

**ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРЕДИКТОРЫ ЭФФЕКТИВНОСТИ И БЕЗОПАСНОСТИ ТЕОФИЛЛИНА ПРИ ЛЕЧЕНИИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ У ДЕТЕЙ**

*Бэла Исмаиловна Кантемирова<sup>1</sup>\*, Алексей Константинович Стародубцев<sup>2</sup>,  
Дмитрий Алексеевич Сычёв<sup>2</sup>, Владимир Иванович Григанов<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Астраханская государственная медицинская академия,*

*<sup>2</sup>Первый московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова*

**Реферат**

**Цель.** Изучение популяционной частоты генотипов CYP1A2 по полиморфному маркеру C734A у детей разных этнических групп, оценка фенотипической активности изофермента CYP3A4 в зависимости от возраста и пола для дальнейшей разработки мероприятий по повышению безопасности фармакотерапии метилксантинами у детей с бронхиальной астмой.

**Методы.** В исследование вошли 250 здоровых детей в возрасте от 1 года до 18 лет, принадлежащих к различным этническим группам: русские, калмыки, ингуши, чеченцы, татары. В каждую этническую группу были отобраны по 50 человек. Вариант гена изофермента CYP1A2 (по полиморфному маркеру C734A) определяли методом полимеразной цепной реакции. Активность изофермента CYP3A4 цитохрома P 450 печени оценивали путём вычисления отношения количества 6-β-гидроксикортизола к кортизолу мочи. Содержание кортизола и его метаболита 6-β-гидроксикортизола в моче определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

**Результаты.** Впервые у детей пяти различных национальностей, проживающих на территории Астраханского региона, выявлена высокая частота генотипов CYP1A2, ассоциированных как с медленным, так и с быстрым типом метаболизма лекарственных средств-субстратов CYP1A2, что свидетельствует о важности индивидуального изучения полиморфизма этого гена. Показаны возрастные и гендерные особенности фенотипической активности изофермента CYP3A4, что необходимо учитывать при выборе наиболее эффективного и безопасного дозового режима метилксантинов.

**Вывод.** Перед началом длительной фармакотерапии бронхиальной астмы с применением теофиллина для повышения безопасности лечения целесообразно исследовать полиморфизм гена CYP1A2 и фенотипическую активность изофермента CYP3A4.

**Ключевые слова:** биотрансформация, дети, цитохром P 450, бронхиальная астма, этническая фармакогенетика, генетический полиморфизм.

**GENETIC PREDICTORS OF THEOPHYLLINE EFFICACY AND SAFETY IN CHILDREN WITH BRONCHIAL ASTHMA** *B.I. Kantemirova<sup>1</sup>, A.K. Starodubtsev<sup>2</sup>, D.A. Sychev<sup>2</sup>, V.I. Griganov<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia, <sup>2</sup>First Moscow State Medical University named after I.M. Sechenov, Moscow, Russia.* **Aim.** To study the prevalence of C734A polymorphic marker of CYP1A2 genotype in population of children of different ethnical groups, and to estimate the phenotypic activity of CYP3A4 isoenzyme by age and gender for further increasing the theophylline treatment safety in children with bronchial asthma. **Methods.** 250 healthy children aged from 1 to 10 years from different ethnical groups (Russians, Kalmyks, Ingush, Chechens, Tatars). Each ethnical group consisted of 50 children. CYP1A2 isoenzyme genotype (by C734A polymorphic marker) was detected by polymerase chain reaction. CYP3A4 isoenzyme of liver cytochrome P 450 activity was measured by calculating urine 6-β-hydrocortisone level to urine cortisol level ratio. Urine 6-β-hydrocortisone and cortisol levels were measured by high precision Liquid chromatography-mass spectrometry. **Results.** It is the first time when high prevalence of CYP1A2 genotype was reported in children of 5 different nationalities living in Astrakhan region, associated both with slow and rapid CYP1A2 substrate drug metabolism, showing the importance of further individual studies on CYP1A2 genotype polymorphism. Age and gender-related features of CYP3A4 isoenzyme phenotype activity, that should be taken into account while choosing the most effective and safe methylxanthines dosing, were revealed. **Conclusion.** Before the long-term drug therapy of bronchial asthma using theophylline it is rational to investigate CYP1A2 gene polymorphism and CYP3A4 isoenzyme phenotype activity to increase treatment safety. **Keywords:** biotransformation, children, cytochrome P 450, bronchial asthma, ethnical pharmacogenetics, gene polymorphism.

