

- pons and the medulla oblongata of rats // Stress. 1997. Vol. 1 (3). P. 155-168.
30. Pospelova T.V., Volkova I.V., Kukushkin A.N., Svetlikova S.B., Pospelov V.A. The serum element (SRE)--the probable target for the negative control in the regulation of the proto-oncogene c-fos promoter // Dokl. Akad. Nauk SSSR. 1990. Vol. 315. № 4. P. 1003-1010.
31. Sasson-Corsi P., Der C. J., Verma I. M. Ras-induced neuronal differentiation of PC12 cells: possible involvement of fos and jun // Molecular and Cellular Biology. 1989. Vol. 9 (8). P. 3174-3183.
32. Sheng M., Greenberg M.E. The regulation and function of c-fos and other immediate early genes in the nervous system // Neuron. 1990. Vol. 4. P. 477-485.
33. Solov'eva N.A., Lagutina L.V., Antonova L.V., Anokhin K.V. Regulation of c-fos gene expression in the rat olfactory bulb during olfactory learning // Neuroscience Behavioral Physiology. 2007. Vol. 37(7). P. 697-704.
34. Sterrenburg L., Gaszner B., Boerrigter J., et al. Chronic stress induces sex-specific alterations in methylation and expression of corticotropin-releasing factor gene in the rat // Public Library of Science One. 2011. Vol. 6(11). 28128 p.
35. Su C.J., Bao J.X., Zhang L.F., Rao Z.R. Fos protein expression in the medulla oblongata and changes in size of spinal lateral horn neurons after 4-wk simulated weightlessness in rats // Journal of Gravitational Physiology. 2000. Vol. 7(3). P. 71-78.
36. Wu Y.-P. and Ling E.-A. Expression of Fos in the spinal motoneurons labeled by horseradish peroxidase following middle cerebral artery occlusion in rat // Brain Research. 1998. Vol. 45. P. 571-576.
37. Yang W., Li Fan X., Zhang H., Wu S. D., Song X. A. Effects of hindlimb unloading and reloading on c-fos expression of spinal cord evoked by vibration of rat Achille tendon // Neuroscience Letters. 2008. Vol. 439. P. 1-6.

## The values of early response gene *c-fos* and products of its expression in neurons under different treatments

S.L. Kuznetsov, M.A. Afanasyev

In article summarizes the material experimental studies on the early response gene *c-fos* in the cells of the nervous system and protein *c-fos*, which it initiates synthesis of variety experimental conditions. It is shown, in particular, the involvement of gene and its products in the physiological and pathological processes proceeding in the individual structures of nervous system.

**Key words:** early response genes, *c-fos* mRNA, *c-fos* proteins, neuroapoptosis.

## Частота полиморфных маркеров CYP2C19\*2, CYP2C19\*3, CYP2C19\*17 среди русской популяции и сравнение распространенности CYP2C19\*2 у пациентов с ишемической болезнью сердца, получающих терапию клопидогрелем, и здоровых добровольцев

К.Б. Мирзаев<sup>1</sup>, Д.А. Сычев<sup>1</sup>, В.Н. Каркищенко<sup>3</sup>, А.В. Грачев<sup>2</sup>, Г.П. Князева<sup>2</sup>, Р.Е. Казаков, А.В. Карасёв<sup>1</sup>

<sup>1</sup> – Кафедра клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней, Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Москва

<sup>2</sup> – «СМ-клиника», Москва

<sup>3</sup> – ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России», Московская область

Контактная информация: д.м.н., профессор Сычев Дмитрий Алексеевич, Dmirty.Alex.Sychev@gmail.com

Одной из широко распространенных причин индивидуальной изменчивости ответа на лекарственную терапию является генетический полиморфизм ферментов биотрансформации – цитохрома P450. Мы обследовали 40 пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС), получающих терапию клопидогрелем, и 146 здоровых добровольцев. Носительство полиморфных маркеров CYP2C19\*2, CYP2C19\*3, CYP2C19\*17 определялось методом Real-Time PCR. Среди пациентов: 20 человек имели генотип CYP2C19 \*1/\*1 (50%), 12 – CYP2C19 \*1/\*2 (30,0%), 5 – CYP2C19 \*1/\*17 (12,5%) и 3 – CYP2C19 \*17/\*17 (7,5%). Генотипы \*1/\*3, \*3/\*3 и \*\*2/\*2 обнаружены. Среди здоровых людей по CYP2C19\*2: 111 имели генотип CYP2C19 \*1/\*1 (76,1%), 31 – CYP2C19 \*1/\*2 (21,2%) и 4 – CYP2C19 \*2/\*2 (2,7%). Частота CYP2C19\*2 у пациентов с ИБС и у здоровых добровольцев составила 15,0% и 13,3% соответственно ( $p=0,323$ ). Полученные данные могут быть полезны для разработки рекомендаций по персонализированной антиагрегантной терапии у российских пациентов с ИБС.

