# Фармакогенетика и противоопухолевая химиотерапия

### Моисеев А. А., Медицинский центр Банка России

Стандартные клинические и морфологические параметры не позволяют с уверенностью предсказать, какие препараты окажутся эффективными у данного больного, из-за чего выбор схем химиотерапии носит в известной мере эмпирический характер, что чревато развитием лекарственной устойчивости и нарастанием побочных эффектов, таких, как нейро- и миелотоксичность. Соответственно, требуется поиск дополнительных критериев, указывающих на чувствительность (или устойчивость) опухоли к тем или иным цитостатикам и повышенный риск тех или иных осложнений.

Существенную помощь в индивидуальном подборе цитостатиков способна оказать фармакогенетика, которая изучает генетические особенности реакций организма на лекарственные препараты. Причиной этих особенностей служат небольшие вариации последовательности ДНК в генах, которые кодируют белки, участвующие в метаболизме препаратов или служащие их мишенями. Варианты, которые встречаются в популяции с частотой не менее 1%, называют полиморфизмами, более редкие варианты — мутациями (в принципе, эта грань условна).

## Обнаружив у больного полиморфизмы, которые влияют на активность ключевых ферментов, отвечающих за транспорт или (ин)активацию того или иного препарата, а также различных белков, участвующих в реализации его противоопухолевого эффекта, можно — по крайней мере, в теории — более точно предсказать его фармакокинетику и фармакодинамику, и, таким образом, повысить эффективность и снизить токсичность. Заметим, что наряду с частыми — и, соответственно, лучше изученными — полиморфизмами существенное влияние в вариации фармакокинетики и фармакодинамики различных препаратов могут вносить более редкие полиморфизмы, причем их суммарный вклад может быть даже более значимым. Исследования в этой области весьма трудоемки и требуют больших групп больных, по возможности однородных по этническому составу.

## Литература, посвященная фармакогенетическим аспектам химиотерапии, весьма обширна; ниже мы уделим основное внимание белкам-переносчикам, активное изучение большинства из которых началось лишь в последние годы, а также ферментам, сопряженным с цитохромом P450, и лишь коротко остановимся на других хорошо изученных полиморфизмах.

## Мембранные белки-переносчики

## Вопреки традиционным представлениям, лекарственные средства проникают через биологические мембраны, как правило, не путем простой диффузии, а посредством специальных белков-переносчиков — за счет облегченной диффузии или активного транспорта.

## Выделяют два типа этих белков: переносчики растворенных веществ [solute carriers — SLC], обеспечивающие облегченную диффузию, и ABC-переносчики (от ATP-Binding Cassette — АТФ-связывающий домен). Как правило, переносчики первого типа опосредуют попадание препаратов внутрь клеток — гепатоцитов, почечных канальцев и остальных клеток организма, в том числе опухолевых. Переносчики второго типа обеспечивают активный транспорт препаратов и их метаболитов из клеток — соответственно, в желчь, мочу или внеклеточное пространство (рис. 1). Литературные данные о вовлечении этих белков в транспорт цитостатиков пока достаточно фрагментарны, тем не менее, на ряде характерных примеров может быть показан потенциальный вклад полиморфизма белков-переносчиков в индивидуальные различия фармакокинетики противоопухолевых препаратов.

##

## Рисунок 1. Мембранные белки-переносчики в гепатоцитах, эпителии почечных канальцев и опухолевых клетках [Mandery, 2012].

## Переносчики растворенных веществ (SLC) образуют многочисленный класс белков (более 300), сгруппированных в 48 семейств; кодирующие их гены начинаются с букв *SLC*. Многие из них имеют значение для транспорта цитостатиков.

### Белки-переносчики семейства OATP

## Важную роль в метаболизме лекарственных средств играют белки-переносчики семейства OATP (Organic Anion Transporting Polypeptide), кодируемые генами *SLCO*, или *SLC21*. Это семейство содержит 12 белков, среди которых три — OATP1B1, OATP1B3 OATP2B1 — находятся на базолатеральной мембраной гепатоцитов, обеспечивая захват печенью препаратов и естественных метаболитов. Группа близких по строению белков составляет семейство OAT (Organic Anion Transporter), среди которых лучше изучены показанные на рисунке OAT1, 2, 3 и 4.

## Современный систематический подход к фармакогенетическим исследованиям можно показать на примере белка-переносчика OATP1B1. Белок OATP1B1 (кодируемый геном *SLCO1B1*) переносит билирубин, желчные кислоты, тиреоидные гормоны, эйкозаноиды, метотрексат, таксаны (паклитаксел и доцетаксел), лапатиниб, SN-38 (активный метаболит иринотекана), а также статины, цефоперазон, валсартан. Описано более 40 полиморфизмов гена *SLCO1B1*, ведущих к аминокислотным заменам (рис. 2).

## Fig. 2.

## Рисунок 2. Структура белка-переносчика OATP1B1 с аминокислотными заменами [Niemi, 2011].

## Полиморфизм 521T>C (т. е. замена тимина на цитозин в 521-м кодоне) встречается у 15–20% европейцев и вызывает замену Val174Ala (т. е. валина на аланин в 174-м положении) со снижением транспортной активности белка. Другой полиморфизм, 388A>G с заменой Asn130Asp, еще более распространен (до 40% европейцев), но данные о его влияние на активность белка неоднозначны. В зависимости от сочетания генотипов возможны 4 варианта гена (аллеля): *SLCO1B1*\*1A (388A + 521T), \*1B (388G + 521T), \*5 (388A + 521C) и \*15 (388G + 521C). Распространенность этих аллелей в разных популяциях заметно отличается (рис. 3), чем, в частности, могут быть обусловлены этнические различия в фармакинетике и фармакодинамике препаратов.