Лечение бронхиальной астмы остаётся одной из наиболее актуальных проблем педиатрии. По данным эпидемиологических исследований последних лет, этим заболеванием страдают от 5 до 10% детей [3, 5]. Несмотря на произошедшие за последние годы существенные изменения и дополнения нормативных документов, вопросы мониторинга эффективности и безопасности фармакотерапии бронхиальной астмы, профилактики побочных эффектов применяемых лекарственных

средств на сегодняшний день, на наш взгляд, освещены недостаточно.

Длительная базисная фармакотерапия бронхиальной астмы и лечение, направленное на купирование развившихся симптомов бронхообструкции, предполагает использование препаратов с узким коридором безопасности, таких как теофиллин. Пролонгированные препараты теофиллина применяют в комплексе противовоспалительной терапии для предупреждения приступов, особенно ночных. В ступенчатой терапии бронхиальной астмы их рассматривают как дополнение к ингаляционным

глюкокортикоидам при среднетяжёлом и тяжёлом течении заболевания, при их недостаточной эффективности [3]. Короткодействующие препараты продолжают использовать в целях купирования симптомов бронхиальной астмы у больных с тяжёлыми формами, а также резистентных к терапии  $\beta_2$ -агонистами [3, 11, 12].

Метилксантин метаболизируется при участии изоферментов CYP1A2 и CYP3A4 цитохрома P 450 печени [2, 6]. Показано, что клиренс теофиллина достоверно меньше у носителей аллельного варианта G2964A CYP1A2, с генотипами GA или AA, ассоциированными с медленной скоростью метаболизма лекарственных средств-субстратов [6, 10]. Доказано влияние полиморфизма гена CYP1A2 на метаболизм теофиллина и формирование хронической обструктивной болезни лёгких [13, 14]. Существуют работы по изучению полиморфизма гена CYP1A2 в популяции в зависимости от этнической принадлежности [1, 4, 7-9].

В доступной литературе сведений, касающихся широкого освещения вопросов популяционного изучения полиморфизма CYP1A2 у детей различных этнических групп в Российской Федерации (РФ), мы не встретили. Недостаточно изучена фенотипическая активность изофермента CYP3A4 в зависимости от возраста и пола ребёнка.

На наш взгляд, изучение особенностей распределения полиморфных генотипов CYP1A2 у детей различных этнических групп в совокупности с изучением фенотипической активности CYP3A4 в зависимости от возраста и пола может в дальнейшем позволить оптимизировать фармакотерапию бронхиальной астмы, уменьшить количество побочных эффектов и перевести фармакотерапию астмы метилксантинами (теофиллинами) в разряд управляемых и предсказуемых процессов.

Цель исследования — изучить популяционную частоту генотипов CYP1A2 по полиморфному маркеру C734A у детей разных этнических групп, оценить фенотипическую активность изофермента CYP3A4 в зависимости от возраста и пола для дальнейшей разработки мероприятий по повышению безопасности фармакотерапии препаратами теофиллина у детей с бронхиальной астмой.

Работа выполнена в рамках реализации гранта Президента РФ по государственной поддержке молодых учёных-кандидатов наук за проект «Разработка алгоритмов пер-

сонализированной фармакотерапии в педиатрии на примере Астраханского региона» (МК-1767.2011.7).

Исследование осуществлялось в два этапа. На первом этапе изучали популяционную частоту полиморфных генотипов CYP1A2, предполагающих различную скорость метаболизма лекарственных средств-субстратов изофермента CYP1A2. На втором этапе оценивали фенотипическую активность изофермента CYP3A4 в зависимости от возраста и пола ребёнка.

