



Золотарёв А.Д. <sup>1</sup> (3449-6090), Поляков А.С. <sup>1</sup> (2700-2420), Колюбаева С.Н. <sup>1</sup> (2077-2557)

## ЗНАЧЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ БИОТРАНСФОРМАЦИИ В ВЫБОРЕ АНТИТИРОЗИНКИНАЗНОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ МИЕЛОИДНОМ ЛЕЙКОЗЕ

<sup>1</sup> ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, г. Санкт-Петербург, 194044, ул. Академика Лебедева, д. 6, Россия

**Резюме:** Одной из актуальных проблем в оказании помощи больным с хроническим миелоидным лейкозом BCR/ABL1+ (ХМЛ) является развитие различных видов токсичности ингибиторов тирозинкиназ (ИТК), в основе которых может лежать нарушение метаболизма лекарственных препаратов. В работе представлены предварительные результаты исследования полиморфизма генов системы ферментов, участвующих в биотрансформации лекарственных препаратов (гены CYP2C9, CYP3A4, CYP3A5, CYP4E2 и VKORC1) у пациентов с ХМЛ с наличием или отсутствием симптомов непереносимости дазатиниба. Установлено, что у пациентов со специфическими для терапии дазатинибом явлениями негематологической токсичности (рецидивирующие плевральные выпоты) частота встречаемости различных однонуклеотидных полиморфизмов составила 100% по сравнению с группой контроля. Полиморфизм rs2740574(AG) гена изофермента цитохрома CYP3A4 - основного фермента, участвующего в метаболизме дазатиниба, был обнаружен у 20% испытуемых, на основании чего сделан вывод о том, что функциональная активность данного фермента не является достоверным прогностическим показателем токсического эффекта, но может быть одной из причин его возникновения, что требует дальнейшего изучения. Также установлено, что полиморфизм rs99232231(GA) гена витамин-К-редуктазы VKORC1 был выявлен у 60% испытуемых; снижение функциональной активности данного фермента может являться одной из причин нежелательных явлений. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности дальнейшей разработки темы в целях поиска новых подходов к выбору терапии ИТК и прогнозированию осложнений при ХМЛ.

**Ключевые слова:** миелоидные новообразования, МПН, хронический миелоидный лейкоз, ХМЛ, ингибиторы тирозинкиназ, ИТК, дазатиниб, биотрансформация, цитохромы P450, полиморфизм генов, токсичность.

Zolotarev A.D. <sup>1</sup>, Polyakov A.S. <sup>1</sup>, Kolubaeva S.N. <sup>1</sup>

## THE IMPORTANCE OF BIOTRANSFORMATION GENE POLYMORPHISM IN THE SELECTION OF ANTITYROSINE KINASE THERAPY FOR CHRONIC MYELOID LEUKEMIA

<sup>1</sup> S.M. Kirov Military Medical Academy of the Ministry of Defense, St. Petersburg, 194044, Academica Lebedeva str., 6, Russia

**Abstract:** One of the urgent problems in helping patients with chronic myeloid leukemia BCR / ABL1 + (CML) is the development of various types of toxicity of tyrosine kinase inhibitors (TKI), which may be based on impaired drug metabolism. The paper presents preliminary results of a study of the polymorphism of genes of the enzyme system involved in the biotransformation of drugs (genes CYP2C9, CYP3A4, CYP3A5, CYP4E2 and VKORC1) in patients with CML with or without symptoms of dasatinib intolerance. It was found that in patients with non-hematologic toxicity-specific effects of dasatinib therapy (recurrent pleural effusions), the frequency of occurrence of various single-nucleotide polymorphisms was 100% compared with the control group. Polymorphism rs2740574 (AG) of the CYP3A4 cytochrome isoenzyme gene, the main enzyme involved in dasatinib metabolism, was detected in 20% of subjects, based on which it was concluded that the functional activity of this enzyme is not a reliable predictive indicator of the toxic effect, but there can be one from the causes of its occurrence, which requires further study. It was also found that rs99232231 (GA) polymorphism of the VKORC1 vitamin K-reductase gene was detected in 60% of subjects; a decrease in the functional activity of this enzyme may be one of the causes of adverse events. The results obtained indicate the prospect of further development of the topic in order to search for new approaches to the choice of treatment for TKI and the prediction of complications in CML.