## http://pharmrev.aspetjournals.org/content/63/1/157/F4.large.jpg

## Рисунок 3. Распространенность аллелей гена *SLCO1B1* в разных популяциях [Niemi, 2011].

## Белок-переносчик OATP1B3 обладает похожей структурой и по субстратной специфичности во многом совпадает с OATP1B1 (из противоопухолевых препаратов переносит также иматиниб). Для гена *SLCO1B3* описан ряд полиморфизмов с заменами аминокислот, в частности, 334T>G и 699G>A, встречающиеся с частотой около 30%.

## Наличие вариантов *SLCO1B1* или *SLCO1B3*, снижающих активность соответствующих белков-переносчиков, способно замедлять печеночный метаболизм цитостатиков, увеличивая площадь под фармакокинетической кривой (AUC) и усиливая токсичность. Показана связь фармакокинетики, токсичности и эффективности метотрексата с полиморфизмами гена *SLCO1B1*; аналогичные данные для таксанов пока несколько противоречивы.

Белки OAT1, 2, 3 и 4 (рис. 1) участвуют в транспорте метотрексата, фторурацила, меркаптопурина, тиогуанина; клиническое значение их полиморфизмов практически не изучено.

Другая группа белков-переносчиков, вносящих существенный вклад в транспорт лекарственных средств, объединена в семейство OCT (Organic Cation Transporter). Белки OCT1, OCT2 и OCT3 (кодируются генами *SLC22A1*, *2* и *3*) отвечают за попадание в клетки органических катионов. Белок OCT1 содержится главным образом в печени, OCT2 — в почках, OCT3 — в различных тканях.

Белок-переносчик OCT2 играет ключевую роль в фармакологии препаратов платины. Он находится на базолатеральной мембране эпителия проксимальных извитых канальцев, обращенной к капиллярам, и захватывает различные органические катионы, действуя против градиента концентрации и используя мембранный потенциал. Затем эти вещества выводятся в мочу через апикальную мембрану белками-переносчиками семейства MATE (Multidrug And Toxin Extrusion, или SLC47A) MATE1 и MATE2-K. Субстратами описанной транспортной системы служат многие эндогенные соединения (креатинин, серотонин, триптофан, адреналин, дофамин, прогестерон), а также лекарственные средства (метформин, верапамил, -адреноблокаторы, H2-блокаторы, ибупрофен, аспирин, амитриптилин, ламивудин), в том числе цитостатики — цисплатин, оксалиплатин, иматиниб и тамоксифен.

Цисплатин отличается лишь умеренным сродством к OCT2, еще более низким сродством к MATE1 и практически не взаимодействует с MATE2-K, из-за чего накапливается в клетках почечного эпителии, вызывая их гибель. Карбоплатин не взаимодействует с белками семейства OCT. Наконец, оксалиплатин лучше захватывается белком OCT2, чем цисплатин, но при этом быстро выводится белками MATE1 и MATE2-K, практически не накапливаясь в почечном эпителии.

## Описан распространенный полиморфизм гена *SLC22A2* 808G>T, ведущий к замене аланина в 270-м положении на серин (Ala270Ser), снижающий сродство белка-переносчика OCT2 к ряду субстратов, включая цисплатин. У носителей этого полиморфизма отмечено снижение риска нефротоксичности.

## Транспорт препаратов платины в опухолевые клетки связывают с белком-переносчиком меди семейства CTR1 (Copper Transporter 1). Описанные полиморфизмы соответствующего гена *SLC31A1* могут модулировать цитотоксический эффект цисплатина и его аналогов.

### P-гликопротеин и его аналоги

Группа ABC-переносчиков насчитывает 49 членов, объединенных в 7 семейств (ABCA–G). Они играют важную физиологическую роль, осуществляя АТФ-зависимый транспорт токсических веществ (включая цитостатики и их метаболиты) из клетки, а также участвуют в образовании гематоэнцефалического и других гистогематических барьеров.

Наибольшее значение для устойчивости к цитостатикам — включая антрациклины, таксаны, алкалоиды барвинка, иринотекан, топотекан, этопозид, ингибиторы тирозинкиназ — имеет P-гликопротеин (или белок MDR1), кодируемый геном *ABCB1*. Уровень экспрессии гена *ABCB1* колеблется в широких пределах — отличия между разными людьми достигают 50 раз, что обусловлено как генетическими, так и средовыми факторами. На сегодняшний день описано более 50 аллелей гена *ABCB1*, наиболее распространены полиморфизмы в экзонах 12 (1236C>T), 21 (2677G>T/A) и 26 (3435C>T). Лишь полиморфизм в 21-м экзоне влияет на аминокислотную последовательность, причем возможны 2 варианта: Ala893Ser и Ala893Thr. Основное внимание уделяется полиморфизму 3435C>T: хотя он и не меняет структуру белка, в ряде экспериментов он снижал стабильность мРНК, уменьшая количество P-гликопротеина. Несколько исследований показали более высокую токсичность и эффективность цитостатиков (антрациклинов, иринотекана, таксанов) у гомозигот по аллелю 3435Т (*ABCB1\*6*) или при наличии всех трех полиморфизмов (т. н. аллель *P-gp\*2*). Впрочем, данные о функциональной и клинической значимости этих полиморфизмов неоднозначны, отчасти это может объясняться неравновесным сцеплением между полиморфными аллелями — то есть вместе они встречаются чаще, чем это объясняется их распространенностью в популяции.

