**Казахский национальный университет имени аль-Фараби**

**Факультет биологии и биотехнологии**

Кафедра молекулярной биологии и генетики

**Дисциплина «Фармакогенетика»**

**Лекция 10**

# Генетический полиморфизм глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы и рианодинового рецептора 1 типа

Х-сцепленная энзимопатия эритроцитов (G6PD, фавизм и лекарственный гемолиз) и каналопатия скелетных мышц (RYR1, злокачественная гипертермия)

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

# Цель и структура лекции



**Цель: изучить молекулярные механизмы лекарственного гемолиза при дефиците Г-6-ФД и злокачественной гипертермии при мутациях гена RYR1**

## 01 Ген G6PD и Х-наследование

Локализация Xq28, 13 экзонов, феномен гемизигот у мужчин и мозаицизм Лайон у женщин

## 02 Биохимия Г-6-ФД в эритроцитах

Пентозофосфатный путь, регенерация НАДФН и глутатиона (GSH), защита от перекиси и телец Гейнца

## 03 Классы и лекарства-триггеры

Варианты ВОЗ (В, А-, Mediterranean), фавизм и стратификация опасных препаратов CPIC

## 04 Рианодиновый рецептор RYR1

Кальциевый канал саркоплазматического ретикулума скелетных мышц и сопряжение с DHPR (CACNA1S)

## 05 Злокачественная гипертермия

Аутосомно-доминантная каналопатия, триггеры (галотан, севофлуран, суксаметоний) и криз

## 06 Диагностика и дантролен

Галотан-кофеиновый контрактурный тест, ДНК-диагностика RYR1 и протокол спасения дантроленом

# Физиологическая роль глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы (G6PD) в эритроцитах



**Почему безъядерные зрелые эритроциты абсолютно уязвимы перед окислительным стрессом при дефиците Г-6-ФД**

## Х-сцепленное рецессивное наследование

- Ген G6PD длиной 18 т.п.н. расположен в субтеломерном участке длинного плеча Х-хромосомы (Xq28)
- Болеют преимущественно мужчины-гемизиготы (унаследовавшие мутантный аллель от матери-носительницы); у гетерозиготных женщин из-за случайной инактивации Х-хромосомы (лайонизации) два клона эритроцитов

## Единственный источник НАДФН

- В зрелых эритроцитах нет митохондрий и цикла Кребса — Г-6-ФД катализирует 1-ю лимитирующую реакцию окисления глюкозо-6-фосфата
- Это единственный путь синтеза восстановительного кофермента НАДФН в красной клетке крови

## НАДФН → GSH → нейтрализация $H_2O_2$

- НАДФН служит донором электронов для глутатионредуктазы, переводящей окисленный глутатион (GSSG) в восстановленный (GSH)
- Глутатионпероксидаза (с участием GSH) обезвреживает перекись водорода ($H_2O_2$) и свободные радикалы кислорода

## Тельца Гейнца и внутрисосудистый гемолиз

- При дефиците НАДФН перекиси окисляют тиоловые (-SH) группы гемоглобина и белков мембраны (спектрина)
- Денатурированный гемоглобин выпадает в нерастворимые включения — тельца Гейнца; клетки застревают в капиллярах селезенки и разрушаются

# Патогенез лекарственного гемолиза и фавизма при недостаточности Г-6-ФД



**Цепочка событий от приема окислительного триггера до гемолитического криза и гемоглобинурии**

### 1 1. Окислительный стресс

Прием препарата-окислителя (примахин, дапсон, расбуриказа), инфекция или конские бобы (вицин)

### 2 2. Взрыв синтеза $H_2O_2$

Внутри эритроцитов лавинообразно образуются активные формы кислорода и перекиси

### 3 3. Истощение НАДФН и GSH

Дефектный термонестабильный фермент G6PD (особенно в старых эритроцитах) не восполняет GSH

