

## Общая и клиническая фармакология

ID: 2012-08-213-A-1545

Оригинальная статья

Шевченко О.В., Решетько О.В., Киселев А.Р.\* , Посененкова О.М.\*

### Влияние генетических полиморфизмов на эффективность лозартана у больных эссенциальной артериальной гипертензией

*ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздравсоцразвития России, кафедра фармакологии**\* ФГБУ Саратовский НИИ кардиологии Минздравсоцразвития России*

#### Резюме

Многофакторный молекулярно-генетический анализ позволяет определить роль генетических полиморфизмов в патогенезе эссенциальной артериальной гипертензии и наметить выбор фармакологического препарата в зависимости от активности ферментов биотрансформации цитохрома P-450. Представлены результаты изучения полиморфных вариантов генов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и генов ферментов цитохрома P-450 у больных артериальной гипертензией. Показана роль определенных генетических полиморфизмов в эффективности антигипертензивной терапии.

**Ключевые слова:** артериальная гипертензия, генетический полиморфизм, ДНК-биочипы.

#### Введение

Персонализированная медицина, изучающая генетические основы индивидуального ответа на лекарственные препараты, в настоящее время интенсивно развивается. В ее основе лежат представления о генетическом полиморфизме – заменах нуклеотидов в молекуле ДНК, которые по-разному влияют на функциональную активность соответствующих генопродуктов. Благодаря исследованиям генома человека, впервые появилась возможность не только проводить точную молекулярную диагностику наследственных заболеваний, но и повышать эффективность их фармакотерапии. Большое значение в таких исследованиях имеет изучение полиморфизма генов, продукты которых обеспечивают различные звенья близко сопряженных метаболических цепей. Хорошую модель для таких исследований представляет ренин-ангиотензин-альдостероновая система (РААС). Белковые продукты ее генов играют ключевую роль в регуляции артериального давления (АД), обеспечивая важнейшие компенсаторные физиологические процессы в организме.

Накоплено много данных о влиянии полиморфизма генов семейства цитохрома P-450 на индивидуальную чувствительность к антигипертензивным препаратам, так как именно изоферменты этого семейства участвуют в метаболизме основных препаратов, применяющихся в настоящее время для лечения артериальной гипертензии (АГ). Цитохром P-450 2C9 (CYP2C9) – один из главных ферментов биотрансформации антагониста рецепторов ангиотензина – лозартана, метаболизирующий его до активного метаболита EXP-3174. По данным ряда авторов, носительство аллельных вариантов CYP2C9\*2 и CYP2C9\*3 («медленные» метаболизаторы) может приводить к нарушению образования указанного метаболита за счет снижения энзиматической активности CYP2C9 [1] и снижению клинического эффекта препарата. Подобная разница ответа к гипотензивной терапии побудила интерес исследователей к фармакогенетическим исследованиям. Так, к настоящему времени закончено проспективное исследование SILVHIA по изучению влияния полиморфизма генов РААС на ответ к терапии антагонистами рецепторов ангиотензина [2]. На основании научной интерпретации результатов подобных работ и данных клинико-инструментальных исследований станет возможным осуществление максимально эффективных лечебно-профилактических мероприятий для пациента.

**Цель:** Проанализировать эффективность терапии артериальной гипертензии лозартаном с учетом полиморфизмов генов ангиотензиногена (AGT), ген ренина (REN), генов рецепторов I-II типов ангиотензина 2 (AGTR1, AGTR2), а также гена цитохрома P-4502C9 (CYP2C9).

#### Материал и методы

Изучались образцы ДНК 30 больных АГ обоих полов русской национальности, проходящих обследование в стационаре. Средний возраст больных составил 48,1±8,2 лет, средняя длительность заболевания – 6,9±3,6 лет. Значения АД соответствовали 1-2 степени АГ по рекомендациям ВНОК 2008 г.: среднее систолическое – 169,67±2,04 мм рт. ст., диастолическое – 93,5±1,8 мм рт. ст. Диагноз АГ ставили на основании не менее чем двукратных измерений АД по методу Н.С.Короткова до и после лечения лозартаном. Пациенты получали лозартан в дозе 50 мг. в сутки в течение 1 месяца без комбинаций с другими гипотензивными препаратами.

ДНК выделяли из лимфоцитов периферической крови обследованных методом фенольно-хлороформной экстракции, описанным М.В. Johns и соавт. [3]. Для изучения полиморфизмов генов в работе использовался новый эффективный метод генетического тестирования – исследование на биологических микрочипах. Методика разработана в Институте молекулярной биологии им. В.А.Энгельгардта РАН и предполагает предварительную мультиплексную амплификацию фрагментов ДНК с использованием флуоресцентно меченых праймеров. Полученный продукт добавляли на биочип, представляющий собой подложку из стекла или пластика, на которой иммобилизованы молекулы-зонды. Молекулы-мишени, находящиеся в исследуемом образце, по принципу комплементарности связывались с молекулами-зондами. Картина гибридизации представляет собой распределение флуоресцентных сигналов, максимально ярких в точках специфического связывания зонда и мишени. Метод позволяет визуализировать флуоресцентные сигналы на матрице биочипа с помощью аппаратно-программного комплекса. (Возможность изучения полиморфизмов на чипах предоставлена ООО «Геночип» г.Саратов). Были проанализированы отчеты

исследований образцов ДНК больных АГ на «Кардио» биочипе, который дает информацию о генетических полиморфизмах ряда генов, вовлеченных в регуляцию АД [4].

