

## ВЕРОЯТНАЯ РОЛЬ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМОРФИЗМОВ В ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К СИМВАСТАТИНУ В НАЧАЛЬНОЙ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ДОЗЕ

*К.А. Загородникова, А.А. Топанова, М.А. Настас, В.А. Шумков*

Северо-западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова,  
Санкт-Петербург, Россия

Несмотря на доказанную пользу статинов, их эффекты и переносимость существенно различаются у разных пациентов. Важную роль в этом играют генетические полиморфизмы в генах белков метаболизма статинов – в особенности СУР3А5 и в генах белков переносчиков статинов – в особенности ОАТР1В1. Мы изучали влияние генетических полиморфизмов на эффекты и безопасность симвастатина 20 мг в сутки у 60 пациентов с дислипидемией. Мы наблюдали обратную зависимость между выраженностью терапевтических и побочных эффектов симвастатина. В группе носителей СУР3А5\*1 отмечалась тенденция к менее значимому изменению содержания холестерина в крови на фоне терапии (1,2 vs 2,9 мкмоль/л). Полученные данные косвенно свидетельствуют о том, что генетические полиморфизмы имеют значение при применении статинов даже в минимальных терапевтических дозах.

**Ключевые слова:** фармакогенетика, симвастатин, СУР3А5, ОАТР1В1, безопасность лекарств.

### Введение

Международные и национальные рекомендации содержат список лекарственных средств (ЛС), которые убедительно улучшают прогноз у пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС). Согласно имеющимся данным, статины улучшают прогноз с уровнем доказательности А [1]. Тем не менее, они не способны одинаково улучшить прогноз у 100% получающих их пациентов, с другой стороны, многие пациенты страдают от неблагоприятных побочных реакций (НПР). Причины такой вариабельной эффективности терапии, как правило, лежат в генетических особенностях метаболизма и транспорта ЛС, их фармакокинетики. Имеющаяся экспериментальная информация до настоящего времени не вошла в клиническую практику в виде алгоритмов подбора терапии. Создание таких алгоритмов в отношении статинов представляется сложной задачей, поскольку имеется целый ряд известных генетических полиморфизмов, изменяющих транспорт, распределение, метаболизм или чувствительность мишеней. Помимо этого, не до конца известно, насколько значимую в практическом отношении роль играют лекарственные взаимодействия статинов.

**Целью** наших исследований являлось изучение влияния генетических факторов на эффективность и безопасность симвастатина в терапевтической дозе.

### Материал и методы

В исследование включали всех пациентов, поступающих в больницу им. Петра Великого, при наличии у них медицинских показаний к назначению липидснижающей терапии (дислипидемия при наличии факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний, ишемическая болезнь сердца, сахарный диабет) и отсутствии противопоказаний к назначению статинов. Стандартное обследование включало клинический анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови для оценки функционального состояния печени, почек, белкового статуса, а также липидограмму. После разъяснения цели исследования пациентам и получения информированного согласия у них брали 5 мл крови на фармакогенетический анализ и назначали симвастатин в начальной дозе 20 мг в сутки. У всех пациентов из цельной крови, взятой из периферической вены в пробирку с этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА) в условиях вакуумного забора, была выделена ДНК с использованием сорбционного метода («Проба ГС-генетика», ДНК-технология). Для выявления аллельных вариантов СУР3А5 \*1 и \*3 была использована модификация метода Smith et al. [2].

Для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) использовали праймеры, флан-

кирующие область однонуклетидной замены G6986A:

5'-ATGGAGAGTGGCATAGGAGATACC -3'  
5'-TGTGGTCCAAACAGGGAACAGATA -3'

Аmplификацию проводили в 20 мкл реакционной смеси, содержащей 67 мМ Tris-HCl pH8.8, 16,6 мМ (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,1% тритон X-100, 2,5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 0,25 мМ каждого праймера, 200 мМ dNTP, 1 ед. Taq ДНК полимеразы и 1 мкг геномной ДНК. После первоначальной денатурации при +95° С в течении 7 мин 35 циклов амплификации вели в следующем температурно-временном режиме: денатурация +94°С – 60 сек, отжиг праймеров: +60°С – 60 сек, синтез: +72°С – 60 сек. После завершения 35 циклов амплификации проводили заключительный синтез при +72°С в течении 7 мин. В результате ПЦР получали фрагмент размером 110 п.н. Для проведения рестрикционного анализа ПЦР продукт инкубировали с 0,5 ед. эндонуклеазы Cai I в 1х буфере в буфере Y+ (33 мМ Tris-acetate pH7.9, 10 мМ Mg-acetate, 66 мМ K-acetate, 0,1 мг/мл BSA, pH7.9 при +37°С) при +37°С в течении 24 часов. После рестрикции фрагменты ДНК подвергали электрофоретическому разделению в 6% ПААГ.

