казахов (против ~10% у европеоидов)
- У носителей генотипа 421AA снижен выброс розувастатина в кишечник и желчь → концентрация в плазме удваивается
- Также снижает гипоурикемический ответ на аллопуринол при подагре и меняет кинетику ингибиторов тирозинкиназ

↔

Три гена в руководстве CPIC для статинов (2022)

- SLCO1B1 (плохая функция, *5/*5): симвастатин запрещен; аторвастатин ≤20 мг; переход на розувастатин/флувастатин
- ABCG2 (плохая функция, c.421AA): стартовая доза розувастатина не должна превышать 20 мг/сут
- Сочетание SLCO1B1 c.521CC + ABCG2 c.421AA: стартовая доза розувастатина ≤10 мг/сут
- CYP2C9 (IM/PM *1/*3, *3/*3): снижение стартовой дозы флувастатина (до 20–40 мг/сут)

Чистая транспортная кинетика на примере метформина (SLC22A1 / SLC22A2 / MATE1)

Метформин не метаболизируется ферментами печени — его эффективность и переносимость полностью зависят от SLC-переносчиков

1 1. Кишечный захват

Переносчики PMAT / OCT3; скопление в просвете кишки вызывает диспепсию и диарею

2 2. Печеночный вход OCT1

SLC22A1 (R61C, M420del): дефект блокирует вход в гепатоцит → слабый эффект на HbA1c

3 3. Мишень в печени

Угнетение комплекса I митохондрий, активация AMPK и торможение глюконеогенеза

4 4. Почечный вход OCT2

SLC22A2 c.808G>T на базолатеральной мембране канальцев регулирует почечный клиренс

5 5. Выброс в мочу MATE1

Антипортер SLC47A1 (rs2289669) завершает экскрецию метформина в первичную мочу

До 30% пациентов не переносят метформин со стороны ЖКТ из-за носительства аллелей потери функции печеночного захвата OCT1.

Другие переносчики (ABCC2, ABCC4, BSEP) и лекарственные ингибиторы

Вклад каналикулярных и миелоидных насосов в гепато-, нефро- и гематотоксичность

C2 (MRP2) Экспорт конъюгатов в желчь и мочу

- Выводит билирубин-глюкуронид, SN-38G и метотрексат; мутации вызывают синдром Дабина–Джонсона
- Варианты c.-24C>T и c.1249G>A задерживают клиренс высоких доз метотрексата у детей с ОЛЛ

C4 (MRP4) Защита костного мозга от тиопуринов

- Выкачивает токсичные нуклеотиды 6-меркаптопурина из миелоидных предшественников
- Полиморфизм c.2269G>A (p.Glu757Lys) нарушает локализацию белка и повышает риск лейкопении

B11 (BSEP) Экспорт желчных кислот и холестаз

- Вариант p.Val444Ala (c.1331T>C) снижает экспрессию помпы желчных солей на мембране
- Повышает риск лекарственного холестаза (циклоспорин, бозентан, эстрогены) и холестаза беременных

ИНГИБИТОРЫ OAT Феноконверсия при полипрагмазии

- Циклоспорин A, гемфиброзил и кларитромицин мощно блокируют OATP1B1 в печени
- Совместный прием циклоспорина с симвастатином поднимает AUC статина в 7–10 раз (сильнее генотипа *5/*5)

Сводная таблица фармакогенетики мембранных транспортеров ЛС

Генетические маркеры семейств ABC и SLC, ключевые субстраты и врачебные рекомендации

