Казахский национальный университет имени аль-Фараби

Факультет биологии и биотехнологии

Кафедра молекулярной биологии и генетики

Дисциплина «Фармакогенетика»

Лекция 8

Генетические факторы, влияющие на фармакодинамику лекарственных средств

Полиморфизм молекул-мишеней: β2-адренорецептор (ADRB2) при астме, β1-адренорецептор (ADRB1) при АГ/ХСН, GPCR, VKORC1 и ионные каналы

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

Цель и структура лекции

Цель: изучить влияние полиморфизмов фармакодинамических мишеней на ответ на β-адреномиметики, β-адреноблокаторы и антикоагулянты

01 Классификация ФД-мишеней

Генетические дефекты рецепторов, ферментов-мишеней, ионных каналов и транспортеров медиаторов

02 Система адренорецепторов GPCR

Локализация и функции α1, α2, β1, β2 и β3 подтипов адренорецепторов; каскад Gs/Gq/Gi

03 Полиморфизм β2-AP (ADRB2)

Замены Arg16Gly, Gln27Glu и Thr164Ile; регуляция тонуса бронхов и десенситизация

04 β2-адреномиметики при астме

Вариабельность ответа на сальбутамол, фенотерол, сальметерол и формотерол у носителей Arg16

05 Полиморфизм β1-AP (ADRB1)

Замены Ser49Gly и Arg389Gly: влияние на сердечный выброс, АГ и терапию ХСН β-блокаторами

06 Другие ФД-маркеры и онкология

GRK5 (эндогенная β-блокада), VKORC1 (варфарин), SLC6A4/HTR2A и соматические мишени

Полиморфизм генов фармакодинамики: как мутация меняет ответ при нормальной концентрации ЛС

Даже при оптимальном уровне препарата в крови мутация в структуре мишени или сигнального каскада изменяет клинический эффект

1 Изменение аффинитета мишени

- Аминокислотные замены в сайте связывания снижают или усиливают сродство ЛС (пример: RYR1, VKORC1)
- Изменение структуры кармана может вызывать полную резистентность или токсическую гиперактивацию

2 Нарушение сопряжения с G-белком

- Мутации в С-концевом цитоплазматическом домене (ADRB1 p.Gly389Arg) меняют передачу сигнала на аденилатциклазу
- Аллель Arg389 формирует высокоактивный рецептор, дающий мощный ответ на β-адреноблокаторы

3 Регуляция экспрессии и десенситизации

- Варианты промоторов (VKORC1 -1639G>A) снижают число копий молекулы-мишени в клетке
- N-концевые полиморфизмы (ADRB2 Arg16Gly, Gln27Glu) меняют скорость интернализации (down-regulation) рецептора

4 Внутриклеточные медиаторы сигнала

- Полиморфизмы эффекторных киназ (GRK5), β-субъединиц G-белков (GNB3) и каналов (KCNH2)
- Формируют полигенный фон чувствительности при бронхиальной астме, гипертонии и депрессии

Строение и физиологическое значение семейства адренорецепторов

Все адренорецепторы (7-ТМ спиралей) относятся к суперсемейству GPCR и регулируют тонус сосудов, сердца, бронхов и метаболизм

Подтип рецептора (Ген)	G-белок / Каскад	Локализация	Физиологический и клинический эффект
α1-АР (ADRA1A/B/D)	Gq → ИФ3/ДАГ → ↑Ca^{2+}	Гладкие мышцы артериол и сфинктеров	Вазоконстрикция, подъем АД, сужение сосудов слизистых
α2-АР (ADRA2A/B/C)	Gi → ↓цАМФ	Пресинаптические мембраны ЦНС, островки поджелудочной	Торможение выброса норадреналина (мишень клонидина), снижение АД
β1-АР (ADRB1, 10q25.3)	Gs → ↑цАМФ → ПКА	Миокард (SA/AV узлы, желудочки), ЮГА почек	Увеличение ЧСС (+хроно-), силы (+ино-), проводимости и секреции ренина
β2-АР (ADRB2, 5q32)	Gs → ↑цАМФ; K^+(maxi) каналы	Гладкие мышцы бронхов, матки, сосудов, эпителий легких	Бронходилатация, снятие бронхоспазма, токолиз, снижение дегрануляции тучных клеток
β3-АР (ADRB3, 8p11.2)	Gs → ↑цАМФ	Белая и бурая жировая ткань, детрузор мочевого пузыря	Липолиз, термогенез и расслабление детрузора (мишень мирабегрона)