**Keywords:** myeloproliferative neoplasms, MPN, chronic myeloid leukemia, CML, tyrosine kinase inhibitors, TKI, dasatinib, biotransformation, P450 cytochromes, gene polymorphism, toxicity.

Хронический миелолейкоз BCR/ABL1+ (ХМЛ) – клональное опухолевое заболевание, обусловленное злокачественным перерождением стволовых гемопоэтических клеток и характеризующееся усилением пролиферации гранулоцитарного роста без потери способности к дифференцировке, гиперплазией миелоидной ткани, миелоидной метаплазией кровяных органов, ассоциированное с хромосомной аномалией – транслокацией t(9;22)(q34;q11), в результате которой образуется химерный онкоген BCR-ABL [2, 3]. Открытие у пациентов с ХМЛ в 1960 году филадельфийской хромосомы (Ph-хромосома) и в последующем в 1986 году химерного гена BCR-ABL1, обладающего тирозинкиназной активностью, позволило выяснить основной патогенетический механизм образования лейкоэмических клеток при данном заболевании, на основании чего была создана специфическая терапия препаратами из группы ингибиторов тирозинкиназ (ИТК), способными воздействовать на данную мутацию [2]. Лечение ХМЛ препаратами ИТК коренным образом изменило прогноз этого ранее фатального заболевания, улучшив общую выживаемость в несколько раз и сделав возможной перспективу максимально полного подавления остаточного лейкозного клона. В настоящее время ИТК являются основным средством терапии ХМЛ и имеют доказанное преимущество над другими методами лечения [3]. В Российской Федерации для лечения ХМЛ в настоящее время зарегистрированы следующие лекарственные препараты из группы ИТК: иматиниб, нилотиниб, дазатиниб, бозутиниб [3]. Особое значение в клинической практике имеет дазатиниб – ИТК 2-го поколения, обладающий наиболее широким спектром действия по отношению к некоторым тирозинкиназам и способностью воздействовать на «дикие» типы BCR-ABL, резистентные к предыдущим ИТК. Как и другие препараты этой группы дазатиниб способен вызвать побочные реакции у некоторого числа пациентов, наиболее характерной и нежелательной из которых является рецидивирующий плевральный выпот. Механизм возникновения этой побочной реакции до конца не ясен, однако имеются данные о предрасполагающих факторах риска к которым относятся: возраст старше 45 лет, лимфоцитоз и повышение уровня CD56+ лимфоцитов периферической крови, повышенная (140 мг/сут) доза дазатиниба, двукратный по сравнению с однократным прием дазатиниба в сутки, неконтролируемая гипертензия, заболевания сердца и аутоиммунные заболевания [1].

Непереносимость лекарственных средств (ЛС), применяемых по поводу любых заболеваний, является одной из основных причин неэффективности терапии, развития осложнений, инвалидизации и летальности [8]. Статистические исследования, проведенные в США и Европе, продемонстрировали, что



побочные реакции на лекарственные препараты вызывают около 106 тыс. смертей и 2,2 млн. серьезных нарушений ежегодно [4]. Важным фактором, определяющим характер ответной реакции организма на воздействие ЛС, являются генетические особенности конкретного пациента. В связи с этим в некоторых странах всё более широкое использование находят методы фармакогенетики, направленные на изучение индивидуальных особенностей генотипа с целью прогнозирования эффективности и переносимости различных видов терапии и повышения безопасности лечения. Особое внимание уделяется изучению полиморфизма генов ферментов, ответственных за метаболизм (биотрансформацию) ЛС [4, 8].