В генотипическое исследование вошли 250 здоровых детей в возрасте от 1 года до 18 лет, принадлежащих к различным этническим группам: русские, калмыки, ингуши, чеченцы, татары. В каждую этническую группу были отобраны по 50 человек. Обследование проводили после ознакомления испытуемых с целями и задачами исследования, при добровольном согласии. Исследование одобрено Этическим комитетом ГБОУ ВПО Астраханской государственной медицинской академии Минздрава России (протокол №10 от 12.11.2010). При формировании этнических групп в исследование не вошли лица, рождённые от смешанных браков, и близкие родственники в пределах одной семьи (братья и сёстры). В качестве биологического материала использовали цельную кровь, полученную из кубитальной вены. Определение полиморфизма CYP1A2 осуществляли методом полимеразной цепной реакции, предварительно выделив дезоксирибонуклеиновую кислоту из образцов крови, в лаборатории научно-исследовательского института акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта Северо-Западного отделения РАМН (Санкт-Петербург).

Статистическую обработку результатов осуществляли методами непараметрической статистики с использованием программы GraphPad. Для изучения распределения частот полиморфизма CYP1A2 использовали критерий  $\chi^2$  (уравнение Пирсона с поправкой Йетса) и метод Фишера. Для изучения равновесного распределения частот генотипов CYP1A2 в исследуемых этнических группах применяли формулу Харди-Вайнберга. Соответствие уравнению Харди-Вайнберга считали достоверным при  $p > 0,05$ .

Оценку активности изофермента CYP3A4 цитохрома P 450 печени осуществляли путём вычисления отношения количества 6- $\beta$ -гидроксикортизола к кортизолу

**Частоты генотипов CYP1A2 (по полиморфному маркёру C734A) у детей различных этнических групп**

Изофермент цитохрома P 450	Генотипы	Этнические группы				
		Русские (n=50)	Татары (n=50)	Калмыки (n=50)	Чеченцы (n=50)	Ингуши (n=50)
CYP1A2 (по полиморфному маркёру C734A)	CC	18 (36%)	24 (49%)	26 (51%)	21 (42%)	26 (52%)
	CA+AA	32 (64%)	26 (51%)	24 (49%)	29 (58%)	24 (48%)

мочи. Содержание кортизола и его метаболита 6-β-гидроксикортизола в моче определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии у 50 соматически здоровых детей, отобранных методом случайной выборки из 250 участников исследования. Возраст отобранных детей составлял от 1 года до 17 лет, среди них 19 девочек и 31 мальчик. Статистическую обработку результатов осуществляли методами параметрической статистики с определением критерия Стьюдента. Различия считали репрезентативными при  $p < 0,05$ .

ка по формированию нежелательных побочных эффектов теофиллинов, связанных с замедленной биотрансформацией и кумуляцией препаратов. Разница в частотах распределения генотипов, ассоциированных как с быстрым, так и с медленным метаболизмом лекарственных средств-субстратов изофермента CYP1A2, во всех изучаемых этнических группах оказалась статистически недостоверной, что свидетельствует о целесообразности индивидуального генотипирования при длительной базисной фармакотерапии бронхиальной астмы пролон-

Таблица 2

**Содержание кортизола, 6-β-гидроксикортизола и соотношение 6-β-гидроксикортизол/кортизол в моче у детей в различные возрастные периоды**

Показатели	Возрастные периоды, годы		
	1-3 (n=18)	4-9 (n=21)	10-17 (n=11)
6-β-Гидроксикортизол, мкг/мл	161,58±19,51	165,53±31,91	172,28±29,57
Кортизол, мкг/мл	31,18±2,73	29,18±3,99	25,17±3,98
6-β-Гидроксикортизол/кортизол	5,67±0,59	9,27±0,63*	5,87±1,25**

Примечание: \* $p < 0,001$  по сравнению с группой 1-3 лет; \*\* $p < 0,05$  по сравнению с группой 4-9 лет.