Любопытны этнические различия в распространенности этих аллелей. Так, аллель 3435T встречается примерно у 40% европейцев, 50—60% монголоидов и лишь у 10—20% негров. Высказано предположение, что высокая распространенность аллеля 3435C у негров связана с естественным отбором: поскольку этот аллель сопряжен с усилением синтеза P-гликопротеина, его носители оказываются более устойчивы к кишечным инфекциям и не погибают в раннем возрасте. Этот же факт может объяснять большую частоту резистентности к химиотерапии у негров и более агрессивное течение у них злокачественных новообразований.

Заметный вклад в устойчивость к химиотерапии вносит белок-переносчик ABCG2, или BCRP (Breast Cancer Resistance Protein). Изначально описанный при раке молочной железы, он несколько отличается от P-гликопротеина по субстратной специфичности (переносит антрациклины, этопозид, иринотекан, топотекан, метотрексат, ингибиторы тирозинкиназ). Среди ряда полиморфизмов, описанных для гена *ABCG2*, наиболее известны 421C>A (с заменой Gln141Lys и вероятным снижением активности) и 376C>T (с появлением стоп-кодона). Первый встречается у 10% европейцев и у 30% азиатов, второй выявлен лишь у азиатов.

Лекарственную устойчивость звязывают также с аналогами P-гликопротеина из семейства MRP (Multidrug Resistance-associated Protein), среди которых наибольшее значение имеют белки-переносчики MRP1 и MRP2 (их кодируют гены *ABCC1* и *2*). MRP2 находится на апикальной мембране эпителиальных клеток, в частности, гепатоцитов, и выводит в желчь различные эндогенные и экзогенные вещества в виде глюкуронидов и конъюгатов с глутатионом, в том числе билирубин. Белки семейства MRP имеют более узкую субстратную специфичность, чем P-гликопротеин, но дополнительно обладают сродством к метотрексату и конъюгатам препаратов платины с глутатионом. Гены *ABCC1* и *ABCC2* также имеют полиморфные аллели, вклад которых в эффективность и токсичность химиотерапии остается предметом изучения.

## Ферменты I фазы метаболизма

Ферменты этой группы катализируют реакции окисления, восстановления и гидролиза, направленные на повышение гидрофильности естественных метаболитов и ксенобиотиков.

Ключевую роль здесь играют цитохром P450-зависимые ферменты: они представлены 17 семействами, объединяющими 57 различных изоформ. Лишь 12 из них играют существенную роль в метаболизме лекарственных средств, для метаболизма цитостатиков важны 7: CYP3A4 и 3A5, CYP2B6, CYP2C8, 2C9 и 2C19, CYP2D6. К ферментам I фазы метаболизма относятся также альдегиддегидрогеназа, дигидропиримидиндегидрогеназа, цитидиндезаминаза, блеомицингидролаза.

### CYP3A4 и CYP3A5

Субстратами изоферментов CYP3A4 и 3A5 являются более половины лекарственных препаратов, в том числе многие цитостатики — включая таксаны, этопозид, иринотекан, алкалоиды барвинка, циклофосфамид, ифосфамид, гефитиниб, эрлотиниб, тамоксифен. Активность этих ферментов весьма вариабельна: скорость выведения ими модельных субстратов у разных людей может отличаться в десятки раз. Часть этих различий определяют генетические факторы; огромную роль играет действие ингибиторов и индукторов цитохрома P450, но степень индукции и ингибирования в свою очередь зависит от генетических факторов, пока еще недостаточно изученных. Интересно, что на фоне индуктора CYP3A (рифампицина) и ингибитора CYP3A (итраконазола) различия в площади под фармаконетической кривой модельного субстрата — мидазолама — достигают 400 (!) раз.

Описано более 40 полиморфизмов гена *CYP3A4*, некоторые из них снижают активность фермента. Кроме того, часто встречается полиморфизм в регуляторной области гена –392A>G (аллель *CYP3A4\*1B*), усиливающий экспрессию. В ряде работ этот полиморфизм был сопряжен с повышением клиренса доцетаксела, а также с усилением действия циклофосфамида (CYP3A4 инактивирует доцетаксел, но активирует циклофосфамид).

Изофермент CYP3A5 активен лишь у 20% европейцев (в разных популяциях от 5% до 30%), 30—50% азиатов и 45—80% негров. Причиной служит распространенный полиморфизм гена *CYP3A5* (аллель *CYP3A5\*3*) с заменой одного нуклеотида в 3-м интроне (6986A>G), вызывающий альтернативный сплайсинг РНК с включением 131 дополнительного нуклеотида, сдвигом рамки считывания и появлением раннего стоп-кодона, в результате чего образуется нефункциональный белок. Обычно отсутствие белка CYP3A5 не проявляется, так как большинство метаболизируемых им препаратов являются также субстратами CYP3A4. Однако у людей, имеющих “нормальный” аллель (*CYP3A5\*1*), активность изоформ CYP3A4 и CYP3A5 в печени примерно одинакова, и суммарная активность подсемейства CYP3A оказывается заметно повышенной. В результате метаболизм субстратов CYP3A ускоряется, что ведет к повышенной инактивации ряда препаратов и может быть одной из причин неэффективности их стандартных доз. Так, среди больных с трансплантацией почки носителям аллеля *CYP3A5\*1* требовалась двойная доза иммунодепрессанта такролимуса. С другой стороны, попытки увязать индивидуальные вариации фармакокинетики доцетаксела с полиморфизмом гена *CYP3A5* пока не увенчались успехом.