Обработка полученных результатов проводилась методами непараметрической статистики с использованием программных пакетов "Microsoft Excel 2003" и "Biostatistics" для Windows (версия 4.03).

### Результаты

Среди обследуемых больных носителями AA-генотипа (G83A) гена REN оказались 6 человек (20%), GG-генотипа – 16 человек (53,3%), GA-генотипа 8 человек (26,7%). TT-, TC- и CC-генотипы (T235C) гена AGT были выявлены у 14 (46,6%), 12 (40%) и 4 (13,4%) человек, соответственно. CC-, AC-, AA-генотипы гена AGTR1 выявлены у 2 (6,7%), 20 (66,7%) и 8 (26,6%) человек, соответственно. AA-, CA-, CC-генотипы гена AGTR2 определены у 7 (23,3%), 13 (43,4%) и 10 (33,3%) человек, соответственно. При изучении генетических полиморфизмов гена CYP2C9 распределение гетеро- и гомозигот было следующим: «медленные» метаболизаторы – 9 человек (30%), из них носители гетерозиготной мутации СТ (C430T) – 5 человек, мутации АС (A1075C) – 4 человека. Гомозигот по «медленным» аллельным вариантам (CYP2C9\*2 и CYP2C9\*3) в исследуемой группе обнаружено не было.

Существенные различия в гипотензивном эффекте лозартана обнаружены у носителей генетических полиморфизмов генов REN и AGTR1. У обладателей генотипа AA- (G83A) гена REN систолическое АД (САД) снижалось в среднем на 3,2 мм.рт.ст., диастолическое АД (ДАД) – в среднем на 3,8 мм.рт.ст. У пациентов с генотипами GG- и GA- (G83A) САД снижалось в среднем на 14,4 мм.рт.ст., ДАД – в среднем на 18,6 мм.рт.ст. У лиц с генотипами CC-, а также с генотипами AC- и AA- (A1166C) гена AGTR1 снижение средних показателей САД составляло 5,8 мм.рт.ст. и 21,7 мм.рт.ст., ДАД – 3,7 мм.рт.ст. и 18,2 мм.рт.ст. соответственно. У обладателей различных генетических полиморфизмов генов AGT и AGTR2 статистически значимых различий в средних значениях САД и ДАД после терапии лозартаном не обнаружено. Лица с генотипом СТ- (C430T) гена CYP2C9 не имели клинического эффекта от терапии, средние значения САД и ДАД стали выше на 4,2 мм.рт.ст. и 5,9 мм.рт.ст. соответственно, а у пациентов с генотипом CC- (C430T) гена CYP2C9 средние значения САД и ДАД снизились на 19,6 мм.рт.ст. и 21,5 мм.рт.ст. соответственно. Пациенты с генотипом AC- (A1075C) гена CYP2C9 имели более худший терапевтический эффект (снижение САД на 4,1 мм.рт.ст. и ДАД на 3,2 мм.рт.ст.), чем лица с генотипом AA- (снижение САД на 16,1 мм.рт.ст. ДАД на 17,2 мм.рт.ст.) (таблица).

**Таблица. Полиморфизмы генов и гипотензивный эффект на терапию лозартаном**

Ген	Полиморфизм	Генотип и кол-во пациентов, чел.	Динамика АД, мм рт.ст.
REN	G83A	AA-6	САД: AA (-3,2), GG+GA (-14,4)*
		GG+GA-24	ДАД: AA (-3,8), GG+GA (-18,6)*
AGT	T235C	CC-4	САД: CC (-5,6), TT+TC (-6,1)
		TT+TC-26	ДАД: CC (-4,7), TT+TC (-8,7)
AGTR1	A1166C	CC-2	САД: CC (-5,8), AC+AA (-21,7)
		AC+AA-28	ДАД: CC (-3,7), AC+AA (-18,2)
AGTR2	C3123A	AA-7	САД: AA (-10,1), CA+CC (-11,8)
		CA+CC-23	ДАД: AA (-11,2), CA+CC (-12,1)
CYP2C9	CYP2C9*2 (C430T)	CT-5	САД: CT (+4,2), CC (-19,6)
		CC-25	ДАД: CT (+5,9), CC (-21,5)
	CYP2C9*3 (A1075C)	AC-4	САД: AC (-4,1), AA (-16,1)*
		AA-26	ДАД: AC (-3,2), AA (-17,2)*

Примечание: \* -  $p < 0,05$ . В столбце «Динамика АД» в скобках около наименования генотипа указаны средние значения динамики АД (САД или ДАД) у данных пациентов.