Применяемые при различных заболеваниях ЛС, подвергаются метаболическим изменениям в организме с целью образования нетоксичных гидрофильных соединений, которые транспортируются кровью и выводятся из организма экскреторными органами. Данный процесс в фармакокинетике называется биотрансформацией (метаболизмом) лекарственных препаратов или ксенобиотиков. В результате этих превращений может существенно изменяться как терапевтический эффект, так и токсичность лекарств [10]. Осуществляется биотрансформация под влиянием ферментов печени, локализованных в мембране эндоплазматического ретикулума гепатоцитов и протекает в две фазы: первая – метаболические реакции с превращением в более полярные метаболиты (окисление, восстановление, гидролиз); вторая – реакции конъюгации (соединение с белками, аминокислотами, глюкуроновой и серной кислотами) [4, 6]. В первой фазе метаболизма основную роль играют ферменты цитохрома P450, которые кодируются специфическими генами. В зависимости от аллельного состояния (наличия полиморфизмов) в этих генах фермент наделяется определённой функциональной активностью, которая может проявляться как снижением, так и повышением его функции. В случае повышения процесс метаболизма ЛС ускоряется и их действие снижается, а в случае снижения функции разрушение лекарств будет происходить медленнее и действие их будет усиливаться вплоть до появления токсических эффектов [9, 10].

Цитохромы P450 – обширное суперсемейство гемопротеинов с монооксигеназной и оксигеназной активностью и различной субстратной специфичностью, которое включает в себя 18 семейств и 43 подсемейства. Они катализируют около 70-80% реакций лекарственного метаболизма. Наиболее важными для биотрансформации лекарств являются цитохромы: CYP1A1, CYP2A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1, CYP3A4, CYP3A5. От их активности зависит метаболизм около 90% лекарственных препаратов. При этом установлено, что в метаболизме может принимать участие как один, так и несколько цитохромов [0]. Что касается дазатиниба, то известно, что данный препарат метаболизируется преимущественно за счёт изофермента CYP3A4 [1].

Кроме генов, кодирующих цитохромы, в рамках нашего исследования также будет оценено влияние полиморфизмов гена VKORC1, кодирующего 1 субъединицу специфического фермента – эпоксидредуктазы витамина К. Данный фермент способствует активации поступающего в организм витамина К и участвует в метаболизме антикоагулянтов кумаринового ряда, таких как варфарин [5].

**Цель исследования:** изучить значение исследования полиморфизма генов биотрансформации ксенобиотиков в прогнозировании риска развития у пациентов с ХМЛ специфических осложнений терапии ИТК 2-го поколения дазатинибом.

**Материалы и методы:** для реализации целей исследования были отобраны 46 пациентов с ХМЛ, получавших лечение дазатинибом в гематологическом отделении клиники кафедры факультетской терапии Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова МО РФ и Российском научно-исследовательском институте гематологии и трансфузиологии ФМБА. У 11 пациентов в период лечения дазатинибом были выявлены специфичные для данного препарата нежелательные явления (рецидивирующие плевральные выпоты). К настоящему моменту полностью проанализированы результаты исследований биоматериалов, полученных от 6 пациентов с диагнозом ХМЛ, 5 из которых имели проявления специфичной токсичности, послужившие причиной отмены дазатиниба.

Проведено определение полиморфизмов генов биотрансформации методом ПЦР. В качестве исследуемого материала использовалась ДНК, выделенная из периферической крови испытуемых. Выделение ДНК и приготовление реакционных смесей проводили с помощью наборов фирмы «ДНК-Технология, Россия» и «Литех, Россия». Амплификацию ДНК и получение результатов осуществляли с помощью прибора DT Prime («ДНК-Технология»). Исследовали полиморфизмы следующих генов: CYP2C9: 430C>T, rs1799853; CYP2C9: 1075A>C, rs1057910; CYP3A4: -392A>G, rs2740574; CYP3A5: 6986G>A, rs776746; CYP4F2: 1347C>T, rs2108622; VKORC1: -1639\_G>A, rs99232231.