Спектр клинических проявлений при полиморфизмах молекул-мишеней

От кардиологии и пульмонологии до неврологии, психиатрии и гемостаза

Сердечно-сосудистые и бронхолегочные мишени

- β2-адренорецепторы (ADRB2): снижение или парадоксальная потеря бронхолитического эффекта при длительной терапии БА β2-агонистами
- β1-адренорецепторы (ADRB1): усиленный антигипертензивный и кардиопротективный ответ на метопролол/бисопролол у носителей Arg389
- АПФ (ACE I/D) и β2-брадикининовые рецепторы (BDKRB2): сухой кашель на ингибиторах АПФ (подробно в Лекции 9)
- Потенциал-зависимые калиевые и натриевые каналы (KCNH2, KCNQ1, SCN5A): риск удлинения интервала QT и аритмий на антиаритмиках и макролидах

↔

Метаболические, ферментные и ЦНС мишени

- VKORC1 (эпоксидредуктаза витамина К): гиперчувствительность (-1639G>A) или резистентность к варфарину
- Глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназа (G6PD) и рианодиновый рецептор (RYR1): гемолиз и злокачественная гипертермия (Лекция 10)
- Переносчик серотонина (SLC6A4 5-HTTLPR) и рецепторы 5-HT2A (HTR2A): эффективность СИОЗС и риск побочных эффектов в психиатрии
- μ-опиоидный рецептор (OPRM1 c.118A>G, Asn40Asp): снижение анальгетического эффекта морфина и потребность в более высоких дозах

Молекулярная генетика β2-адренорецептора (ген ADRB2, 5q32)

Безинтронный ген, в кодирующей области которого описано более 9 однонуклеотидных замен и гаплотипов (астма и ХОБЛ)

Arg16Gly — Замена A46G во внеклеточном N-конце

- Гомозиготы Arg16Arg (~16% европеоидов, ~25–30% азиатов) и Gly16Gly (~40% европеоидов)
- Вариант Arg16/Arg16 при регулярном приеме короткодействующих β2-агонистов (сальбутамол) подвержен ускоренной десенситизации (down-regulation)

Gln27Glu — Замена C79G во внеклеточном N-конце

- В отличие от Arg16Gly, вариант Glu27 (особенно в гаплотипе Gly16–Glu27) более устойчив к агонист-индуцированной интернализации рецептора
- Частота аллеля Glu27 высокая у европеоидов (~40–45%) и заметно ниже у восточных азиатов (~8–15%)

Thr164Ile — Редкая замена в 4-м трансмембранном домене

- Замена треонина на изолейцин вблизи кармана связывания лиганда снижает аффинитет к адреналину, сальбутамолу и сальметеролу в 3–4 раза
- Встречается у 2–5% популяции; ассоциирована с худшим прогнозом при тяжелой сердечной недостаточности и резистентностью бронхов

ДЕЙСТВИЯ В — Антибронхоспастический и антивоспалительный эффект

- Стимуляция β2-АР на неиннервируемых миоцитах бронхов открывает макси-K^+ каналы и снижает внутриклеточный Ca^{2+}
- Параллельно тормозится адгезия/дегрануляция тучных клеток и лейкоцитов и улучшается мукоцилиарный клиренс эпителия

Ответ на β2-адреномиметики при бронхиальной астме: SABA vs LABA

Как регулярная монотерапия препаратами короткого и длительного действия взаимодействует с полиморфизмом ADRB2

β2-агонисты короткого (SABA) и длительного действия (LABA)

- Короткого действия (SABA, начало через 3–5 мин, длит. 4–6 ч): сальбутамол, фенотерол, тербуталин — препараты скорой помощи
- Длительного действия (LABA, длит. 12–24 ч): формотерол, сальметерол, индакатерол — базисная терапия в комбинации с ИГКС
- При хронической гиперстимуляции β2-АР происходит фосфорилирование рецептора киназами GRK2/PKA, связывание β-аррестином и эндоцитоз
- Воспалительные цитокины и IgE при неконтролируемой астме дополнительно снижают число функциональных β2-АР на мембране