### Обсуждение

При изучении распределения генетических полиморфизмов, а также гипотензивного ответа на фоне терапии лозартаном у больных АГ с носительством различных полиморфных маркеров генов ангиотензиногена (AGT), ген ренина (REN), генов рецепторов I-II типов ангиотензина 2 (AGTR1, AGTR2), а также гена цитохрома P-4502C9 (CYP2C9), нами были получены результаты, дополняющие известные положения по биотрансформации и клинической эффективности изучаемого препарата.

Оценивались возможные особенности гипотензивной эффективности лозартана с учетом исследуемых полиморфизмов генов REN, AGT, AGTR1, AGTR2 и CYP2C9. Отмечено, что у больных АГ гипотензивная эффективность лозартана не ассоциировалась с тем или иным полиморфным вариантом генов AGT и AGTR2. У носителей мутантных аллелей, также как и немутантных наблюдался одинаково положительный эффект на терапию лозартаном, значимых различий динамики АД обнаружено не было.

У носителей разных генетических полиморфизмов генов REN и AGTR1 клинический эффект гипотензивной терапии зависел от того или иного генетического полиморфизма. Настоящее исследование показало, что лица-носители AA-генотипа (G83A) гена REN имеют достоверно ( $p < 0,05$ ) более низкий клинический эффект на терапию лозартаном, чем пациенты с генотипами GG и GA. Подобная клиническая эффективность препарата наблюдалась среди гомо- и гетерозигот по полиморфизму (A1166C) гена AGTR1: у носителей генотипа CC- гипотензивный эффект лозартана был ниже, чем у носителей AC- и AA- генотипов (статистическую значимость различий оценить невозможно по причине очень малого числа наблюдений в группе CC-генотипа). Уместно предположить, что возможные изменения экспрессии и структуры AGTR1 за счет полиморфизма его гена могут быть причастными к выраженности рецепторного взаимодействия с лозартаном, и как результат – особенностям фармакодинамических влияний. Следует отметить, что к настоящему времени данные по фармакогенетическим аспектам применения лозартана у больных АГ достаточно разноречивы.

У «медленных» метаболизаторов по CYP2C9 (CYP2C9\*2 и CYP2C9\*3) отмечался неоднозначный гипотензивный эффект лозартана. Носители генотипа СТ- (С430Т) (5 человек) не имели клинически значимого эффекта на лозартан в течение 7 дней, в последствии были подобраны препараты из других фармакологических групп. У пациентов, имеющих генотип АС- (А1075) (4 человека) гипотензивный эффект был недостаточным, препарат также был заменен. По имеющимся в мировой литературе данным, носительство аллельных вариантов CYP2C9\*2 и CYP2C9\*3 может приводить к нарушению образования активного метаболита лозартана EXP-3174 за счет снижения активности CYP2C9 и снижению фармакологического эффекта [1]. У пациентов с таким генотипом не следует ожидать хорошего терапевтического эффекта лозартана, что и показало настоящее исследование.

#### **Заключение**

Высокая гипотензивная активность лозартана не зависит от носительства полиморфных маркеров T235C и C3123A генов AGT и AGTR2 соответственно. Генотип AA- гена REN, также как и генотип CC- гена AGTR1 ассоциированы с низким терапевтическим эффектом лозартана. Для лиц гетерозиготных носителей аллельных вариантов CYP2C9\*2 и CYP2C9\*3 лозартан не может считаться препаратом первого ряда для лечения АГ. Возможность изучения генетических маркеров, вовлеченных в патогенез эссенциальной АГ, а также генетических полиморфизмов генов изоферментов цитохрома P-450, является чрезвычайно важным шагом на пути к индивидуализированной фармакотерапии артериальной гипертензии.

#### **Литература**

1. Yasar U., Forslund-Bergengren C., Tybring G. et al. Pharmacokinetics of losartan and its metabolite E-3174 in relation to the CYP2C9 genotype // Clin. Pharmacol. Ther. – 2002. – Vol.71. – P. 89-98.
2. Liljedahl U., Karisson J., Melhus H., Kurland L., Lindersson M. et al. A microarray minisequencing system for pharmacogenetic profiling of antihypertensive drug response // Pharmacogenetics. – 2003. – Vol. 13. P. 7-17.
3. ДНК-нанобиочипы в изучении генетической основы мультифакториальных и наследственных заболеваний у детей. Баранов А.А.
4. Johns M.B., Paulus-Thomas J.E. Purification of human genomic DNA from whole blood using proteinase K treatment followed by phenol-chloroform extraction // Anal Biochem. – 1989. – Vol. 180. P. 276-278.
5. Готов, А.С. Зависимость между возникновением стабильной артериальной гипертензией у детей и полиморфизмом генов ренин-ангиотензиновой и кинин-брадикининовой систем / Готов А.С., Иващенко Т.Э., Образцова Г.И. и др. // Молекулярная биология. – 2007. – Т. 41. – №1. – С.18-25.