**Результаты:** Распределение однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) генов цитохрома P450 и VKORC1 в группе пациентов с непереносимостью терапии произошло следующим образом: мутация в гене VKORC1 была выявлена у 3 испытуемых (60%), все имели гетерозиготный генотип (GA); в гене CYP4F2 мутация была выявлена у 2 (40%), все имели гетерозиготный генотип (CT); мутация в гене CYP2C9 выявлена у 1 испытуемого (20%), гетерозиготный генотип (AC); мутация в гене CYP3A4 выявлена у 1 испытуемого (20%), гетерозиготный генотип (AG). У 3-х испытуемых встречался только 1 ОНП (60%), 2-е испытуемых имели 2 ОНП (40%). Частота встречаемости ОНП в группе с непереносимостью терапии составила 100%. У пациента, относящегося к группе контроля полиморфизмов выявлено не было.



Существенный прогресс в понимании молекулярного патогенеза ХМЛ позволил значительно улучшить прогноз и качество жизни пациентов после внедрения в клиническую практику таргетной терапии ИТК. Установлено, что наряду с противоопухолевым эффектом данная группа препаратов способна вызывать специфические побочные реакции, неблагоприятно влияющие на качество жизни пациентов и исход лечения. Рассмотренный нами ИТК 2 поколения дазатиниб наглядно демонстрирует важность прогнозирования нежелательных эффектов противоопухолевой терапии с учётом возможных индивидуальных особенностей пациента. В связи с этим нами была проведена оценка функциональной активности ферментных систем, участвующих в метаболизме ЛС, с целью прогнозирования рецидивирующих плевральных выпотов при приёме дазатиниба.

**Выводы:** По предварительным результатам исследования (обработано 13% данных) у пациентов со специфичными проявлениями токсичности частота встречаемости различных ОНП составила 100% по сравнению с группой контроля, в которой ОНП отсутствовали, что при накоплении данных может стать основой для вывода о причинах токсичности дазатиниба у некоторых пациентов. Другим ожидаемым результатом исследования может стать интерпретация данных о выявлении (пока выявлен только у 1 пациента с симптомами непереносимости) полиморфизма гена фермента CYP3A4, считающегося главным в биотрансформации дазатиниба. Интерес представляет и выявление у 3 испытуемых (60% из проанализированных) мутации в гене VKORC1 (витамин-К-редуктаза). Последующий анализ может подтвердить предположение о значении снижения функциональной активности VKORC1 в возникновении нежелательных явлений. Проведение исследований по изучению полиморфизма генов биотрансформации может способствовать и дополнительно выявлению значения их генетически детерминированной функциональной активности в метаболизме и других ИТК и целого ряда ЛС, применяемых при иных заболеваниях. Такие данные могут стать перспективным инструментом для прогнозирования нежелательных реакций при выборе различных видов медикаментозной терапии.

#### Литература:

1. Абдулкадыров, К.М. Дазатиниб: 10 лет применения в мировой клинической практике / К.М. Абдулкадыров, В.А. Шуваев, И.С. Мартынкевич // Онкогематология. – 2016. – №1. – С.24-33.
2. Абдулкадыров, К.М. Миелопрролиферативные новообразования / К.М. Абдулкадыров, В.А. Шуваев, И.С. Мартынкевич. – М.: Литтерра, 2016. – 298 с.
3. Хронический миелолейкоз у взрослых: Клинические рекомендации / Министерство здравоохранения Российской Федерации, 2017. – 72 с.
4. Козлова, А.С. Полиморфизм генов системы биотрансформации ксенобиотиков и его роль в индивидуализации фармакотерапевтической поддержки лиц, подвергающихся тяжелым психофизическим нагрузкам / А.С. Козлова [и др.] // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2015. – №2. – С.43-48.
5. Лавринов, П.А. Полиморфизмы гена VKORC1-1639 G/A и 1173 C/T в популяции коренных жителей Ненецкого автономного округа / П.А. Лавринов, Н.И. Белова, Н.А. Воробьева // Ученые записки СПбГМУ им. И.П. Павлова. – 2014. – №2. – С.33-35.
6. Могиленкова, Л.А. Роль генетического полиморфизма и различия в детоксикации химических веществ в организме человека / Л.А. Могиленкова [и др.] // Гигиена и санитария. – 2016. – №95. – С.255-262.
7. Мусин, А.Г. Полиморфизм генов системы детоксикации ксенобиотиков, его роль в биотрансформации лекарственных препаратов / А.Г. Мусин [и др.] // Медицинский вестник Башкортостана. – 2014. – №9. – С.211-217.
8. Мустафина, О.Е. Полиморфизм генов CYP2D6, CYP3A5 и CYP3A4 в популяциях русских, татар и башкир / О.Е. Мустафина [и др.] // Генетика. – 2015. – №1. – С.109-119.
9. Мякошина, Л.А. Исследование полиморфизма генов биотрансформации ксенобиотиков и фолатного цикла у больных хроническим лимфолейкозом / Л.А. Мякошина [и др.] // Труды конференции «Молекулярная диагностика – 2017». – 2017. – №1. – С.208-209.
10. Саркисян, К.Х. Клиническая фармакология биотрансформации лекарственных препаратов в образовательном процессе студентов / К.Х. Саркисян [и др.] // Международный журнал экспериментального образования. – 2013. – №8. – С.101-103.