↔

Фармакогенетика бронхолитического ответа и тахифилаксии

- Исследования BARGE / LARGE (NEJM / Lancet): при регулярном ежедневном применении сальбутамола у детей/взрослых с генотипом Arg16Arg снижается утренняя ПСВ и учащаются обострения
- У носителей Arg16Arg особенно опасно использование LABA (сальметерола) без ингаляционных глюкокортикостероидов (ИГКС)
- Добавление ИГКС (будесонид, флутиказон) повышает транскрипцию гена ADRB2 в 2–3 раза и полностью преодолевает десенситизацию!
- Альтернатива у гомозигот Arg16Arg при плохом контроле: применение м-холиноблокаторов (тиотропия бромид, ипратропий) или антагонистов лейкотриенов (монтелукаст)

Молекулярная генетика β1-адренорецептора (ген ADRB1, 10q25.3)

Две функционально ключевые несинонимичные замены в сердце и почках — p.Ser49Gly и p.Arg389Gly

Ser49Gly Внеклеточный N-терминальный домен (rs1801252)

- Аллель Gly49 усиливает агонист-стимулированную десенситизацию (down-regulation) рецептора, играя кардиопротективную роль при ХСН
- Носители аллеля Gly49 демонстрируют более низкую ЧСС покоя и лучшую выживаемость при длительном течении сердечной недостаточности

Arg389Gly С-концевой внутриклеточный домен G-белка (rs1801253)

- Находится непосредственно в участке сопряжения рецептора с α-субъединицей стимулирующего Gs-белка
- Вариант Arg389 имеет в 3–4 раза более высокую базальную и изопреналин-стимулированную активность аденилатциклазы, чем Gly389

Эффективность метопролола и бисопролола

- У пациентов с гипертонией гомозиготы Arg389Arg (гаплотип Ser49–Arg389) достигают в 2 раза большего снижения систолического и диастолического АД
- У носителей генотипа Gly389Gly ответ на β-блокаторы ослаблен → целесообразен выбор других классов (иАПФ, БРА, АК)

Обратное ремоделирование левого желудочка

- У больных с ХСН носители аллеля Arg389 при терапии метопрололом или буциндололом показывают максимальный прирост фракции выброса (ФВ ЛЖ)
- Смертность и риск госпитализаций на β-блокаторе у гомозигот Arg389Arg достоверно ниже по сравнению с носителями Gly389