**Ключевые слова:** CYP2C19\*2, CYP2C19\*3, CYP2C19\*17, клопидогрел, фармакогенетика.

### Введение

Одной из широко распространенных причин индивидуальной изменчивости ответа на лекарственную терапию является генетический полиморфизм ферментов биотрансформации – цитохрома P450. Цитохром P450C19 (CYP2C19) – изофермент, ответственный за метаболизм ряда лекарственных препаратов, в том числе барбитуратов, диазепамы, лансопразола, фенитоина, клопидогрела, омепразола, прогупанила и пропранолола [1]. Клопидогрел является пролекарством, требующим биоактивации для оказания

антитромбоцитарного эффекта. После абсорбции ~85% препарата превращается в неактивный метаболит – SR 26334 под воздействием карбоксилэстеразы-1. Оставшиеся ~15% подвергаются двухэтапной биотрансформации в печени при участии изоферментов системы цитохромов P-450. На первом этапе образуется 2-оксо-клопидогрел, на втором этапе – активный метаболит-R130964. Наибольший вклад в метаболизм клопидогрела в печени вносит изофермент CYP2C19. Известно 25 полиморфных вариантов одноименного гена CYP2C19, кодирующего

Таблица 1

Частота аллелей CYP2C19\*1, CYP2C19\*2, CYP2C19\*17 среди пациентов и здоровых добровольцев российской популяции

Группы	N	% носители *2 (*1/*2 + *2/*2)	Аллели CYP2C19		
			*1	*2	*17
Пациенты	40	30,0	0,71	0,15	0,14
Здоровые	146	23,9	0,87	0,13	ND <sup>1</sup>

<sup>1</sup> – аллельный вариант \*17 среди здоровых добровольцев не определялся.

изофермент CYP2C19. Носительство аллельного варианта CYP2C19\*1 обеспечивает полную ферментативную активность CYP2C19 и, соответственно, нормальный метаболизм клопидогрела. CYP2C19\*2 и CYP2C19\*3 ассоциированы со снижением ферментативной активности цитохромов печени и возникновением резистентности к клопидогрелу, которая клинически проявляется повторным инфарктом миокарда, инсультом, тромбозом стента. Существуют межэтнические различия в распределении CYP2C19\*2: около 50% китайцев, 34% афроамериканцев, 18% европейцев и 19% американцев мексиканского происхождения [2, 3, 4, 5]. У носителей аллели CYP2C19\*17 отмечается повышение ферментативной активности CYP2C19 и повышенный риск кровотечений при применении стандартной дозы клопидогрела [6]. Влияние полиморфизма гена CYP2C19 на терапию клопидогрелем было доказано в нескольких исследованиях [7, 2, 8, 9, 10]. В 2011 г. в руководство Европейского Общества Кардиологов (ESC) по лечению пациентов с острым коронарным синдромом было включено фармакогенетическое тестирование с целью выбора антиагрегантного препа-

рата (уровень доказательности II B) [11]. Согласно рекомендациям Американской Ассоциации Сердца (AHA)/Американской коллегии кардиологов (ACC), в фармакогенетическом тестировании нуждаются преимущественно пациенты из группы риска развития тромбоза стента (уровень доказательности III C) [12]. Несмотря на доказанную эффективность, имеется ряд проблем при применении клопидогрела в рекомендованной дозе: относительно высокая частота резистентности к терапии в некоторых этнических группах, клинически проявляющаяся повторными тромбозами, инфарктами и инсультами, и возникновение побочных эффектов в виде кровотечения, при назначении в стандартной дозе [13].