При изучении равновесного распределения частот изучаемых генотипов по полиморфному маркёру было установлено, что группа исследования (n=250) соответствует равновесию Харди-Вайнберга ( $p > 0,05$ ). Это позволяет сделать вывод о репрезентативности выборки и достоверности полученных результатов.

При изучении частот распределения генотипов CYP1A2 по полиморфному маркёру C734A (табл. 1) была выявлена высокая частота генотипов CA и AA, предполагающих медленный метаболизм лекарственных средств-субстратов изофермента CYP1A2 во всех изучаемых этнических группах (от 48 до 64%). С наибольшей частотой генотипы, ассоциированные с медленным метаболизмом, присутствовали у детей русской и чеченской национальностей – 64 и 58% соответственно. Следовательно, практически каждый второй ребенок, по результатам нашего исследования, находится в группе рис-

гированными метилксантинами.

При изучении фенотипической активности CYP3A4 нами выявлены следующие особенности. Наименьшая активность по соотношению 6-β-гидроксикортизол/кортизол мочи обнаружена в группе детей от 1 года до 3 лет (5,67±0,59), что свидетельствует о необходимости осторожного назначения теофиллина в данной возрастной группе. В дальнейшем отмечено увеличение данного показателя в группе детей от 4 до 9 лет до 9,27±0,63 ( $p < 0,001$  по сравнению с детьми от 1-3 лет). В старшей возрастной группе от 10 до 17 лет данный показатель был ниже, чем у детей 4-9 лет (5,87±1,25,  $p < 0,05$ ), что, по-видимому, можно объяснить различной фенотипической активностью CYP3A4 в различные возрастные периоды. Можно предположить, что наиболее «безопасен» в плане метаболизма теофиллинов период от 4 до 9 лет, когда активность изофермента CYP3A4 максимальна (табл. 2).

Содержание кортизола, 6-β-гидрокортизола и соотношение 6-β-гидрокортизол/кортизол мочи у детей в различные возрастные периоды в зависимости от пола ребёнка

Показатели	Возрастные периоды, годы		
	1-3	4-9	10-17
Девочки			
6-β-Гидрокортизол, мкг/мл	156,15±31,49 (n=9)	191,7±26,21 (n=10)	163,98±29,39 (n=6)
Кортизол, мкг/мл	31,48±1,87 (n=9)	22,89±5,89 (n=10)	20,17±3,82 (n=6)
6-β-Гидрокортизол/кортизол	4,97±0,84	10,24±2,17*	9,97±3,24
Мальчики			
6-β-Гидрокортизол, мкг/мл	163,06±23,41 (n=9)	152,97±27,22 (n=11)	178,27±23,49 (n=5)
Кортизол, мкг/мл	26,12±4,08 (n=9)	26,49±3,45 (n=11)	29,56±3,41 (n=5)
6-β-Гидрокортизол/кортизол	6,58±0,70	6,22±1,36	5,87±1,19

Примечание: \* $p < 0,05$  по сравнению с группой девочек 1-3 лет.

При сравнении показателей активности СУРЗА4 в зависимости от пола в каждой возрастной группе (табл. 3) оказалось, что наименьшая активность изофермента СУРЗА4 выявлена у девочек в возрасте 1-3 лет, соотношение 6-β-гидрокортизол/кортизол составило 4,97±0,84. В возрастном периоде от 4 до 9 лет данный показатель был максимальным и составлял 10,24±2,17 (разница статистически достоверна,  $p < 0,05$ ). В возрасте от 10 до 17 лет показатель фенотипической активности изофермента СУРЗА4 у девочек составлял 9,97±3,24. Следовательно, наиболее уязвимы в плане возникновения нежелательных побочных реакций, по данным нашего исследования, девочки в возрасте 1-3 лет.

Активность СУРЗА4 у мальчиков в зависимости от возраста менялась противоположно смене активности СУРЗА4 у девочек. Максимальная активность в нашем исследовании была выявлена в возрасте 1-3 лет с дальнейшим некоторым уменьшением к 4-9 годам. В возрасте 10-17 лет активность СУРЗА4 у детей мужского пола практически не менялась (см. табл. 3).