Клиническая эффективность β-блокаторов у носителей вариантов ADRB1 и GRK5

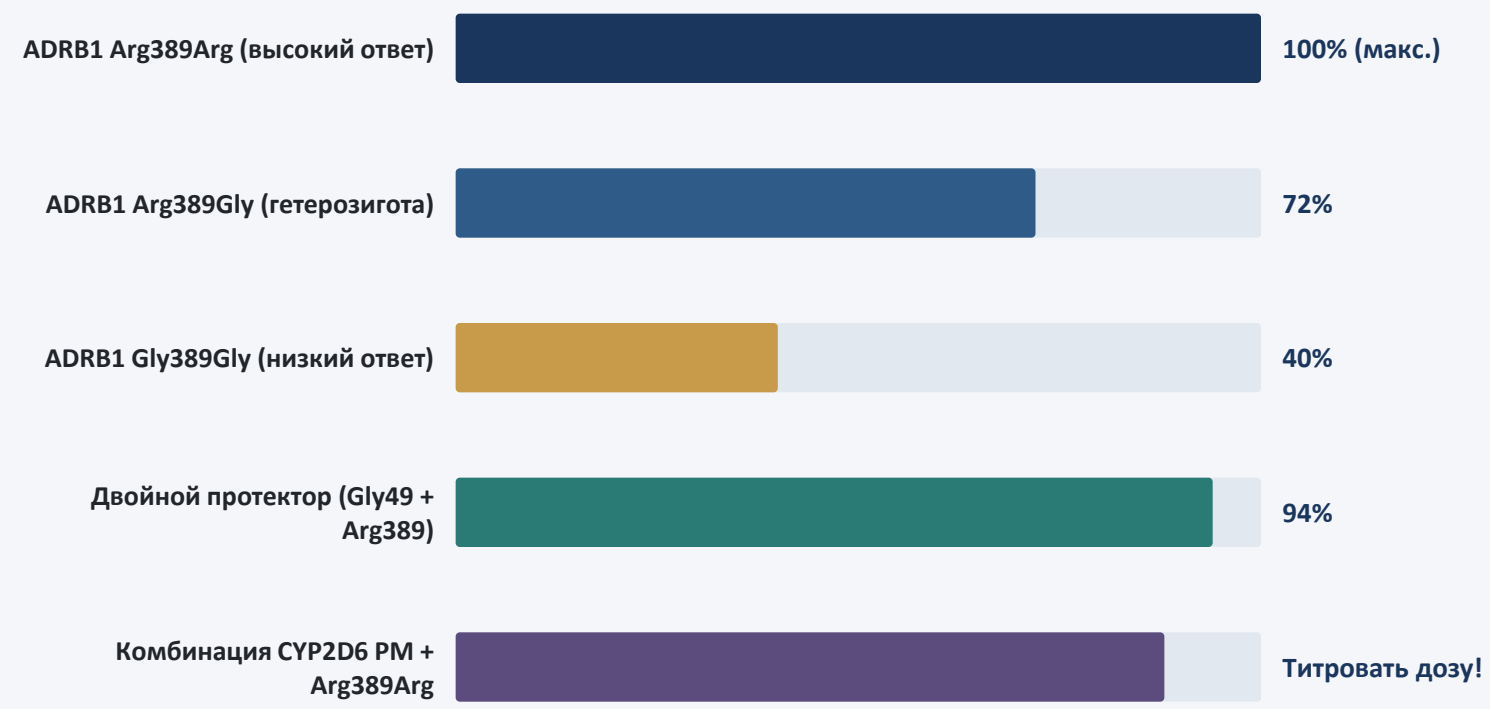
Относительный прирост фракции выброса (ФВ ЛЖ) и снижение АД на метопрололе / карведилоле по генотипу ADRB1 (кодон 389)

3–4x
Активность цАМФ у Arg389

+6–8%
Рост ФВ ЛЖ на метопрололе

70–75%
Частота Arg389 в Евразии

Относительная выраженность антигипертензивного и ремоделирующего эффекта (%)



Вклад гена GRK5 (Leu41Gln)

- Киназа GRK5 фосфорилирует β1-AP: мутантный вариант Gln41 ускоряет десенситизацию рецептора и работает как «генетический β-блокатор»
- У носителей GRK5 Gln41 выживаемость при ХСН выше даже до назначения β-блокаторов (чаще у афроамериканцев — до 40%)
- Для точной персонализации метопролола и карведилола оценивают дуэт генов: CYP2D6 (концентрация) + ADRB1 (чувствительность миокарда)

Молекулярный механизм передачи сигнала β-АР и агонист-зависимой десенситизации

От связывания катехоламина или β-агониста до активации протеинкиназы А и обратной регуляции рецептора

1 1. Связывание лиганда

Адреналин, норадреналин или сальбутамол изменяет конформацию 7-ТМ спиралей GPCR

2 2. Обмен ГДФ → ГТФ на Gs

αs-субъединица (участок кодона 389!) отделяется от βγ и активирует аденилатциклазу

3 3. Рост цАМФ и ПКА

Аденилатциклаза синтезирует цАМФ → ПКА фосфорилирует миозин/Ca^{2+}-каналы (бронходилатация)

4 4. Фосфорилирование GRK

При длительном стимуле киназы GRK2/GRK5 метят С-конец рецептора для связывания β-аррестина

5 5. Интернализация (Down)

Клатрин-опосредованный эндоцитоз (быстрее у ADRB2 Arg16) → тахифилаксия

Примечание по β1-агонистам: допамин и добутамин оказывают положительный инотропный эффект и применяются строго кратковременно при острой декомпенсации и шоке.