Ген (Белок)	Ключевые аллели / SNP	Маркерные субстраты	Клинические последствия и тактика
ABCB1 (P-gp / MDR1)	c.3435C>T, c.2677G>T/A, c.1236C>T	Дигоксин, дабигатран, такролимус, циклоспорин	Изменение оральной биодоступности; контроль ингибиторов (амиодарон, верапамил)
SLCO1B1 (OATP1B1)	c.521T>C (*5, *15 — p.Val174Ala)	Симвастатин, аторвастатин, питавастатин, метотрексат	У *5/*5 запрет симвастатина, редукция аторвастатина; выбор флува-/розувастатина
ABCG2 (BCRP)	c.421C>A (p.Gln141Lys)	Розувастатин, аллопуринол, сульфасалазин, ТКИ	Рост AUC розувастатина в 2 раза → доза ≤20 мг/сут (CPIC); слабее ответ на аллопуринол
SLC22A1 (OCT1)	R61C, M420del, G465R	Метформин, морфин, трамадол (M1)	Снижение гипогликемического ответа и ЖК-непереносимость метформина
ABCC2 / ABCC4 / BSEP	c.-24C>T; c.2269G>A; V444A	Метотрексат, 6-МП, желчные кислоты	Риск нефротоксичности, лейкопении на 6-МП и холестатического поражения печени

Контрольные вопросы и ключевые выводы

Закрепление материала лекции 5

? Контрольные вопросы

- 1. В чем принципиальное отличие между суперсемействами транспортеров ABC и SLC по механизму транспорта и роли в клетке?
- 2. Где локализован гликопротеин-P (P-gp) в организме человека и что доказали опыты на нокаутных мышах линии CF-1?
- 3. Назовите основные субстраты, ингибиторы и индукторы P-гликопротеина и объясните эффект синонимичного полиморфизма C3435T.
- 4. Раскройте механизм развития миопатии и рабдомиолиза при применении статинов у носителей аллеля SLCO1B1*5 (c.521T>C).
- 5. Какова роль транспортеров ABCG2 (розувастатин, аллопуринол) и OCT1/OCT2/MATE1 (метформин) в клинике?

✓ Ключевые выводы

- Мембранные транспортеры SLC (Фаза 0) и ABC (Фаза III) контролируют всасывание, проницаемость ГЭБ и клиренс ЛС.
- Гликопротеин-P (ABCB1) защищает органы от ксенобиотиков; ингибиторы (хинидин, верапамил) вызывают токсичность дигоксина и ПОАК.
- Синонимичная замена ABCB1 c.3435C>T замедляет рибосому на редком кодоне, меняя фолдинг и экспрессию белка в кишечнике.
- Алгоритм CPIC (2022) объединяет SLCO1B1, ABCG2 и CYP2C9 для профилактики статин-ассоциированной миопатии.

Рекомендуемая литература

Источники по фармакогенетике транспортеров лекарственных средств

1 Основная литература

- 1. Сычев Д.А., Кукес В.Г., Ташенова А.И. Клиническое значение гликопротеина-Р и транспортеров органических анионов/катионов. — М.: ГЭОТАР-Медиа.
- 2. Сычев Д.А., Раменская Г.В., Игнатьев И.В., Кукес В.Г. Клиническая фармакогенетика: учебное пособие. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2021.
- 3. Cooper-DeHoff R.M. et al. CPIC Guideline for SLCO1B1, ABCG2, and CYP2C9 genotypes and Statin-Associated Musculoskeletal Symptoms // Clinical Pharmacology & Therapeutics. — 2022. — Vol. 111. — P. 1007–1021.
- 4. Kimchi-Sarfaty C. et al. A 'silent' polymorphism in the MDR1 gene changes substrate specificity // Science. — 2007. — Vol. 315. — P. 525–528.

2 Дополнительная литература и ресурсы

- 1. LINK / SEARCH Collaborative Group. SLCO1B1 variants and statin-induced myopathy // NEJM. — 2008. — Vol. 359. — P. 789–799.
- 2. Giacomini K.M. et al. (International Transporter Consortium). Membrane transporters in drug development // Nature Reviews Drug Discovery. — 2010.
- 3. UCSF-FDA Transportal (база мембранных транспортеров): https://transportal.compbio.ucsf.edu
- 4. PharmGKB Pathways (Statin & Metformin Transport Pathways): https://www.pharmgkb.org/pathways

Благодарю за внимание! • Кафедра молекулярной биологии и генетики КазНУ