## ВЫВОДЫ

1. Результаты проведённого нами исследования свидетельствуют о высокой частоте в популяции детей различных этнических групп, проживающих на территории Астраханского региона, генотипов, предполагающих медленный метаболизм лекарственных средств-субстратов СУР1А2, в том числе и теофиллина.

2. Практически каждый второй ребенок может иметь генотип, ассоциированный с медленной скоростью биотрансформации лекарственных средств-субстратов СУР1А2, что, по-видимому, свидетельствует о важности генотипирования СУР1А2 детей, больных бронхиальной астмой, рефрактерных к лечению β-миметиками короткого и пролонгированного действия и нуждающихся в терапии теофиллинами, для повышения безопасности фармакотерапии и профилактики нежелательных побочных эффектов.

3. Изучение фенотипической активности СУРЗА4 в зависимости от пола и возраста показало наличие статистически достоверной вариабельности активности изофермента, что также необходимо учитывать при формировании дозового режима назначения препаратов с узким диапазоном безопасности.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Ахмадишина Л.З., Корытина Г.Ф., Кочетова О.В. Полиморфизм генов семейства цитохрома Р 450 СУР1А1, СУР1А2, СУР2Е1 и риск развития профессионального хронического бронхита // Мед. генетика. — 2007. — Т. 6, №7. — С. 32-37.
2. Кулес В.Г. Метаболизм лекарственных средств: клинико-фармакологические аспекты. — М.: Реафарм, 2004. — 144 с.
3. Национальная программа «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика». 3-е изд., испр. и доп. — М.: Атмосфера, 2008. — 108 с.
4. Остапцев А.В., Шабалдин А.В., Шерина Е.А. и др. Полиморфизм гена СУР1А2 у телеутов Кемеровской области // Успехи соврем. естествозн. — 2006. — №2. — С. 69-70.
5. Петров В.И., Смоленов И.В. Современная фармакотерапия бронхиальной астмы: мифы и реалии // Новые лекарства и новости фармакотерапии. — 1999. — №3. — С. 15-23.

6. Сычёв Д.А., Раменская Г.В., Игнатъев И.В. и др. Клиническая фармакогенетика. Учебное пособие / Под ред. В.Г. Кукеса, Н.П. Бочкова. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. — 248 с.

7. Bilgen T., Tosun O., Luleci G. et al. Frequencies of four genetic polymorphisms in the CYP1A2 gene in Turkish population // *Genetika*. — 2008. — N 8. — P. 1133-1136.

8. Djordjevic N., Ghotbi R., Jankovic S. et al. Induction of CYP1A2 by heavy coffee consumption is associated with the CYP1A2-163C>A // *Eur. J. Clin. Pharmacol.* — 2010. — N 7. — P. 697-703.

9. Lim J.S., Singh O., Ramasamy R.D. et al. Pharmacogenetics of CYP1A2, novel polymorphisms and haplotypes in three distinct Asian populations // *Drug Metab. Pharmacokinet.* — 2010. — N 6. — P. 616-623.

10. Obase Y., Shimoda T., Kawano T. et al. Polymorphisms

in the CYP1A2 gene and theophylline metabolism in patients with asthma // *Clin. Pharmacol. Ther.* — 2003. — Vol. 73, N 5. — P. 468-474.

11. Rooklin A. Theophylline: is it obsolete for asthma // *J. Pediatrics*. — 1989. — Vol. 5, N 2. — P. 841-845.

12. Stoloff S. The changing role of theophylline in pediatric asthma // *Am. Fam. Physic.* — 1994. — Vol. 49, N. 4. — P. 839-844.

13. Uslu A., Ogun C., Ozdemir T. et al. The effect of CYP1A2 gene polymorphisms on Theophylline metabolism and chronic obstructive pulmonary disease in Turkish patients // *BMB Rep.* — 2010. — Vol. 8. — P. 530-534.

14. Vibhuti A., Arif E., Mishra A. et al. CYP1A1, CYP1A2 and CYBA gene polymorphisms associated with oxidative stress in COPD // *Clin. Chim. Acta.* — 2010. — Vol. 2. — P. 474-480.