С целью стандартизации анализа эффективности липидоснижающей терапии проводили изучение пищевого статуса пациентов методикой НИИ питания РАМН [3], оценивали поступление холестерина с пищей. Контроль показателей эффективности (изменения липидограммы, С-реактивный белок) и безопасности (жалобы на миалгию, показатели аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспаратаминотрансферазы (АСТ), креатинфосфокиназы (КФК)) проводили через 2 и 4 недели после начала терапии.

Для оценки данных использовались следующие методы: описательная статистика - среднее ± стандартное отклонение (минимум-максимум), проценты от общего (округлены до целых чисел); тест ранговой корреляции Спирмена (для непараметрических данных); ANOVA. Анализ проведен с помощью программы статистического анализа GraphPad Prizm 5.

### Результаты и их обсуждение

В исследование были включены 60 пациентов – 22 (37%) мужчин, 38 (63%) женщин. Средний возраст 63±14 (минимальный – 27, максимальный – 85). В 81% случаев показаниями к назначению статинов была подтвержденная ишемическая болезнь сердца (вторичная профилактика сердечно-сосудистых событий), в 19% – дислипидемия с факторами риска (первичная профилактика сердечно-сосудистых событий). У всех пациентов на момент включения в исследование уровень общего белка был выше 60 г/л, показатели креатинина, АЛТ, АСТ, билирубина, КФК не превышали нормальных значений.

По результатам анализа питания пациентов среднее потребление холестерина у них составило 331,8±170 мг в сутки, что в среднем соответствует допустимому в норме потреблению холестерина. По результатам повторных анализов питания по окончании периода наблюдения не было отмечено значимого изменения потребления холестерина, что позволило нам сделать вывод о том, что питание не повлияло на наблюдавшиеся нами изменения содержания холестерина в крови.

Динамика наблюдаемых показателей за весь период наблюдения представлена в таблице (табл. 1).

Таблица 1

### Изменения средних величин показателей общего холестерина, КФК, АЛТ и АСТ на фоне терапии симвастатином

	Общий холестерин	КФК	АЛТ	АСТ
Исходно	5,9±1,3	81,3±94,8	26±15	29±24
2я неделя	4,9±0,9	74,23±82,7	33±37	23±8
4я неделя	4,7±1,1	87,9±102	28±17	24±11
Значимость (ANOVA)	p<0.0001	незначимо	незначимо	незначимо

Снижение общего холестерина и липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) наблюдались в разной степени у всех пациентов. Однако при сопоставлении изменений холестерина и КФК было обнаружено, что между ними существует значимая обратно пропорциональная зависимость (Spearman  $r$  0,6,  $p < 0,0001$ ) (рис. 1). Эти данные могут являться отражением нарушения транспорта симвастатина к месту оказания эффекта посредством белка-переносчика органических анионов (OATP1B1), субстратом для которого является симвастатин наряду с другими статинами. В целом ряде крупных клинических исследований было показано, что эффективность статинов генетически детерминирована активностью этого белка-переносчика, отвечающего за транспорт статинов к месту действия – в гепатоцит. Впервые эта информация была опубликована для азиатской популяции в исследовании Tachibana-Limori [4], где было показано, что гетерозиготное носительство мутации в гене, кодирующем этот переносчик ЛС, в виде замены тимина на цитозин в положении 521 (521 TC) приводит к меньшему снижению ЛПНП на фоне применения статинов, чем в отсутствие этой нуклеотидной замены (16,5% и 22,3% соответственно,  $p < 0,05$ ). Наиболее значительные результаты были получены на материале исследования, опубликованного в журнале Lancet в 2004 г. На популяции численностью 16600 пациентов было показано, что при применении симвастатина в дозе 40 мг в сутки в течение 4–6 недель снижение ЛПНП на 1,28% меньше среднего с каждой копией гена, несущего нуклеотидную замену 521T/C [5]. В то же время доказана связь генетических полиморфизмов в гене, кодирующем этот белок-переносчик, с развитием рабдомиолиза – тем выше, чем больше копий гена OATP1B1, несущего нуклеотидную замену 521C/T [6]. Полученные нами данные косвенным образом свидетельствуют о том, что логично следует из указанного генетического дефекта, – о снижении эффекта симвастатина на синтез холестерина у тех пациентов, у которых повышена вероятность побочных эффектов терапии – нарастания КФК в связи с накоплением препарата во внеклеточном пространстве, а не внутриклеточном.