**Ибрагимов М.А.**<sup>1</sup>(6380-0380)

#### КЛИНИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ РАЗВИТИЯ ДИСФУНКЦИИ ПОЧЕК В НАЧАЛЬНЫЕ ПЕРИОДЫ ИНФАРКТА МИОКАРДА У МУЖЧИН В ВОЗРАСТЕ ДО 60 ЛЕТ

<sup>1</sup> ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ, г. Санкт-Петербург, 194044, ул. Ак. Лебедева, д.6

**Резюме.** Дисфункция почек (ДП) при инфаркте миокарда (ИМ) существенно ухудшает прогноз заболевания у мужчин моложе 60 лет. Цель исследования – оценить значимость различных факторов для развития ДП в завершении подострого периода инфаркта миокарда (ИМ) у мужчин моложе 60 лет для улучшения профилактики. В него включены мужчины от 18 до 60 лет с ИМ I типа, которым в первые 48 часов (1) и в конце третьей недели заболевания (2) выполнялся стандартный диагностический алгоритм, включавший комплексную эхокардиографию и оценку липидного обмена. Пациентов разделили на две сопоставимые по возрасту группы: I – исследуемая, со снижением скорости клубочковой фильтрации в конце третьей недели ИМ менее 60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> (дисфункцией почек (ДП)) – 21 пациент; II – без нарушения функции почек – 176 человек. Установлено, что наиболее значимыми показателями риска развития ДП в завершении подострого периода ИМ оказались индекс конечного систолического объема левого желудочка, размер левого предсердия, тахикардия более 108 в мин и гипертриглицеридемия (6,7 ммоль/л и более) в первые часы заболевания в ассоциации с аневризмой левого желудочка и его тромбозом, фибрилляцией и трепетанием предсердий как до развития ИМ, так и в период заболевания. Сочетание этих факторов с нестабильной стенокардией в анамнезе, уровнем протромбина (84% и более), значением по GRACE (134 балла и более) и TIMI (8 баллов и более), дислипидемией в завершении подострого периода заболевания свидетельствует о высоком риске развития ДП в этот период. Перечисленные факторы могут быть использованы для формирования группы высокого риска развития этого состояния для более глубокого наблюдения и проведения мероприятий профилактики.

**Ключевые слова:** инфаркт миокарда, дисфункция почек, факторы риска, сердечная недостаточность, профилактика.

**Ibragimov M.A.**<sup>1</sup>

#### CLINICAL MARKERS OF KIDNEY DYSFUNCTION DEVELOPMENT IN THE INITIAL PERIODS OF MYOCARDIAL INFARCTION IN MEN AGE 60 YEARS

<sup>1</sup> S.M. Kirov Military Medical Academy of the Ministry of Defense, St. Petersburg, 194044, Academica Lebedeva str., 6, Russia