### 4 4. Преципитация гемоглобина

Образование телец Гейнца и жесткой мембраны → механическое разрушение в микрососудах

### 5 5. Гемолитический криз

Через 24–72 ч: резкая анемия, желтуха, боли в спине, темная моча (гемоглобинурия), ОПН

**При африканском варианте A- (дефицит только в старых эритроцитах) острый гемолиз самоограничивается, тогда как при Mediterranean криз может быть фатальным без переливания крови.**

# Генетическая гетерогенность дефицита Г-6-ФД (классификация ВОЗ)



**Свыше 400 биохимических и более 200 молекулярных вариантов G6PD; баланс между риском гемолиза и защитой от малярии**

| Класс ВОЗ / Вариант | Активность фермента | Этногеографическое распространение | Клинический фенотип |
|---|---|---|---|
| **Класс I (тяжелый, редко)** | < 10% (хронический) | Спорадические редкие мутации (дефект стабильности тетрамера) | Хроническая несфероцитарная гемолитическая анемия (даже без триггеров) |
| **Класс II: Средиземноморский (Mediterranean, c.563C>T)** | < 10% (острый триггерный) | Средиземноморье, Ближний Восток, Кавказ, Южная и Средняя Азия | Тяжелый, угрожающий жизни гемолиз на лекарства, инфекции и бобы (фавизм) |
| **Класс III: Африканский A- (Val68Met + Asn126Asp)** | 10–60% (умеренный) | Страны Африки (до 20% мужчин), Афроамериканцы (10–14%) | Разрушаются преимущественно старые эритроциты (>50 дней); криз самоограничивается |
| **Варианты Mahidol / Canton / Viangchan** | 5–40% (классы II–III) | Юго-Восточная, Восточная и Центральная Азия | Высокая чувствительность к примахину/тафенохину при лечении малярии P. vivax |
| **Класс IV: Вариант B (Дикий тип) и A+** | 60–150% (норма) | Референсный аллель (B) во всех популяциях | Нормальная антиоксидантная защита; клинический гемолиз отсутствует |

# Классификация лекарственных средств по риску гемолиза при дефиците Г-6-ФД (CPIC)



**Разграничение препаратов высокого риска (категорически запрещенных) и условно-безопасных в терапевтических дозах**

## Высокий риск (Противопоказаны при дефиците Г-6-ФД)

- Расбуриказа и пеглотиказа (уриколитики в онкологии/подагре): прямо вырабатывают $H_2O_2$ → фульминантный гемолиз и метгемоглобинемия (обязателен тест FDA!)
- Противомалярийные 8-аминохинолины: примахин и тафенохин (предотвращение рецидивов P. vivax требует скрининга G6PD до первой дозы)
- Сульфоны и антибактериальные ЛС: дапсон, метиленовый синий (парадоксально вызывает гемолиз при лечении метгемоглобинемии!), нитрофурантоин
- Пищевой триггер: конские бобы (Vicia faba — фавизм) содержат гликозиды вицин и конвицин

↔

## Умеренный риск / Условно безопасны в обычных дозах (CPIC)

- Ко-тримоксазол (сульфаметоксазол/триметоприм), сульфасалазин и хинолоны (ципрофлоксацин, налидиксовая кислота) — избегать при классах I–II
- Ацетилсалициловая кислота (аспирин) и антипирин в высоких противовоспалительных дозах способны вызвать гемолиз на фоне инфекции
- Хлорамфеникол и витамин К (менадион — водорастворимый аналог провоцирует гемолиз у новорожденных)
- По пересмотренным данным CPIC (2022): парацетамол, стандартные дозы аспирина (81–325 мг), хлорохин и сульфонилмочевина обычно безопасны при отсутствии инфекции