### CYP2B6

На изофермент CYP2B6 приходится от 1% до 11% цитохром P450-зависимой активности печени, причем различия в концентрации белка у разных людей могут достигать 100 раз. CYP2B6 участвует в метаболизме ряда цитостатиков, но обычно его функции дублируют другие изоферменты; важным исключением служит циклофосфамид (рис. 4).



Рисунок 4. Метаболизм циклофосфамида [Turpeinen, 2012].

Циклофосфамид нуждается в активации путем гидроксилирования в 4-м положении. Эта реакция протекает в печени под действием CYP2B6, существенный вклад вносит CYP3A4/5, небольшую роль играют также CYP2C9 и 2C19. Образующийся 4-гидроксициклофосфамид находится в равновесии со своим таутомером, альдофосфамидом. Оба вещества способны диффундировать через мембраны, покидая печень и проникая в другие клетки, в том числе опухолевые. Там альдофосфамид спонтанно распадается на фосфорамидный иприт (активный метаболит с алкилирующими свойствами) и акролеин (токсичный метаболит, вызывающий геморрагический цистит). С другой стороны, альдегиддегидрогеназа (ALDH1A1, в меньшей степени 3A1 и 5A1) и различные цитохромы окисляют альдофосфамид и 4-гидроксициклофосфамид до неактивных метаболитов — карбоксифосфамида и 4-кетоциклофосфамида. Эти реакции активно протекают в печени, что защищает ее от действия цитостатика. Различные метаболиты циклофосфамида связываются с глутатионом (эти реакции ускоряют глутатион-S-трансферазы GSTP1, M1, A1, T1), и возникающие конъюгаты выводятся из клетки белками лекарственной устойчивости MRP2 и MRP4. Кроме того, под действием CYP3A4 (и, в меньшей степени, CYP2B6) около 10% препарата подвергается N-дехлорэтилированию с образованием нейротоксичного хлорацетальдегида.

Для гена *CYP2B6* описано более 100 полиморфизмов, некоторые из них ведут к изменению последовательности аминокислот в ферменте и влияют на его активность в отношении циклофосфамида; наиболее значимы 516G>T (с заменой Gln172His, встречается у 29% европейцев; активность CYP2B6 при этом *возрастает* на 50%), 785A>G (Lys262Arg, бывает у 33% европейцев и снижает активность фермента на треть) и 1459C>T (Arg487Cys, распространенность 14%, вызывает двукратное снижение активности). Показана связь между генотипом и прогнозом в группе из 230 больных раком молочной железы, получавших адъювантную химиотерапию циклофосфамидом и доксорубицином: риск рецидива и смертность были выше у носительниц аллелей *CYP2B6*, сопряженных со снижением активности фермента.

### CYP2C8

Изофермент CYP2C8 метаболизирует лишь немногие препараты, среди цитостатиков это паклитаксел, в инактивации которого он играет основную роль. Описан ряд полиморфизмов гена *CYP2C8*, сочетание двух из них —416G>A с заменой Arg139Lys и 1196A>G с заменой Lys399Arg (аллель *CYP2C8\*3*) — сопряжено с 15%-м снижением активности фермента в отношении паклитаксела. Впрочем, пропорционального уменьшения клиренса паклитаксела не наблюдалось, по-видимому, благодаря изоферментам CYP3A4 и 3A5.

### CYP2C9 и CYP2C19

Эти изоферменты участвуют в метаболизме циклофосфамида, ифосфамида и тамоксифена, однако здесь они по своему значению уступают, соответственно, CYP2B6, CYP3A4/5 и CYP2D6. Полиморфизмы CYP2C9 и 2C19 хорошо изучены, и их определение уже входит в клиническую практику при подборе антикоагулянтов (варфарина) и антиагрегантов (клопидогрела и тикагрелора). У носителей полиморфизма CYP2C19\*2 (618G>A), ведущего к сдвигу рамки считывания и синтезу неактивного фермента, описано снижение клиренса циклофосфамида, но клиническое значение этих данных неясно. По-видимому, в целях индивидуализации противоопухолевой химиотерапии полиморфизмы генов *CYP2C9* и *CYP2C19* должны рассматриваться лишь совместно с вариантами других изоферментов.

### CYP2D6

Субстратами этого фермента выступают до четверти лекарственных препаратов, среди противоопухолевых средств наиболее важен тамоксифен (рис. 5). CYP2D6 катализирует реакцию окисления тамоксифена и N-дезметилтамоксифена в 4-м положении с образованием соответственно 4-гидрокситамоксифена и эндоксифена, которые по антиэстрогенной активности превосходят тамоксифен в 50 раз. CYP3A4 и 3A5, наряду с другими изоферментами, деметилируют тамоксифен и 4-гидрокситамоксифен. Интересно, что деметилирование эндоксифена дает норэндоксифен — ингибитор ароматазы, по активности близкий к летрозолу; впрочем, этот метаболит образуется в небольших количествах и его клиническое значение неясно.



Рисунок 5. Метаболизм тамоксифена [Del Re, 2012].