**Цель работы:** определить распространенность полиморфных маркеров CYP2C19\*2, CYP2C19\*3 и CYP2C19\*17 в российской популяции. Сравнить распространенность генотипов и аллелей по CYP2C19\*2 у пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС), принимающих клопидогрел для вторичной профилактики сердечно-сосудистых осложнений, и здоровых добровольцев из российской популяции.

### Материалы и методы

В исследование было включено 40 пациентов (17 женщин и 23 мужчины, средний возраст 62±10 лет) с ИБС, получающих терапию клопидогрелем, и 146 здоровых добровольцев (38 женщин и 108 мужчин, средний возраст 38,1 ± 10,1 лет) из российской популяции. Письменное информированное согласие было получено от всех участников.

Генотипирование: 4 мл венозной крови было собрано в пробирки, содержащие ЭДТА. Лейкоциты периферической крови отделяли центрифугированием. ДНК выделяли из лейкоцитов крови стандартным фенол-хлороформным методом. Частоты полиморфизмов CYP2C19\*2 (с.G681A; rs4244285), CYP2C19\*3 (с.636G>; rs4986893) и CYP2C19\*17 (с.C806T; rs12248560) были определены с использованием полимеразной цепной реакции в

реальном времени (Real-Time PCR). Программа включала предварительную денатурацию при 95°C в течение 10 мин, затем 30 циклов: денатурация при 95°C в течение 30 с, отжиг при 60°C в течение 60 с и удлинение при 72°C в течение 60 с, и последний этап – удлинение при 72°C в течение 7 мин. Носители генотипа \*1/\*1 обозначаются как «extensive metabolizer», носители двух аллелей CYP2C19\*2 или CYP2C19\*3 (\*2/\*2, \*2/\*3, \*3/\*3) обозначаются как «poor metabolizers» (PM), одной аллели (\*1/\*2, \*1/\*3, \*2/\*17, \*3/\*17) обозначаются как «intermediate metabolizers» (IM). Носители аллели CYP2C19\*17 (\*1/\*17, \*17/\*17) обозначаются как «ultrarapid metabolizer» (UM).

Статистические методы: точный критерий Фишера был использован для сравнения различий в распределении генотипов и аллелей между пациентами и здоровыми

Таблица 2

Частота генотипов среди пациентов и здоровых добровольцев русской популяции

Генотип	Число (% от общего кол-ва)		
	Пациенты (n=40)	Здоровые (n=146)	
EM <sup>1</sup>	*1/*1	20 (50,0)	111 (76,1)
IM	*1/*2	12 (30,0)	31 (21,2)
	*1/*3	0	ND <sup>2</sup>
PM	*2/17	0	ND
	*3/*17	0	ND
	*2/*2	0	4 (2,7)
UM	*2/*3	0	ND
	*3/*3	0	ND
	*1/*17	7 (12,5)	ND
	17/*17	3 (7,5)	ND

<sup>1</sup> – EM: extensive metabolizer; IM: intermediate metabolizer; PM: poor metabolizer; UM: ultrarapid metabolizer.

<sup>2</sup> – данные аллельные варианты среди здоровых не определялись.

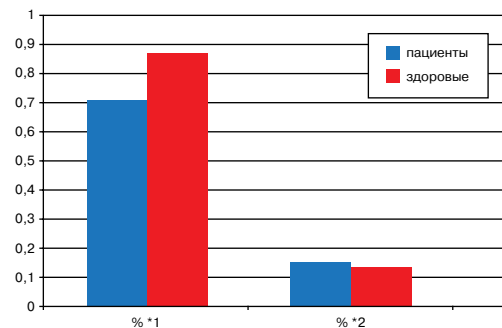


Рис. 1. Частота аллели CYP2C19\*2 среди пациентов и здоровых добровольцев российской популяции ( $p=0,323$ ).

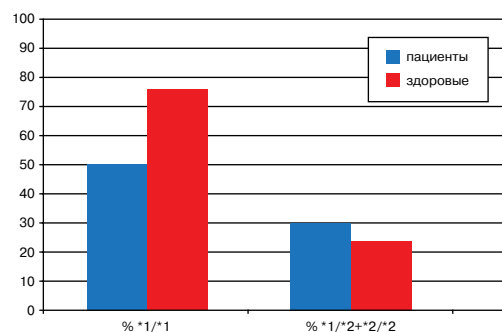


Рис. 2. Частота генотипов CYP2C19 среди пациентов и здоровых добровольцев российской популяции ( $p=0,125$ ).