# Глобальная эпидемиология дефицита Г-6-ФД и эволюционный отбор малярией



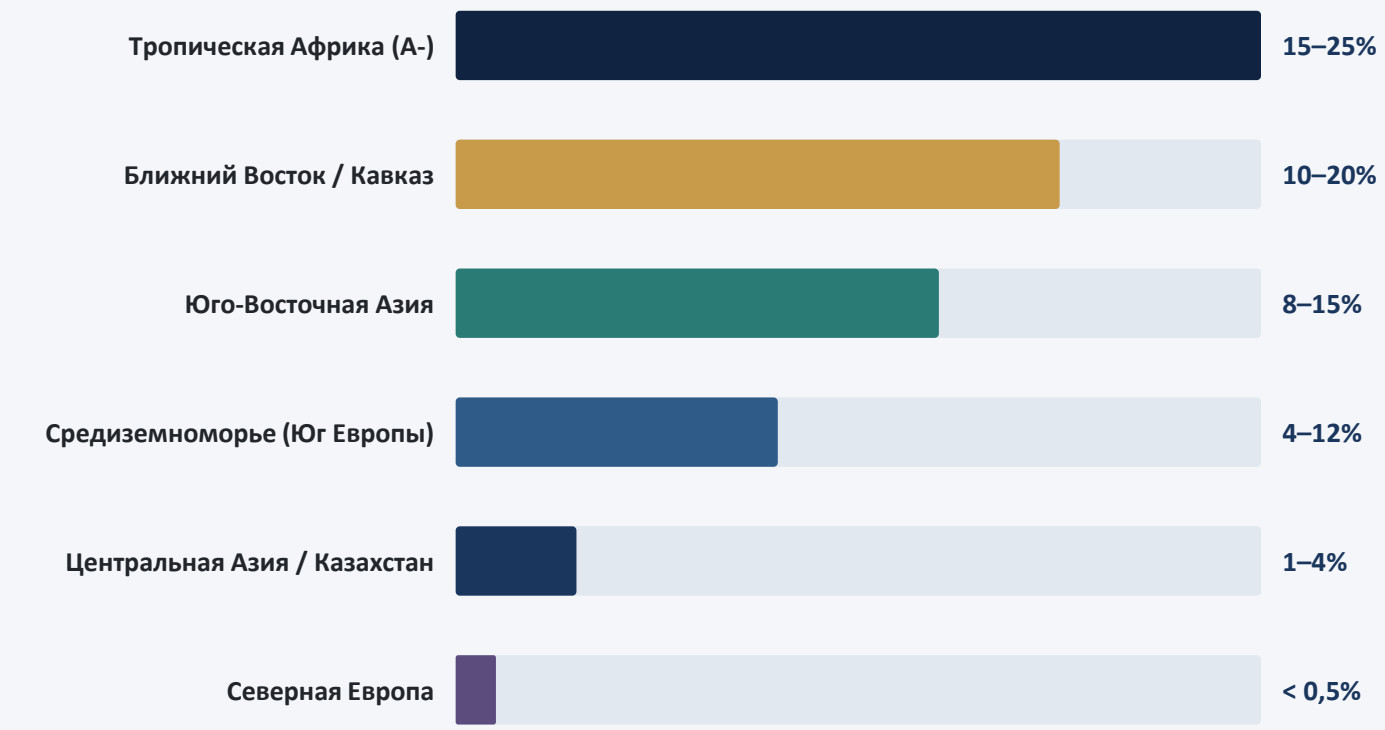
**Дефицит G6PD (свыше 500 млн носителей в мире) обеспечивает селективное преимущество против тяжелой тропической малярии (P. falciparum)**

**500 млн+**
Носителей в мире

**>400**
Биохимических вариантов

**1–2%**
Частота ЗГ по RYR1 (~1:2000 нос.)

## Распространенность дефицита фермента G6PD среди мужчин по регионам мира (%)




## Балансирующий отбор

- Эритроциты с дефицитом G6PD легче подвергаются фагоцитозу макрофагами на ранних стадиях инвазии Plasmodium falciparum
- Это снижает риск церебральной малярии и летального исхода у гемизиготных мужчин и гетерозиготных женщин примерно на 50%
- Наследование сцеплено с Х-хромосомой: непрямой скрининг с фенотипической флуоресценцией обязателен у женщин перед примахином/тафенохином