В целом повышение КФК любой степени выраженности на фоне терапии и при отсутствии других причин мы наблюдали в 22 (37%) случаях. Отмена препарата в связи с повышением КФК потребовалась в 2 (3%) случаях. У этих пациентов содержание КФК было в 3 и 5 раз выше нормальных значений.

Метаболизм большинства статинов в печени осуществляется посредством ферментов семейства цитохрома P450 подсемейства 3A4 (CYP3A4), при этом одновременное применение ингибиторов этого фермента (макролиды, верапамил, дилтиазем, кетоконазол, амиодарон) приводит к увеличению концентраций статинов. Существуют данные о повышении числа статин-индуцированных миопатий при их одновременном применении с верапамиллом и противогрибковыми препаратами группы азолов [7]. Около 20 лет назад был выявлен генетический полиморфизм в гене белка, кодирующего фермент CYP3A5, имеющих общие с CYP3A4 субстраты. Оказалось, что только около 20% европейской популяции экспрессируют этот белок. Такая мутация была названа CYP3A5\*1. В нашей группе пациентов частота встречаемости «редкого» аллеля \*1, характеризующегося выраженной активностью фермента метаболизма симвастатина, составила 15%, что соответствует известной, по данным литературы, частоте в европейской популяции [8]. Мы не наблюдали гомозиготных носителей аллеля \*1, что допустимо исходя из менделевского распределения генотипов.

Мы проанализировали степень снижения холестерина у пациентов – носителей двух аллелей \*3 и носителей хотя бы одного аллеля \*1. В группе пациентов с генетической предрасположенностью к более высокой скорости метаболизма симвастатина отмечалась тенденция к менее значимому изменению содержания холестерина в крови на фоне терапии (1,2 vs 2,9 мкмоль/л), что, однако, не достигло статистической значимости ввиду большого разброса величин в группе сравнения (рис.2).

### Выводы

Несмотря на то, что статины входят в перечень препаратов, назначаемых всем пациентам с ИБС с уровнем доказательности А, существуют данные о том, что должного эффекта достигают только 18% пациентов [9]. В то же время актуальной проблемой являются НПР при применении статинов, в частности миопатия, встречающаяся у 10–15% пациентов [10], наиболее тяжелые случаи которой (рабдомиолиз) сопряжены с высокой вероятностью летального исхода и встречаются у 1,6 на 100 000 пациент-лет [11]. По нашим данным, представляется вероятным, что выраженность эффектов и безопасность симвастатина определяются неодина-

ковыми генетическими параметрами. Генетический полиморфизм переносчика органических анионов OATP1B1 скорее всего определяет безопасность и связан с меньшей эффективностью, тогда как полиморфизм в метаболизирующем ферменте CYP3A5 в большей степени может быть связан с индивидуальными различиями в выраженности липидоснижающего эффекта. Для построения практических алгоритмов назначения статинов требуются более развернутые исследования, затрагивающие эти и другие генетические полиморфизмы, а также лекарственные взаимодействия. Необходимость максимально эффективного лечения и профилактики ИБС делает изучение этих факторов и разработку таких алгоритмов высокозначимым.

Исследование выполнено при поддержке гранта президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук МК-5049.2011.7.

#### Список сокращений

АЛТ – аланинаминотрансфераза  
 АСТ – аспаргатаминотрансфераза  
 ИБС – ишемическая болезнь сердца  
 КФК – креатинфосфокиназа  
 ЛПНП – липопротеиды низкой плотности  
 ЛС – лекарственные средства  
 НПР – неблагоприятные побочные реакции  
 ПЦР – полимеразная цепная реакция  
 ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота

#### Литература

1. Smith, SC Jr, Benjamin, EJ, Bonow, RO et al. АНА/ACCF secondary prevention and risk reduction therapy for patients with coronary and other atherosclerotic vascular disease: 2011 update: a guideline from the American Heart Association and American College of Cardiology Foundation endorsed by the World Heart Federation and the Preventive Cardiovascular Nurses Association // *J Am Coll Cardiol.* – 2011. – Vol. 58. – Iss. 23. – P. 2432–2446.

2. Smith, S., Judge, H., Peters, G., Armstrong, M., Fontana, P., Gaussem, P., Daly, M., Storey, R. Common sequence variations in the P2Y12 and CYP3A5 genes do not explain the inhibitory ef-

fects of clopidogrel therapy // *Platelets.* – 2006. – V. 17. – P. 250–258.