добровольцами. Хи-квадрат был использован для сравнения наблюдаемого числа каждого генотипа с ожидаемыми для популяции, в соответствии с законом Харди-Вайнберга. Для всех тестов  $p < 0,05$  считали статистически значимым. Обработка результатов проводилась в SPSS 20.

### Результаты исследований

При генотипировании среди пациентов: 20 человек имели генотип CYP2C19\*1/\*1 (50%), 12 – генотип CYP2C19\*1/\*2 (30,0%), 5 – генотип CYP2C19\*1/\*17 (12,5%) и 3 – генотип CYP2C19\*17/\*17 (7,5%). Аллель CYP2C19\*3 и генотип CYP2C19\*2/\*2 не выявлены. Частота генотипов среди здоровых добровольцев по CYP2C19\*2: 11

имели генотип CYP2C19\*1/\*1 (76,1%), 31 – генотип CYP2C19\*1/\*2 (21,2%) и у 4 выявили генотип CYP2C19\*2/\*2 (2,7%) (табл. 1, 2). Никаких существенных отклонений от равновесия Харди-Вайнберга не наблюдалось (пациенты: CYP2C19\*2-X2=0,235,  $p=0,628$  и CYP2C19\*17-X2=0,051,  $p=0,822$ ; здоровые добровольцы: CYP2C19\*2-X2=0,107,  $p=0,743$ ). Выявленные различия между группами статистически незначимы ( $p=0,125$ ) (рис. 1, 2).

### Обсуждение результатов

В данном исследовании мы получили результаты, близкие к полученным Gaikovitch [14] в исследовании среди здоровых добровольцев из российской популяции. Так, чистота носительства CYP2C19\*2 среди здоровых добровольцев в нашем и предыдущем исследовании составила 13,3% и 11,4% соответственно ( $p=0,153$ ). Данные, полученные нами среди пациентов (CYP2C19\*2 – 15,0%), имеющих ИБС, также близки к результатам, полученным Komarov A.L., CYP2C19\*2 – 14,5% ( $p=0,147$ ) [14], и Galiavich A.S., CYP2C19\*2 – 12,5% ( $p=0,297$ ), среди больных российской популяции, страдающих ИБС [16]. Частота CYP2C19\*2 в данном исследовании оказалась выше у пациентов с ИБС по сравнению со здоровыми добровольцами – 15,0% и 13,3% соответственно ( $p=0,323$ ). Распространенность носительства, по крайней мере, одной мутантной аллели CYP2C19\*2 (\*1/\*2 + \*2/\*2), ассоциированной с резистентностью к клопидогрелу, среди пациентов и здоровых добровольцев составили 30% и 23,9% соответственно ( $p=0,125$ ). Другими словами, почти у каждого третьего пациента мы можем ожидать недостаточную эффективность терапии клопидогрелом при назначении его в стандартной дозе. То, что мы не обнаружили генотипы \*2/\*2, \*1/\*3 и

\*3/\*3, не является необычным, так как они редко встречаются во многих этнических группах, и доля пациентов, которые являются носителями, по крайней мере, одной аллели CYP2C19\*3 среди европейцев, африканцев и азиатов, составляют <1%, <1% и 7% соответственно [17].

### Выводы

Полученные в нашем исследовании данные по частоте носительства полиморфных маркеров CYP2C19\*2, CYP2C19\*3, CYP2C19\*17 среди российских пациентов с ИБС, принимающих клопидогрел, могут быть полезны для разработки рекомендаций по персонализированной антиагрегантной терапии и стратификации риска тромбозов и кровотечений на основе фармакогенетического тестирования.

### Ограничения

К недостаткам нашего исследования можно отнести небольшое количество пациентов, включенных в исследование, а также то, что аллели CYP2C19\*3 и CYP2C19\*17 не определялись у здоровых добровольцев. В дальнейшем планируется увеличить количество пациентов и отследить сердечно-сосудистые осложнения, наблюдаемые на фоне терапии клопидогрелом.

### Список литературы

1. Goldstein, J.A. Clinical relevance of genetic polymorphisms in the human CYP2C subfamily. Br. J. Clin. Pharmacol. 2001. 52: 349-355.
2. Mega J.L., Close S.L., Wiviott S.D., Shen L., Hockett R.D., Brandt J.T., et al. Cytochrome p-450 polymorphisms and response to clopidogrel. N Engl J Med. 2009 Jan 22;360(4):354-62. Epub. 2008. Dec 22.