Описано более 80 полиморфизмов гена CYP2D6, наиболее распространенны и функционально значимы вариантные аллели *CYP2D6\*3* (2549delA со сдвигом рамки считывания), *\*4* (1846G>A с нарушением сплайсинга РНК), *\*5* (делеция всего гена), *\*6* (1707delT со сдвигом рамки), *\*10* (100C>T с заменой Pro34Ser и снижением активности фермента), *\*41* (2988G>A с нарушением сплайсинга). Встречается также дупликация нормального аллеля *CYP2D6\*1* (может быть до 13 копий), приводящая к повышению активности фермента. По сравнению с носителями двух нормальных аллелей при дупликации наблюдается примерно двукратное повышение уровня эндоксифена, а при наличии двух нефункциональных аллелей — четырехкратное снижение. До 60% европейцев имеют один нормальный и тот или иной вариантный аллель, но на активности фермента и результатах лечения это, по-видимому, сказывается незначительно. Однако 5—10% людей не имеют ни одного функционального аллеля, что чревато повышением риска рецидива рака молочной железы на фоне адъювантной терапии тамоксифеном.

В наиболее крупном исследовании Schroth et al., включившем 1325 больных с медианой времени наблюдения 9 лет, риск рецидива составил 14,9% у носительниц двух нормальных аллелей *CYP2D6*, 20,9% у гетерозигот и 29% у гомозигот по вариантным аллелям; смертность была соответственно 16,7%, 18% и 22,8%. Серия работ, изучавших корреляцию генотипа с эффективностью тамоксифена в крупных рандомизированных испытаниях (включая ATAC и BIG 1-98), привела к неоднозначным результатам — во многом из-за неполного охвата больных, использования опухолевой ДНК вместо лейкоцитарной, а также генотипированию лишь по некоторым полиморфизмам. Кроме того, следует учитывать действие ингибиторов CYP2D6, в первую очередь антидепрессантов флуоксетина и пароксетина, которые нередко прописывают таким больным.

### Дигидропиримидиндегидрогеназа

Этот фермент участвует в катаболизме пиримидиновых оснований, а также инактивирует более 80% фторурацила. У 3—5% европейцев активность фермента снижена, у 0,1—0,2% он полностью отсутствует. До 50% случаев связано с полиморфизмом IVS14+1G>A (аллель *DPYD\*2A*): он заключается в замене одного нуклеотида, из-за чего нарушается сплайсинг мРНК, выпадает один экзон, и образующийся укороченный белок быстро разрушается. Этот полиморфизм встречается у 1—2% европейцев, с ним связывают около 25% случаев тяжелой непереносимости фторурацила. Примерно так же распространен полиморфизм 2846A>T (с заменой Asp949Val), вызывающий резкое снижение активности фермента.

### Альдегиддегидрогеназа

Альдегиддегидрогеназа играет важную роль в инактивации метаболитов циклофосфамида и ифосфамида, в том числе токсичного акролеина (см. выше и рис. 4). Аллели *ALDH1A1\*2* и *ALDH3A1\*2*, кодирующие менее активные ферменты, не были сопряжены с изменениями фармакокинетики циклофосфамида, однако у их носителей наблюдался повышенный риск геморрагического цистита и гепатотоксичности.

### Цитидиндезаминаза

Цитидиндезаминаза инактивирует гемцитабин и цитарабин. Описаны 2 полиморфизма гена *CDA*: 79A>C (Lys27Gln) и 208G>A (Ala70Thr), причем последний был найден лишь у японцев и корейцев. Сообщалось об уменьшении активности фермента, кодируемого вариантными аллелями, но недавние эксперименты in vitro указывают на сниженную активность только для полиморфизма 208G>A, причем в отношении цитарабина, но не гемцитабина. Неудивительно, что данные о клиническом значении этих полиморфизмов также противоречивы; так или иначе, едва ли целесообразно рассматривать их в отрыве от активности многочисленных ферментов, участвующих в анаболизма гемцитабина, а также его мишеней (таких, как RRM1).

## Ферменты II фазы метаболизма

## Реакции II фазы детоксикации заключаются в соединении естественных метаболитов и ксенобиотиков с глутатионом, глюкуроновой кислотой, ацетильными, сульфатными и метильными группами. Обычно образующиеся конъюгаты далее выводятся из клеток белками-переносчиками — в межклеточное пространство, желчь или мочу.

### Глутатион-S-трансферазы

Эти ферменты участвуют в инактивации препаратов платины, алкилирующих средств и антрациклинов. Выделяют 3 класса глутатион-S-трансфераз: цитозольные, митохондриальные и микросомальные; последние два не играют значимой роли в метаболизме цитостатиков. Цитозольные ферменты насчитывают 16 изоформ, объединенных в 6 семейств (, , ω, , θ и ), соответствующие гены обозначают *GSTA1*—*A5*, *GSTM1*—*M5*, *GSTO1* и *O2*, *GSTP1*, *GSTT1* и *T2*, *GSTZ1.*

Для гена *GSTA1* описано 3 распространенных полиморфизма в области промотора (–567T>G, –69C>T и –52G>A), снижающих экспрессию. До половины европейцев гомозиготны по делеции гена *GSTM1*, около 15% — по делеции гена *GSTT1*. Наиболее частые полиморфизмы гена *GSTP1* — 313A>G (замена Ile105Val) и 341C>T (Ala114Val). Аллель *GSTP1* 105Val достаточно распространен: его имеют около половины населения, причем 10—15% из них составляют гомозиготы, аллель 114Val более редок (соответственно 15% и 2—3%). Изменение структуры фермента снижает его сродство к большинству субстратов (алкилирующим средствам и антрациклинам), но в отношении препаратов платины картина обратная: в экспериментах *in vitro* инактивация этих цитостатиков ускорялась в 2—4 раза.