УДК 616.12-009.72: 616.132.2-007.271-073.75-073.755.4-072.1-072.2: 616.153.915: 616.15-07-002

T 16

## ПРОСПЕКТИВНЫЙ АНАЛИЗ ПАРАМЕТРОВ ЛИПИДНОГО ПРОФИЛЯ, МАРКЁРОВ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ И ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ЭНДОТЕЛИЯ У БОЛЬНЫХ СТАБИЛЬНОЙ СТЕНОКАРДИЕЙ НАПРЯЖЕНИЯ ПОСЛЕ ВЫПОЛНЕНИЯ ЧРЕСКОЖНОГО КОРОНАРНОГО ВМЕШАТЕЛЬСТВА

Татьяна Ивановна Петелина\*, Наталья Алексеевна Мусихина, Людмила Ивановна Гапон, Наталья Владимировна Дементьева

Тюменский кардиологический центр

### Реферат

**Цель.** Провести проспективный анализ биохимических лабораторных параметров в группе больных со стабильной стенокардией напряжения и гемодинамически значимым коронарным стенозом до выполнения транслюминальной баллонной ангиопластики и через 12 мес после неё.

**Методы.** Обследованы 40 пациентов (мужского и женского пола) в возрасте 57,3±9,6 лет со стабильной стенокардией напряжения. Согласно данным селективной коронарной ангиографии, выделены группы пациентов с отсутствием (первая группа, 14 человек) и наличием (вторая группа, 26 человек) гемодинамически значимого коронарного стеноза. В группе с гемодинамически значимым стенозом пациентам проведена транслюминальная баллонная коронарная ангиопластика со стентированием (стенды с лекарственным покрытием). Спектр биохимических лабораторных исследований включал определение параметров липидного профиля крови, биохимических маркёров воспаления и показателей функциональной активности эндотелия. Лабораторные показатели оценивали в динамике: перед оперативным вмешательством и через 12 мес после него.

**Результаты.** В группе с гемодинамически значимым стенозом выявлены достоверные взаимосвязи коронарного стеноза с атерогенными фракциями липидов, воспалительными маркёрами (высокочувствительным С-реактивным белком и фактором некроза опухоли альфа) и параметром дисфункции эндотелия (эндотелином-1). В отдалённом периоде после транслюминальной баллонной ангиопластики со стентированием отмечены достоверное снижение показателей атерогенности и увеличение антиатерогенности в липидном спектре, выявлена пролонгированная активация воспалительной системы, индикатором которой служил высокочувствительный С-реактивный белок, а также сохранение дезорганизации эндотелиновой системы.

**Вывод.** Увеличение концентрации высокочувствительного С-реактивного белка при сохранении повышенного содержания эндотелина-1 свидетельствует о сохраняющемся высоком риске поздних тромбозов стента, что необходимо учитывать при динамическом наблюдении за пациентами в отдалённые сроки после оперативного вмешательства.

**Ключевые слова:** стабильная стенокардия напряжения, гемодинамически значимый коронарный стеноз, транслюминальная баллонная ангиопластика, воспалительные маркёры.

**PROSPECTIVE ANALYSIS OF LIPID PROFILE PARAMETERS, INFLAMMATORY RESPONSE AND ENDOTHELIAL FUNCTION MARKERS BEFORE AND AFTER PERCUTANEOUS CORONARY INTERVENTION IN PATIENTS WITH STABLE ANGINA** T.I. Petelina, N.A. Musikhina, L.I. Gapon, N.V. Dementjeva. Tyumen Cardiology Center, Tyumen, Russia. **Aim.** To conduct the prospective study assessing the biochemical laboratory parameters in patients with stable angina and hemodynamically significant coronary artery stenosis before and 12 months after transluminal balloon-catheter angioplasty. **Methods.** 40 patients (males and females), mean age 57,3±9,6 years with stable angina and chronic coronary artery disease were examined. Patients were divided into 2 groups based on the absence (1st group, 14 patients) or presence