3. H.R. Luo, R.E. Poland, K.M. Lin, et al. Genetic polymorphism of cytochrome P450 2C19 in Mexican Americans: a cross-ethnic comparative study. Clin. Pharmacol Ther. 80 (2006). P. 33-40.
4. Giusti B., Gori A.M., Marcucci R., Saracini C., Sestini I., Paniccia R., et al. Relation of cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism to occurrence of drug-eluting coronary stent thrombosis. Am J. Cardiol. 2009 Mar 15;103(6):806-11. Epub 2009. Jan 24.
5. Bonello L., Armero S., Ait Mokhtar O., Mancini J., Aldebert P., Saut N., et al. Clopidogrel loading dose adjustment according to platelet reactivity monitoring in patients carrying the 2C19\*2 loss of function polymorphism. J Am Coll Cardiol. 2010. Nov 9;56(20):1630-6.
6. Sibbing D., Koch W., Gebhard D., et al. Cytochrome 2C19\*17 allelic variant, platelet aggregation, bleeding events, and stent thrombosis in clopidogrel-treated patients with coronary stent placement. Circulation. 2010. 121:512-518.
7. Trenk D., Hochholzer W., Fromm M.F., et al. Cytochrome P450 2C19 681G >A polymorphism and high on-clopidogrel platelet reactivity associated with adverse 1-year clinical outcome of elective percutaneous coronary intervention with drug-eluting or bare-metal stents. J. Am Coll Cardiol. 2008. 51:1925-1934.
8. Shuldiner A.R., O'Connell J.R., Gurbel P.A., et al. Influence of CYP2C19 polymorphism on antiplatelet effects of clopidogrel and long-term recurrent ischemic event occurrence. JAMA, 302 (2009), P. 849-858.
9. Simon T., Verstuyft C., Mary-Krause M., Quteineh L., Drouet E., Meneveau N., et



- al.* Genetic determinants of response to clopidogrel and cardiovascular events. *N Engl J Med* 2009. 360(4):363-375.
10. *Sibbing D., Stegheer J., Latz W., et al.* Cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism and stent thrombosis following percutaneous coronary intervention *Eur Heart J*, 30 (2009), P. 916-922.
11. ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute coronary syndromes (ACS) in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 2011. Sep 21.
12. ACCF/AHA/SCAI Guideline for Percutaneous Coronary Intervention. *JACC*. 2011. V.58(24). P.44-122.
13. *Angiolillo D.J., Fernandez-Ortiz A., Bernardo E., et al.* Variability in individual responsiveness to clopidogrel: clinical implications, management, and future perspectives. *J Am Coll Cardiol*. 2007. 49(14):1505-1516.
14. *Komarov A.L., Panchenko E.P., Donnikov A.E., Shakhmatova O.O., Dzhaliyeva G.V., Iliushchenko T.A.* Factors determining clinical effectiveness of clopidogrel and prognosis of patients with stable ischemic heart disease. *Kardiologiya*. 2011. 51(2):8-18.
15. *Gaikovitch E.A., Cascorbi I., Mrozkiewicz P.M., Brockmüller J., Frötschl R., Köpke K., et al.* Polymorphisms of drug-metabolizing enzymes CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP1A1, NAT2 and of P-glycoprotein in a Russian population. *Eur J. Clin. Pharmacol*. 2003. Aug;59(4):303-12. Epub 2003. Jul 15.
16. *Galiavich A.S., Valeeva D.D., Minnetdinov R.Sh., Arkhipova A.A., Akhmetov I.I., Galiavi R.A.* CYP2C19 gene polymorphism in patients with myocardial infarction who use clopidogrel. *Kardiologiya*. 2012. 52(4):20-4.
17. *Collet J.P., Hulot J.S., Pena A., et al.* Cytochrome P450 2C19 polymorphism in young patients treated with clopidogrel after myocardial infarction: a cohort study. *Lancet*. 2009. 373:309-317.