Фармакодинамические маркеры в гемостазе (VKORC1) и психиатрии (ЦНС)

Полиморфизмы ферментов цикла витамина К и нейромедиаторных рецепторов/переносчиков

Ген VKORC1 (16p11.2) — мишень варфарина

- Кодирует субъединицу 1 комплекса эпоксидредуктазы витамина К, восстанавливающего витамин К для синтеза факторов свертывания II, VII, IX, X и протеинов C/S
- Промоторный полиморфизм c.-1639G>A (rs9923231): аллель А (гаплотип А) нарушает сайт связывания NF1 и снижает экспрессию мРНК VKORC1 в 2 раза
- У гомозигот АА (75–85% в Вост. Азии, ~55% у казахов, ~15% в Европе) потребность в варфарине минимальна (2–3 мг/сут вместо 5–7 мг/сут)
- Редкие миссенс-мутации экзонов VKORC1 (например, Asp36Tyr) вызывают истинную фармакодинамическую резистентность к высоким дозам (>15–20 мг)

↔

Антидепрессанты, антипсихотики и опиоиды

- Ген переносчика серотонина SLC6A4 (промотор 5-HTTLPR, длинный аллель l vs короткий s): носители l/l лучше отвечают на СИОЗС (флуоксетин, пароксетин, сертралин)
- Рецептор серотонина HTR2A (rs7997012, T102C) и HTR2C (-759C/T): связаны с эффективностью СИОЗС и риском метаболического синдрома (ожирения) на оланзапине/клозапине
- Дофаминовый D2-рецептор (DRD2 -141C Ins/Del): влияет на антипсихотический ответ и риск экстрапирамидных расстройств (поздней дискинезии)
- μ-опиоидный рецептор OPRM1 (c.118A>G, p.Asn40Asp): аллель G снижает связывание β-эндорфинов и требует более высоких доз морфина при послеоперационной боли

Таргетная онкофармакогенетика: соматические мутации мишеней опухоли

Решающую роль в выборе таргетного препарата играет геном не только здоровых тканей пациента, но и самой опухолевой клетки

KRAS / NRAS — Ингибиторы тирозинкиназы и анти-EGFR

- При немелкоклеточном раке легкого делеции экзона 19 и замена L858R делают опухоль чувствительной к гефитинибу, эрлотинибу и осимертинибу
- При колоректальном раке мутации в генах KRAS/NRAS (кодоны 12/13/61) отменяют эффект цетуксимаба и панитумумаба

V600E — Меланома и колоректальный рак

- Активирующая мутация BRAF V600E конститутивно запускает каскад MAPK пролиферации
- Служит прямым показанием для назначения комбинации BRAF + MEK ингибиторов (вемурафениб/дабрафениб + траметиниб)

B2 (HER2/ne — Амплификация рецептора RTK при РМЖ и раке желудка

- Гиперэкспрессия/амплификация HER2 выявляется методом ИГХ и FISH (~15–20% случаев рака молочной железы)
- Обязательный маркер для назначения моноклональных антител трастузумаба и пертузумаба

A2 и PAR — Синтетическая летальность репарации ДНК

- Герминальные и соматические мутации BRCA1/2 нарушают гомологичную рекомбинацию двунитевых разрывов ДНК
- Назначение ингибитора PARP (олапариб, талазопариб) вызывает избирательную гибель опухолевых клеток

Сводная матрица фармакодинамических биомаркеров в клинической практике

Ключевые гены-мишени, полиморфизмы, препараты и их доказанное клиническое влияние

Ген мишени	Полиморфный маркер	Класс / Препарат	Влияние на фармакологический ответ
ADRB2	Arg16Gly (A46G), Gln27Glu	Сальбутамол, сальметерол (БА)	У Arg16Arg ускоренная десенситизация на монотерапии β2-агонистом (нужны ИГКС)
ADRB1	Ser49Gly, Arg389Gly (G1165C)	Метопролол, бисопролол, карведилол	У Arg389Arg выраженное снижение АД и прирост ФВ ЛЖ при ХСН
VKORC1	c.-1639G>A (rs9923231)	Варфарин, аценокумарол	Носители аллеля A требуют снижения дозы на 30–60% (CPIC 1A)
SLC6A4 / HTR2A	5-HTTLPR (l/s); rs7997012	СИОЗС (циталопрам, сертралин)	Влияние на скорость ремиссии депрессии и переносимость терапии
KCNH2 / SCN5A	Мутации ионных каналов (LQTS)	Соталол, амиодарон, макролиды	Риск удлинения интервала QT и полиморфной желудочковой тахикардии

Интегральная ФК+ФД модель персонализации фармакотерапии

Почему для максимальной точности прогноза необходимо учитывать одновременно ферменты элиминации и гены рецепторов-мишеней