# Рианодиновый рецептор 1 типа (RyR1) в электромеханическом сопряжении мышц



**Крупнейший ионный канал человека (локус 19q13.2, 106 экзонов), регулирующий выброс ионов $Ca^{2+}$ из саркоплазматического ретикулума**

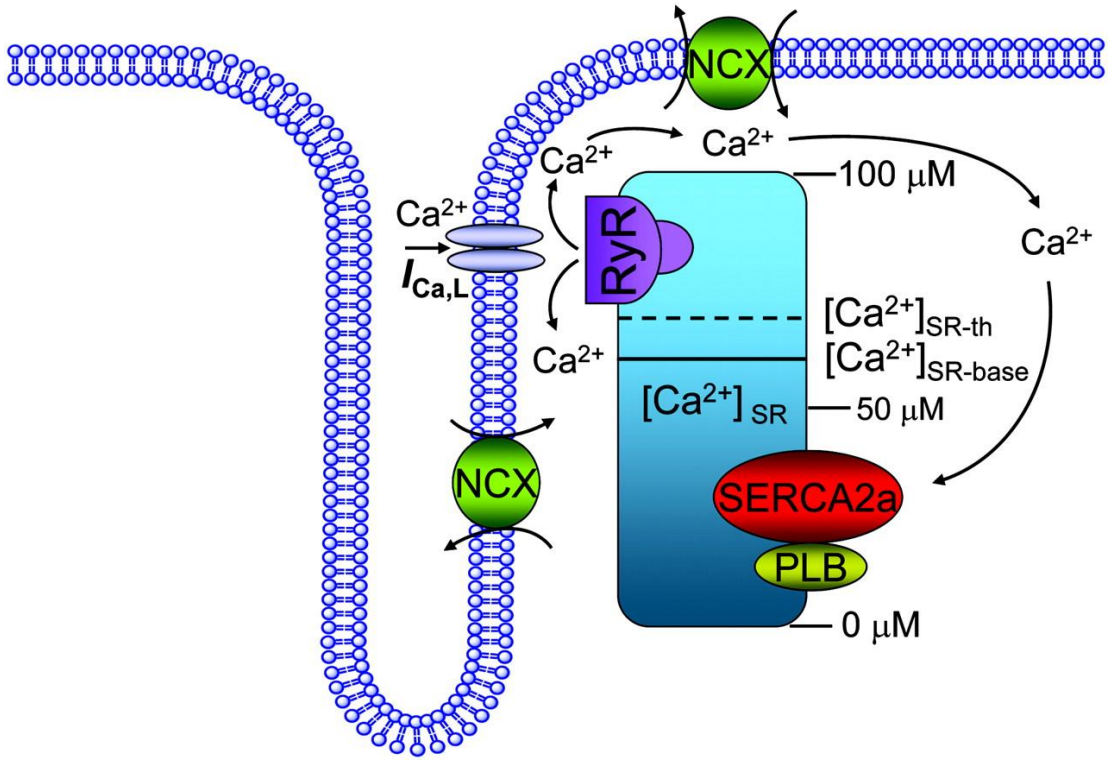



**Рис. 1. Кальциевая сигнализация через RyR, канал ICa,L (DHPR), насос SERCA2a/PLB и обменник NCX**

## Структура комплекса RyR1

- Гомотетрамер массой >2,2 МДа (4 субъединицы по ~5000 а.о.) на терминальных цистернах саркоплазматического ретикулума (СР)
- Высокочувствительно связывает растительный алкалоид рианодин в наномолярных концентрациях (открытое состояние канала)

## Связь Т-трубочек (DHPR) и СР (RyR1)

- При потенциале действия потенциал-зависимый дигидропиридиновый канал L-типа (DHPR / ген CACNA1S) механически открывает пору RyR1
- Концентрация $Ca^{2+}$ в миоплазме мгновенно растет в 100 раз → тропонин С и сокращение миофибрилл