Аллель *GSTP1* 105Val улучшал результаты химиотерапии с использованием алкилирующих средств при раке молочной железы, лимфогранулематозе и миеломной болезни. В ряде работ аллель 105Val был сопряжен с улучшением прогноза у больных раком толстой кишки, получавших оксалиплатин. Однако эти исследования носили ретроспективный характер, и их результаты не нашли подтверждения в более крупных проспективных исследованиях. В других работах (при раке яичников и раке пищевода) аллель 105Val снижал выживаемость на фоне схем с цисплатином. Кроме того, у носителей аллеля 105Val, получавших цисплатин или оксалиплатин, отмечалось снижение риска нейро- и ототоксичности. В целом, накапливаются данные о повышении эффективности и усиление токсичности цитостатиков у больных с вариантными аллелями глутатион-S-трансфераз со сниженной активностью, хотя результаты и неоднозначны.

### Глюкуронилтрансферазы

Глюкуронилтрансферазы соединяют с глюкуроновой кислотой ряд эндогенных (прежде всего билирубин) и экзогенных субстратов. Существуют, по крайней мере, 17 изоформ, объединяемых в 2 семейства, UGT1 и UGT2. Ген *UGT1A* кодирует 9 изоформ подсемейства UGT1 — все они образуются за счет альтернативного сплайсинга. Наибольшее значение имеет изоформа UGT1A1, она отвечает за глюкуронирование билирубина. В гене *UGT1A* описано более 60 полиморфизмов, многие из которых лежат в основе синдрома Жильбера (легкая форма наследственной непрямой гипербилирубинемии).

К субстратам UGT1A1 относятся SN-38 (активный метаболит иринотекана), эпирубицин и этопозид. У носителей аллеля *UGT1A1\*28* [(TA)7 — увеличение с 6 до 7 числа повторов TA в области промотора со снижением экспрессии; изредка встречается 5 или 8 повторов], в особенности гомозигот, замедляется глюкуронирование SN-38 и возрастает риск тяжелой нейтропении и поноса. На фоне высоких доз иринотекана (300—350 мг/м2) риск этих осложнений у гомозигот по аллелю *UGT1A1\*28* возрастал в 5—10 раз. Впрочем, для более низких доз корреляция между генотипом и побочными действиями выражена слабо.

Исследования последних лет указывают на более сложную картину: в ряде работ фармакокинетика и токсичность иринотекана лучше коррелировали с другими аллелями (например, *UGT1A1\*60* и *UGT1A7\*3*), кроме того, по-видимому, имеют значение и другие гены, участвующие в метаболизме препарата и опосредующие его цитотоксичность.

Изофермент UGT2B15 участвует в конъюгации активных метаболитов тамоксифена. Описан полиморфизм 253G>T (замена Asp85Tyr, аллель *UGT2B15\*2*) с возможным влиянием на эффективность адъювантной гормонотерапии молочной железы, в особенности в сочетании с вариантным аллелем *SULT1A1* (см. ниже).

### Тиопуринметилтрансфераза

Этот фермент катализирует S-метилирование тиопуринов (меркаптопурина, тиогуанина и азатиоприна), предотвращая образование активных метаболитов — тиогуаниновых нуклеотидов. Ген *TPMT* имеет полиморфные аллели, при некоторых стабильность фермента резко снижается. Описано 8 аллелей этого гена; наибольшее значение среди них имеют *TPMT\*2* (238G>C с заменой Ala80Pro), *TPMT\*3A* [460G>A (Ala154Thr) и 719G>A (Tyr240Cys)] и *TPMT\*3C* (719G>A с заменой Tyr240Cys), причем у европейцев чаще встречается аллель *TPMT\*2*, у негров и азиатов — *TPMT\*3C*. Примерно у 10% людей активность фермента снижена, а у 0,3% (гомозигот по указанным аллелям) практически отсутствует.

У детей с острым лимфолейкозом, получавших химиотерапию, недостаточность тиопуринметилтрансферазы вызывала угрожающее жизни угнетение кроветворения; из-за этого для гомозигот по вариантным аллелям требовалось 10-кратное снижение доз, для гетерозигот — примерно 2-кратное. Возрастал также риск вторичных опухолей, в том числе глиом после профилактического облучения головного мозга. С другой стороны, наличие хотя бы одного из этих аллелей повышало эффективность лечения.

### Сульфотрансферазы

Значение этих ферментов для метаболизма противоопухолевых средств ограничено; наряду с глюкуронилтрансферазами они участвуют в конъюгации активных 4-гидроксиметаболитов тамоксифена. Полиморфизм *SULT1A1* 638G>A (Arg213His) ведет к снижению активности фермента, что, теоретически, должно повышать эффективность тамоксифена, однако клинические данные указывают на обратную корреляцию. Очевидно, вопрос требует дальнейшего изучения.

**Белки-мишени противоопухолевых препаратов**

Перечень ферментов, рецепторных, регуляторных и структурных белков, чьи гены содержат полиморфизмы с потенциальным влияние на фармакодинамику противоопухолевых средств, весьма протяжен и неоднороден. Чтобы излишне не запутывать картину, остановимся лишь на белках репарации ДНК, данные фармакогенетике которых способны иметь значение для эффективности многих цитостатиков, прежде всего препаратов платины и алкилирующих средств.

### Системы репарации ДНК

Судьба клетки, подвергшейся действию цитостатиков, решающим образом зависит от ее способности устранить возникшие повреждения ДНК. Выделяют 4 основных системы репарации ДНК — эксцизионную репарацию нуклеотидов, эксцизионную репарацию оснований, репарацию неспаренных нуклеотидов и репарацию двойных разрывов.