Кардиология: Варфарин (CYP2C9 + VKORC1)

- Ген CYP2C9 определяет, как быстро S-варфарин покинет печень и кровь (фармакокинетика)
- Ген VKORC1 (-1639G>A) определяет, сколько самого фермента-мишени синтезируется в клетках печени (фармакодинамика)
- Совместный учет двух генов + возраста и массы тела позволяет с точностью предсказать дозу и избежать кровотечений на первой неделе
- Третий вспомогательный ген CYP4F2 (V433M) корректирует метаболизм самого витамина К

↔

Кардиология: Метопролол (CYP2D6 + ADRB1)

- Биотрансформация метопролола на 70–80% обеспечивается печеночным цитохромом CYP2D6 (ФК)
- Ответ миокарда на достигнутую концентрацию препарата зависит от димеризации/сопряжения β1-АР (ADRB1 Arg389Gly — ФД)
- Опасная комбинация: пациент CYP2D6 PM (*4/*4) + ADRB1 Arg389Arg получает 5-кратную концентрацию препарата при высокой чувствительности миокарда → риск тяжелой брадикардии и АВ-блокады
- Обратная ситуация (CYP2D6 UM + ADRB1 Gly389Gly) объясняет резистентную к β-блокаторам гипертензию и тахикардию

Контрольные вопросы и ключевые выводы

Закрепление материала лекции 8

? Контрольные вопросы

- 1. Чем фармакодинамический полиморфизм отличается от фармакокинетического по механизму влияния на лекарственный ответ?
- 2. Перечислите подтипы адренорецепторов (α1, α2, β1, β2, β3), их внутриклеточные каскады (Gs/Gi/Gq) и основные ткани-мишени.
- 3. Охарактеризуйте полиморфизмы гена ADRB2 (Arg16Gly, Gln27Glu, Thr164Ile) и их значение для терапии бронхиальной астмы SABA и LABA.
- 4. Как полиморфные маркеры p.Ser49Gly и p.Arg389Gly гена ADRB1 влияют на антигипертензивный и ремоделирующий эффект β-блокаторов?
- 5. Приведите примеры комплексной оценки ФК+ФД (CYP2C9+VKORC1 для варфарина и CYP2D6+ADRB1 для метопролола).

✓ Ключевые выводы

- Полиморфизм генов фармакодинамики меняет структуру и число рецепторов, ферментов-мишеней и ионных каналов.
- Аллель ADRB2 Arg16 при монотерапии β2-агонистами повышает риск десенситизации и обострений астмы, что корригируется добавлением ИГКС.
- Вариант ADRB1 Arg389 обеспечивает более эффективное сопряжение с Gs-белком и максимальный ответ миокарда на β-блокаторы при АГ и ХСН.
- Определение промотора VKORC1 (-1639G>A) совместно с CYP2C9 — мировой стандарт (CPIC 1A) подбора дозы варфарина.

Рекомендуемая литература

Источники по фармакогенетике рецепторов, мишеней и фармакодинамики

1 Основная литература

- 1. Сычев Д.А., Раменская Г.В., Игнатьев И.В., Кукес В.Г. Клиническая фармакогенетика: учебное пособие. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2021.
- 2. Кукес В.Г., Сычев Д.А. Персонализированная медицина и фармакогенетика в кардиологии и пульмонологии. — М.: ГЭОТАР-Медиа.
- 3. Johnson J.A. et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for Warfarin Dosing: 2017 Update // Clinical Pharmacology & Therapeutics.
- 4. Liggett S.B. et al. A polymorphism within a conserved beta(1)-adrenergic receptor motif alters cardiac function and beta-blocker response in human heart failure // PNAS. — 2006.

2 Дополнительная литература и ресурсы

- 1. Wechsler M.E. et al. Beta-adrenergic receptor polymorphisms and response to salmeterol (LARGE study) // The Lancet. — 2009.
- 2. Bousquet J. et al. Pharmacogenetics of asthma and ADRB2 haplotypes // European Respiratory Journal.
- 3. PharmGKB VIP Summary: ADRB1, ADRB2 & VKORC1: https://www.pharmgkb.org/vips
- 4. OnkoKB (Precision Oncology Knowledge Base for somatic targets): https://www.oncokb.org

Благодарю за внимание! • Кафедра молекулярной биологии и генетики КазНУ