## Расслабление через насос SERCA

- Обратная закачка $Ca^{2+}$ в просвет СР обеспечивается АТФ-зависимой кальциевой помпой SERCA1/2a (с затратой АТФ)
- Неконтролируемая утечка через мутантный RyR1 перегружает насос SERCA и истощает все запасы АТФ клетки

# Молекулярная генетика предрасположенности к злокачественной гипертермии (ЗГ)



**Фармакогенетическая аутосомно-доминантная каналопатия (OMIM #145600), скрытая до встречи с общими анестетиками**

## Главный причинный локус ЗГ

- Идентифицировано свыше 50 патогенных и более 400 вариантов неизвестного значения (преимущественно миссенс-мутации в 3 «горячих точках»)
- Аутосомно-доминантное наследование с неполной пенетрантностью: достаточно одной мутантной копии от любого из родителей

## Дополнительные гены канала сопряжения

- CACNA1S (1q32.1) кодирует α1S-субъединицу DHPR T-трубочек, механически активирующую RyR1 (например, Arg1086His)
- STAC3 (12q13.3): адаптерный белок, стабилизирующий механический контакт между DHPR и RyR1

## Конформационный «замок» поры RyR1

- Патогенные замены (например, Arg614Cys, Gly2434Arg) дестабилизируют закрытую конформацию цитозольного домена канала
- Порог спонтанного открытия канала резко снижается: молекула анестетика легко переводит его в неконтролируемый открытый режим

## Повторные «чистые» наркозы в прошлом

- До 50% пациентов с кризом злокачественной гипертермии ранее уже переносили 1–2 операции с теми же триггерными анестетиками без осложнений!
- Поэтому спокойный прошлый анестезиологический анамнез не гарантирует отсутствия мутации RYR1

# Молекулярный патогенез гиперметаболического криза злокачественной гипертермии



**Триггеры: галогенсодержащие ингаляционные анестетики (галотан, севофлуран, изофлуран, десфлуран) и деполяризующий миорелаксант суксаметоний**

### 1. Действие триггера

Ингаляционный анестетик или суксаметоний проникает в миоцит носителя мутации RYR1

### 2. Лавина $Ca^{2+}$ в миоплазму

Массивное и непрерывное высвобождение $Ca^{2+}$ из саркоплазматического ретикулума

### 3. Контрактура и трата АТФ

Устойчивое сокращение актина и миозина + перегрузка $Ca^{2+}$-АТФазы (SERCA) сжигают весь АТФ

### 4. Разогрев и лактатацидоз

Анаэробный гликолиз дает избыток тепла (>41–42 °C), лактата и $CO_2$ (гиперкапния)

### 5. Рабдомиолиз и ОПН

Разрыв сарколеммы → выброс $K^+$ (асистолия), миоглобина и КФК (>20 000 Ед/л)

**Первый и наиболее ранний интраоперационный сигнал криза — необъяснимый быстрый рост концентрации $CO_2$ в конце выдоха ($EtCO_2$ > 55–60 мм рт. ст.), спазм жевательных мышц и тахикардия.**

# Триггеры, лабораторная диагностика и алгоритм спасения дантроленом



**Протоколы Европейской группы злокачественной гипертермии (EMHG) и руководства CPIC**

## Диагностика предрасположенности и выбор безопасного наркоза

- Золотой стандарт функциональной диагностики (EMHG): биопсия четырехглавой мышцы с галотан-кофеиновым контрактурным тестом (IVCT / CHCT)
- Молекулярно-генетическое тестирование (CPIC 1A): скрининг панели патогенных вариантов RYR1 и CACNA1S у родственников пациента
- Опасные триггеры (строго исключить!): севофлуран, десфлуран, изофлуран, энфлуран, галотан, суксаметоний (сукцинилхолин)
- Безопасная альтернатива (TIVA): пропофол, бензодиазепины, кетамин, опиоиды, закись азота, недеполяризующие миорелаксанты (рокуроний) и местные анестетики