3. Тутельян, В.А., Батурин, К.А., Погожева, А.В. Актуальные вопросы диагностики и коррекции нарушений пищевого статуса у больных с сердечно-сосудистой патологией // *Consilium Medicum.* – 2010. – Т. 12, № 10. URL: <http://www.consilium-medicum.com/magazines/magazines/cm/medicum/article/19919> (дата обращения 08.04.2012)

4. Tachibana-limori, R., Tabata, Y., Kusuhara, H. et al Effect of genetic polymorphism of OATP-C (SLCO1B1) on lipid-lowering response to HMG-CoA reductase inhibitors // *Drug Metab Pharmacokinet.* – 2004. – Vol. 19. – Iss. 5. – P. 375–380.

5. Romaine, SPR, Bailey, KM, Hall, AS, Balmforth, AJ The influence of SLCO1B1 (OATP1B1) gene polymorphisms on response to statin therapy // *The pharmacogenomics journal.* – 2010. – №10. – P. 1–11.

6. Link, E, Parish, J, Armitage, L, et al. SLCO1B1 variants and statin-induced myopathy – a genomewide study // *N Engl J Med.* – 2008. – Vol. 359. – Iss. 8. – P. 789–799.

7. Neuvonen, PJ, Niemi, M., Backman, JT. Drug interactions with lipid lowering drugs: mechanisms and clinical relevance // *Clin Pharmacol Ther.* – 2006. – Vol. 80, № 6. – P. 565–581.

8. Maggo, SDS., Kennedy, MA., Clark, DVJ. Clinical implications of pharmacogenetic variation on the effects of statins // *Drug Saf.* – 2011. – Vol. 34. – № 1. – P. 1–19.

9. Pearson, TA, Boden, WE. The imperative to raise low levels of high-density lipoprotein in cholesterol—a better clinical strategy in the prevention and treatment of coronary artery disease. Introduction // *Am J Cardiol.* – 2000. – Vol. 86. – Iss. 12A. – P. 1L – 4L.

10. Harper, CR, Jacobson, TA. The broad spectrum of statin myopathy: from myalgia to rhabdomyolysis // *Curr Opin Lipidol.* – 2007. – Vol. 18. – Iss. 4. – P. 401–408.

11. Law, M, Wald, NJ. Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment // *Lancet.* – 2006. – Vol 11. – Iss. 367. – P. 469–470.

*К.А. Загородникова*

*Тел.: +79312082392*

*E-mail: ksenia.zagorodnikova@gmail.com*

**Загородникова К.А., Топанова А.А., Настас М.А., Шумков В.А.** Вероятная роль генетических полиморфизмов в индивидуальной чувствительности к симвастатину в начальной терапевтической дозе // *Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова.* – 2015. – Том 7, № 1. – С. 53–57.

**POSSIBLE ROLE OF GENETIC POLYMORPHISMS FOR INDIVIDUAL SENSITIVITY TO SIMVASTATIN IN INITIAL THERAPEUTIC DOSE**

*K.A. Zagorodnikova, A.A. Topanova, M.A. Natas, V.A. Shumkov*

North-west state medical university named after I.I. Mechnikov, Saint-Petersburg, Russia

Despite proven benefits of statins their effects and tolerability differ significantly in different patients. Genetic polymorphisms in genes of metabolizing enzymes, especially CYP3A5, and transporter proteins, especially OATP1B1, represent important factor for these changes. In our study we investigated influence of genetic polymorphisms on effects and safety of simvastatin 20 mg daily in 60 patients with dislipidemia. We observed reverse correlation of effects and adverse effects of simvastatin in our patients. Among CYP3A5\*1 carriers we observed a tendency to less pronounced lipid-lowering effects (1,2 vs 2,9 mmol/l). Our data may indicate importance of genetic polymorphisms even when statins are use in minimal therapeutic doses.

**Key words:** pharmacogenetics, simvastatin, CYP3A5, OATP1B1, drug safety

**Authors**

K.A. Zagorodnikova

Tel.: +79312082392

E-mail: ksenia.zagorodnikova@gmail.com

Zagorodnikova K.A., Topanova A.A., Natas M.A., Shumkov V.A. Possible role of genetic polymorphisms for individual sensitivity to simvastatin in initial therapeutic dose // Herald of the Northwestern State Medical University named after I.I. Mechnikov. – 2015. – Vol. 7, № 1. – P. 53–57.