## CYP2C19\*2, CYP2C19\*3, CYP2C19\*17 allele and genotype frequencies in clopidogrel-treated patients with coronary heart disease from the Russian population

K.B. Mirzaev, D.A. Sychev, V.N. Karkischenko, A.V. Grachev, G.P. Knyazev, R.E. Kazakov, A.V. Korasev

Individual variation in the response to drug therapy has been mainly attributed to the genetic polymorphism of cytochrome P 450 isoenzymes. We examined 40 patients with CHD, who received clopidogrel and 146 healthy volunteers. CYP2C19\*2, CYP2C19\*3, CYP2C19\*17 carriage was determined by a polymerase chain reaction. 20 clopidogrel-treated patients had the CYP2C19 \*1/\*1 genotype (50%), 12 – CYP2C19 \*1/\*2 (30,0%), 5 – CYP2C19 \*1/\*17 (12,5%), and 3 – CYP2C19 \*17/\*17 (7,5%). Among the healthy volunteers, 111–CYP2C19 \*1/\*1 (76,1%), 31 – CYP2C19 \*1/\*2 (21, 2%), and 4 – CYP2C19\*2/\*2 (2,7%). The frequencies of CYP2C19\*2 were 15,0% and 13,3% in patients with CHD and in healthy volunteers respectively (p=0,323). The results of the present study show the impact of individual response variability to clopidogrel on clinical outcomes and may be helpful in developing current and future directions for its management.

**Key words:** CYP2C19\*2, CYP2C19\*3, CYP2C19\*17, clopidogrel, pharmacogenetics.

## Генетические предикторы лекарственной аллергии на бета-лактамы антибиотиков

И.Е. Грознова<sup>1</sup>, Д.А. Сычев<sup>2</sup>, Н.Г. Бердникова<sup>1</sup>, А.О. Чикало<sup>1</sup>

<sup>1</sup> – ФГБУН «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения России, Москва

<sup>2</sup> – ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России», Московская область

Контактная информация: д.м.н., профессор Сычев Дмитрий Алексеевич, [Dmirty.Alex.Sychev@gmail.com](mailto:Dmirty.Alex.Sychev@gmail.com)

В современной клинической практике наблюдается существенный рост использования антибактериальных препаратов для лечения больных с различными инфекционно-воспалительными заболеваниями. Бета-лактамы антибиотиков являются одними из наиболее клинически значимых антибактериальных препаратов, используемых в медицине. Несмотря на высокую эффективность в лечении многих инфекционно-воспалительных заболеваний, сфера применения бета-лактамов антибиотиков значительно ограничивается побочными реакциями, возникающими на фоне лечения с использованием этих препаратов. Наиболее частыми из них в клинической практике являются аллергические реакции. Бета-лактамы антибиотиков относятся к лекарственным препаратам, на которые чаще всего развиваются IgE- опосредованные аллергические реакции. В настоящее время для прогнозирования подобного рода побочных реакций проводятся многочисленные исследования по поиску генов-кандидатов, вовлеченных в развитие аллергических реакций на бета-лактамы антибиотиков. В настоящей статье рассматриваются частота и структура побочных реакций аллергического генеза на бета-лактамы антибиотиков, патогенез аллергической реакции, а также стратегии поиска потенциальных генетических предикторов.

**Ключевые слова:** бета-лактамы антибиотиков, побочные реакции, генетические предикторы.

С учетом высокой клинической эффективности и низкой токсичности, бета-лактамы антибиотиков составляют основу современной противомикробной терапии, занимая основное место при лечении больных с различными бактериальными инфекциями [7]. Однако бета-лактамы антибиотиков могут принести не только пользу, но и вред, т.к. в ряде случаев наблюдаются побочные реакции, возникающие на фоне применения данных препаратов [8]. Наиболее частыми из них в клинической практике являются аллергические реакции. Аллергические реакции чаще отмечаются при применении пенициллинов (5–10%), реже – цефалоспоринов (2%), карбапенемов и монобактамов (менее 1%).

Так, по результатам недавно проведенных клинических исследований цефалоспоринов III фазы, частота развития аллергических реакций, в том числе реакций гиперчувствительности немедленного типа, составила более 3% [17, 19]. К числу нечастых, но серьезных побочных реакций, возникающих при применении цефалоспоринов, относятся аллергические реакции, варьирующие по степени тяжести от обширных кожных высыпаний до угрожающих жизни явлений, таких как бронхоспазм и анафилактический шок [19].

В целом, клинические проявления аллергических реакций на антибиотики чрезвычайно разнообразны по симптоматике, тяжести течения и тропности к различным