↔

## Протокол купирования острого криза (смертность падает с 80% до <5%)

- Шаг 1: МГНОВЕННО прекратить подачу летучего анестетика, перейти на 100% $O_2$ с гипервентиляцией (промывка контура) и завершить операцию
- Шаг 2: Внутривенно ввести специфический антидот ДАНТРОЛЕН НАТРИЯ (2,5 мг/кг болюсом каждые 5–10 мин до стабилизации $EtCO_2$ и ригидности, до 10 мг/кг)
- Механизм действия дантролена: прямое связывание с каналом RyR1 и физическая блокада выброса $Ca^{2+}$ из саркоплазматического ретикулума
- Шаг 3: Активное охлаждение, бикарбонат натрия от ацидоза, коррекция гиперкалиемии (инсулин + глюкоза, глюконат кальция) и форсированный диурез от миоглобинурии

# Сравнительный анализ двух моделей фармакодинамической патологии: G6PD vs RYR1



**Общие закономерности скрытых наследственных синдромов, манифестирующих только под действием лекарственного триггера**

## (ЭНЗИМ Метаболический дефект эритроцитов

- Тип наследования: Х-сцепленный рецессивный (гемизиготные мужчины и часть женщин-гетерозигот)
- Триггеры: окислители (расбуриказа, примахин, дапсон, бобы) → острый гемолиз за 24–72 часа

## (КАНАЛ Ионный канал саркоплазмы мышц

- Тип наследования: аутосомно-доминантный (достаточно одной копии мутантного гена в семье)
- Триггеры: ингаляционные анестетики и суксаметоний → молниеносный гиперметаболический криз за минуты

## ЕСКОЕ Здоров до первой встречи с препаратом

- Оба состояния в обычной жизни протекают полностью бессимптомно (скрытые фармакогенетические дефекты)
- Тщательный сбор семейного анамнеза (желтуха от бобов/лекарств; осложнения наркоза у родных) спасает жизнь

## ТИВНАЯ ТАК Категорический отказ (Avoidance)

- При наличии мутации G6PD или RYR1 дозу препарата НЕ «уменьшают» — триггерный препарат полностью ЗАМЕНЯЮТ
- Пациенту выдается пожизненный фармакогенетический паспорт / медицинский браслет с перечнем запрещенных ЛС

# Клинические протоколы CPIC по дефициту Г-6-ФД и злокачественной гипертермии



**Стандартизованный перевод статуса генов G6PD и RYR1/CACNA1S в решение врача (2020–2026)**

| Ген (Фенотип) | Препарат / Анестетик | Оценка риска | Обязательное клиническое действие (CPIC 1A) |
|---|---|---|---|
| **G6PD (Дефицит)** | Расбуриказа / Пеглотиказа | Высокий риск (запрещено) | Категорически противопоказаны! Переход на аллопуринол/фебуксостат |
| **G6PD (Дефицит)** | Примахин / Тафенохин / Дапсон | Высокий риск | Замена (тафенохин запрещен; при дефиците 8-аминохинолины отменяют или модифицируют схему) |
| **G6PD (Дефицит)** | Метиленовый синий / Нитрофурантоин | Высокий риск | Избегать назначения (особенно у новорожденных и при классе I–II) |
| **RYR1 / CACNA1S (Патогенный вариант)** | Галотан, севофлуран, десфлуран, изофлуран | Летальный триггер ЗГ | Полное исключение из схемы анестезии; подготовка аппарата без следов паров |
| **RYR1 / CACNA1S (Патогенный вариант)** | Суксаметоний (сукцинилхолин) | Летальный триггер ЗГ | Использовать тотальную в/в анестезию (пропофол + рокуроний); наличие дантролена в операционной |