Эксцизионная репарация нуклеотидов заключается в удалении фрагмента ДНК длиной 25—30 нуклеотидов, включая поврежденный участок. В репарации участвует около 30 белков, но скорость всего процесса ограничена активностью двух ферментов: хеликазы XPD (Xeroderma pigmentosum D, другое название — ERCC2), которая «расплетает» молекулу ДНК, освобождая доступ к дефектному участку другим белкам репарации, и эндонуклеазы XPF (Xeroderma pigmentosum F), которая отщепляет подлежащий удалению фрагмент ДНК. Эндонуклеаза должна находиться в комплексе со стабилизирующим ее белком ERCC1 (Excision repair cross-complementing 1).

Эксцизионная репарация оснований состоит в удалении дефектного азотистого основания (например, связанного с цисплатином аденина или гуанина). Этот механизм репарации не подходит для удаления сшивки между двумя нуклеотидами. Координацию работы многочисленных ферментов, участвующих в репарации, осуществляет белок XRCC1 (X-ray cross-complementing 1).

При репарации неспаренных нуклеотидов белки MSH2 и MSH6 распознают комплексы цитостатика (например, цисплатина) с ДНК и запускают механизм репарации, однако он работает вхолостую и, не будучи способен восстановить нормальную структуру ДНК, лишь ускоряет апоптоз. Более того, снижение активности этой системы репарации может вызывать резистентность к химиотерапии. Возможно, белки MSH2 и MSH6 «экранируют» поврежденный участок ДНК, препятствуя его устранению более эффективными системами репарации, в частности, путем эксцизионной репарации нуклеотидов.

Двойные разрывы возникают при столкновении репликационной вилки со сшивкой между двумя цепями ДНК, а также в процессе репарации таких сшивок. Эти повреждения активируют белки ATM (Ataxia-Telangiectasia Mutated) и ATR (ATM and Rad3-related), которые запускают репарацию, а также фосфорилируют и стабилизируют белок p53. Устранение разрывов включает два механизма — простое соединение концевых фрагментов ДНК (обычно это ведет к потере нескольких нуклеотидов, т. е. мутации) и гомологичную рекомбинацию с участием неповрежденной молекулы ДНК. Описанные выше белки XPF и ERCC1 участвуют также в гомологичной рекомбинации. Среди многочисленных генов, участвующих в репарации двойных разрывов, особое внимание уделяют *BRCA1* и *BRCA2*, мутации которых сопряжены с семейным раком молочной железы и сопровождаются повышенной чувствительностью к препаратам платины.

### ERCC1, XPD, XRCC1

Описано 2 полиморфизма гена *ERCC1*: 8092C>A (замена нуклеотида в 3′-нетранслируемой области гена) и 19007T>C (синонимичная замена Asn118Asn). Вариантные аллели не меняют аминокислотную последовательность белка, но могут влиять на экспрессию гена и, соответственно, устойчивость опухоли к цитостатикам. В эксперименте на клеточных линиях рака яичников аллель *ERCC1* 118T был сопряжен с уменьшенным количеством мРНК и трехкратным снижением способности к репарации вызываемых цисплатином повреждений ДНК, хотя другая работа этого не подтвердила. Полиморфизмы *XPD* 934G>A (Asp312Asn) и 2251A>C (Lys751Gln), а также *XRCC1* 1196G>A (Arg399Gln) влияют на строение и, по-видимому, активность соответствующих белков. Хотя можно было бы ожидать повышения эффективности химиотерапии у больных, имеющих вариантные аллели генов репарации ДНК, многие работы указывают на отсутствие статистически значимых корреляций или даже на обратную зависимость.

## Заключение

На сегодняшний день фармакогенетическое тестирование достаточно широко проводится для трех цитостатиков: меркаптопурина (полиморфизм гена тиопуринметилтрансферазы), иринотекана (полиморфизм гена глюкуронилтрансферазы) и фторурацила и его аналогов (полиморфизм гена дигидропиримидиндегидрогеназы). Оно позволяет предсказать многие случаи непереносимости лечения (или хотя бы объяснить их post factum) и в некоторых клиниках вошло в стандарты обследования перед назначением химиотерапии.

Программа дальнейших исследований должна включать комплексный анализ сотен полиморфизмов, влияющих на разнообразные аспекты фармакокинетики и фармакодинамики цитостатиков. Развитие современной онкогенетики логически ведет к секвенированию всего генома каждого больного и его опухоли, причем как первичной, так и метастазов. Таким путем могут быть собраны данные о полиморфизмах, предрасполагающих к резистентности, в контексте клональной эволюции опухоли. Далее результаты необходимо проверить в рандомизированных испытаниях, где одна группа больных будет получать стандартную химиотерапию, а в другой выбор схемы будет зависеть от данных генетического анализа. Лишь увеличение выживаемости или улучшение переносимости лечения в экспериментальной группе будет подтверждением клинической значимости метода.