# Итоговая система курса: от геномных технологий к безопасности пациента



**Как все изученные звенья (транспортеры, I и II фазы, мишени РААС, Г-6-ФД и RyR1) объединяются в прецизионную панель**

**1. Транспортеры (ABCB1, SLCO1B1)**

Прогноз всасывания, ГЭБ и захвата статинов/метформина печенью

**2. I и II фазы (CYP, DPYD, UGT, NAT2)**

Расчет скорости клиренса, активации пролекарств и детоксикации

**3. Рецепторы (ADRB1/2, BDKRB2)**

Выбор эффективных β-блокаторов, бронхолитиков, иАПФ или сартанов

**4. Энзимо- /каналопатии (G6PD, RYR1)**

Превентивное исключение триггеров гемолиза и злокачественной гипертермии

**5. Персонализация (CPIC / МИС)**

Снижение НЛР на 30% и повышение эффективности фармакотерапии в РК

**Примечание по курсу: очищены дублирующие материалы, обновлены данные по стандартам CPIC 2022–2026 и удалены посторонние ссылки.**

# Контрольные вопросы и ключевые выводы



**Закрепление материала лекции 10**

## ? Контрольные вопросы

- 1. Каков тип наследования дефицита Г-6-ФД (G6PD) и почему именно эритроциты критически зависят от пентозофосфатного пути?
- 2. Опишите механизм образования телец Гейнца и внутрисосудистого гемолиза; приведите 4–5 препаратов высокого риска (CPIC).
- 3. Какие биохимические классы дефицита G6PD выделяет ВОЗ (B, A-, Mediterranean) и как они соотносятся с малярией?
- 4. Опишите структуру рианодинового рецептора 1 типа (RYR1) и его взаимодействие с DHPR (CACNA1S) и насосом SERCA.
- 5. Какие препараты провоцируют злокачественную гипертермию, каковы ее ранние признаки и механизм действия антидота дантролена?

## ✓ Ключевые выводы

- G6PD (Xq28) обеспечивает синтез НАДФН и восстановленного глутатиона (GSH) — главного антиоксидантного буфера эритроцита.
- Носителям дефицита G6PD категорически противопоказаны расбуриказа, примахин, тафенохин, дапсон, метиленовый синий и бобы.
- Аутосомно-доминантные мутации канала RYR1 (и CACNA1S) под действием летучих анестетиков и суксаметония вызывают неконтролируемый выброс $Ca^{2+}$.
- Экстренная отмена триггера и внутривенное введение дантролена (блокатора RyR1) снижают летальность криза ЗГ с 80% до менее 5%.

# Рекомендуемая литература



**Источники по фармакогенетике дефицита G6PD и злокачественной гипертермии**

## 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. Gammal R.S. et al. CPIC Guideline for Expanded Clinical Use of Medications in Patients with G6PD Deficiency // Clinical Pharmacology & Therapeutics. — 2023. — Vol. 113. — P. 973–985.
- 3. Gonsalves S.G. et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for the Use of Potent Volatile Anesthetic Agents and Succinylcholine in the Context of RYR1 or CACNA1S Genotypes // Clinical Pharmacology & Therapeutics. — 2019.
- 4. Rosenberg H. et al. Malignant hyperthermia: a review // Orphanet Journal of Rare Diseases. — 2015.


## 2 Дополнительная литература и ресурсы


- 1. Luzzatto L., Ally M., Notaro R. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency // Blood. — 2020. — Vol. 136. — P. 1225–1240.
- 2. European Malignant Hyperthermia Group (EMHG) Diagnostic Guidelines: https://www.emhg.org
- 3. PharmGKB G6PD & RYR1 Prescribing Info: https://www.pharmgkb.org
- 4. OMIM #305900 (G6PD) & #145600 (Malignant Hyperthermia / RYR1): https://www.omim.org


**Благодарю за внимание! • Кафедра молекулярной биологии и генетики КазНУ**