## Литература

1. Baker JA, Wickremsinhe E, Li CH, et al. Pharmacogenomics of gemcitabine metabolism: functional analysis of genetic variants in cytidine deaminase and deoxycytidine kinase. *Drug Metab Dispos* **2013**; 41: 541-5.
2. Besse B, Olaussen KA, Soria JC. ERCC1 and RRM1: Ready for Prime Time? *J Clin Oncol* **2013** (in press).
3. Bohanes P, Labonte MJ, Lenz HJ. A review of excision repair cross-complementation group 1 in colorectal cancer. *Clin Colorectal Cancer* **2011**; 10: 157-64.
4. Brauch H, Schroth W, Goetz MP, et al. Tamoxifen use in postmenopausal breast cancer: CYP2D6 matters. *J Clin Oncol* **2013**; 31: 176-80.
5. Bray J, Sludden J, Griffin MJ, et al. Influence of pharmacogenetics on response and toxicity in breast cancer patients treated with doxorubicin and cyclophosphamide.*Br J Cancer* **2010**; 102: 1003-9.
6. Burger H, Loos WJ, Eechoute K, Verweij J, Mathijssen RH, Wiemer EA. Drug transporters of platinum-based anticancer agents and their clinical significance. *Drug Resist Updat* **2011**; 14: 22-34.
7. Ciarimboli G, Lancaster CS, Schlatter E, et al. Proximal Tubular Secretion of Creatinine by Organic Cation Transporter OCT2 in Cancer Patients. *Clin Cancer Res* **2012**; 18: 1101-8.
8. Diaz-Padilla I, Amir E, Marsh S, Liu G, Mackay H. Genetic polymorphisms as predictive and prognostic biomarkers in gynecological cancers: a systematic review. *Gynecol Oncol* **2012**; 124: 354-65.
9. Ezzeldin HH, Diasio RB. Predicting fluorouracil toxicity: can we finally do it? *J Clin Oncol* **2008**; 26: 2080-2.
10. Fleming ND, Agadjanian H, Nassanian H, et al. Xeroderma pigmentosum complementation group C single-nucleotide polymorphisms in the nucleotide excision repair pathway correlate with prolonged progression-free survival in advanced ovarian cancer. *Cancer* **2012**; 118: 689-97.
11. Fujiwara Y, Minami H. An overview of the recent progress in irinotecan pharmacogenetics. *Pharmacogenomics* **2010**; 11: 391-406.
12. Gervasini G, Vagace JM. Impact of genetic polymorphisms on chemotherapy toxicity in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Front Genet* **2012**; 3: 249.
13. Howell SB, Safaei R, Larson CA, Sailor MJ. Copper transporters and the cellular pharmacology of the platinum-containing cancer drugs. *Mol Pharmacol* **2010**; 77: 887-94.
14. Ishimoto TM, Ali-Osman F. Allelic variants of the human glutathione S-transferase P1 gene confer differential cytoprotection against anticancer agents in *E. coli*. *Pharmacogenetics* **2002**: 12: 543–53.
15. Kelland L. The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. Nature Rev Cancer **2007**; 7: 573–584.
16. Khrunin AV, Moisseev A, Gorbunova V, Limborska S. Genetic polymorphisms and the efficacy and toxicity of cisplatin-based chemotherapy in ovarian cancer patients. *Pharmacogenomics J* **2010**; 10: 54-61.
17. Köberle B, Tomicic MT, Usanova S, Kaina B. Cisplatin resistance: preclinical findings and clinical implications. *Biochim Biophys Acta* **2010**; 1806: 172-82.
18. Mandery K, Glaeser H, Fromm MF. Interaction of innovative small molecule drugs used for cancer therapy with drug transporters. *Br J Pharmacol* **2012**; 165:345–362.
19. Marsh S, Paul J, King CR, et al. Pharmacogenetic assessment of toxicity and outcome after platinum plus taxane chemotherapy in ovarian cancer: the Scottish Randomised Trial in Ovarian Cancer. *J Clin Oncol* **2007**; 25: 4528-35.
20. McLeod HL, et al. Pharmacogenetic predictors of adverse events and response to chemotherapy in metastatic colorectal cancer: results from North American Gastrointestinal Intergroup Trial N9741. *J Clin Oncol* **2010**; 28: 3227-33.
21. Niemi M, Pasanen MK, Neuvonen PJ. Organic anion transporting polypeptide 1B1: a genetically polymorphic transporter of major importance for hepatic drug uptake. *Pharmacol Rev* **2011**; 63: 157-81.
22. Raccor BS, Claessens AJ, Dinh JC, et al. Potential contribution of cytochrome P450 2B6 to hepatic 4-hydroxycyclophosphamide formation in vitro and in vivo. *Drug Metab Dispos* **2012**; 40: 54-63.
23. Relling MV, Giacomini KM. Pharmacogenetics. In: Goodman & Gilman’s The Pharmacologic Basis of Therapeutics, 12th ed. McGraw-Hill, **2011**: 145-68.
24. Schroth W, Goetz MP, Hamann U et al. Association between CYP2D6 polymorphisms and outcomes among women with early stage breast cancer treated with tamoxifen. *JAMA* **2009**; 302: 1429–36.
25. Todd RC, Lippard SJ. Inhibition of transcription by platinum antitumor compounds. *Metallomics* **2009**; 1: 280-91.
26. Turpeinen M, Zanger UM. Cytochrome P450 2B6: function, genetics, and clinical relevance. *Drug Metabol Drug Interact* **2012**; 27: 185-97.
27. Wang L, McLeod HL, Weinshilboum RM. Genomics and drug response. *N Engl J Med* **2011**; 364: 1144-53.
28. Yao S, Barlow WE, Albain KS, et al. Gene polymorphisms in cyclophosphamide metabolism pathway, treatment-related toxicity, and disease-free survival in SWOG 8897 clinical trial for breast cancer. *Clin Cancer Res* **2010**; 16: 6169-76.
29. Yonezawa A, Inui K. Organic cation transporter OCT/SLC22A and H(+)/organic cation antiporter MATE/SLC47A are key molecules for nephrotoxicity of platinum agents. *Biochem Pharmacol* **2011**; 81: 563-8.
30. Del Re M, Michelucci A, Simi P, Danesi R. Pharmacogenetics of anti-estrogen treatment of breast cancer. *Cancer Treat Rev* **2012**; 38: 442-50.