

Методы оценки и регуляция активности генетически детерминированных метаболических ферментных систем организма человека

С.Ю.Гармонов¹, И.Э.Кравченко², Нгуэн Зунг Чунг¹, И.Ф.Мингазетдинов¹, Т.А.Киселева², В.Х.Фазылов²

¹ Казанский государственный технологический университет, Казань

² Казанский государственный медицинский университет, Казань

Системы ацетилирования и окисления, находящиеся под контролем ферментов N-ацетилтрансферазы (NAT) и микросомальных оксидаз (МО), осуществляют биотрансформацию большого количества лекарственных веществ (ЛВ). Активность этих генетически детерминированных систем является главным фактором, определяющим колебания концентрации лекарств в организме пациентов, и, в конечном итоге, их ответ на лекарства, применяемые при наиболее частых и социально значимых заболеваниях (инфекционных, сердечно-сосудистой системы, органов дыхания, печени). Все это обуславливает необходимость разработки более совершенных методов биофармацевтического анализа для установления фармакокинетических параметров тест-препаратов этих процессов метаболизма в биологических жидкостях. Последнее служит основой индивидуализации дозирования ЛВ, учета биохимических фенотипов при терапии различных патологических состояний и проведения мониторинга лекарственных препаратов. При этом сложный многокомпонентный состав биологических жидкостей особенно при низких содержаниях анализируемых веществ требует использования избирательных и чувствительных методов определения ЛВ. В то же время не менее значимым является требование

высокой производительности, надежности и возможности получения большого объема аналитической информации при проведении биофармацевтического анализа в клинических условиях. Таким требованиям удовлетворяют хроматографические и оптические методы, которые все более интенсивно используются в контроле генетически детерминированных биохимических процессов метаболизма ЛВ в организме человека.

В связи с этим биофармацевтические исследования активности ферментов метаболизма и влияния на нее лекарственных препаратов позволяют разработать алгоритмы персонализации лекарственной терапии, совершенствовать требования к экспертизе новых препаратов, а также снизить проявление нежелательных лекарственных реакций и расходы на медицинскую помощь.

Цель работы состояла в разработке комплекса хроматографических и спектрофотометрических методов биофармацевтического анализа для установления активности метаболических систем ацетилирования и окисления организма человека, а также оценке влияния лекарственного препарата ксимедона на фармакокинетику тест-препаратов этих ферментных систем при сахарном диабете 2 типа и стрептококковой ангине.

Материалы и методы

Фенотипы ацетилирования и окисления в группах здоровых добровольцев (95 человек), больных сахарным диабетом 2 типа (127 человек) и ангиной (75 человек) определялись путем измерения фармакокинетических параметров экскреции свободных тест-маркеров с мочой и слюной пациентов методами спектрофотометрии и высокоэффективной жидкостной хроматографии. В качестве тест-маркеров использованы изониазид, антипирин и месалазин. Фармакокинетические данные обследуемых обрабатывали по программе АСКИД с использованием одночастевой модели со всасыванием 1 порядка и одночастевой модели с внемоделльным всасыванием по программе M-IND.

Результаты и их обсуждение

Разработаны новые методы оценки активности генетически детерминированных ферментных систем микросомального окисления и ацетилирования на основе использования высокоэффективной жидкостной хроматографии и спектрофотометрии. Представлены оригинальные методические приемы экспрессной и доступной для клинической практики косвенной оценки биохимических фенотипов метаболизма путем определения фармакокинетических параметров различных тест-маркеров в моче и слюне. Разработаны методики биофармацевтического анализа активности микросомальных оксидаз и N-ацетилтрансферазы на основе оценки фармакокинетических параметров антипирина в слюне за 12 часов, экскреции изониазида и месалазина в моче за 6 часов методами ВЭЖХ и спектрофотометрии, обосновано их ис-

пользование для персонализации лекарственной терапии.

Изучена фармакокинетика тест-препаратов ацетилирования и окисления при сахарном диабете 2 типа, стрептококковой ангине и роже, при этом установлены пути регуляции активности этих ферментных систем лекарственным препаратом ксимедоном. По данным фармакокинетики антипирина и изониазида у здоровых добровольцев при совместном приеме с иммуномодулятором ксимедоном выявлено индукционное влияние ксимедона на активность этих ферментных систем. Найдены дозозависимые и временные схемы введения ксимедона с целью получения максимального эффекта индукции.

Установлено соотношение фенотипов метаболизма у больных сахарным диабетом 2 типа (быстрый фенотип ацетилирования – 62%; фенотипы окисления: средний – 22%, медленный – 78%; n=127 чел.) и стрептококковой ангиной (фенотипы окисления: медленный – 54%, средний – 34%; быстрый – 12%; быстрый фенотип ацетилирования – 57%; n=75 чел.) в сравнении со здоровыми добровольцами (фенотипы ацетилирования: быстрые – 45%, медленные – 55%; фенотипы окисления: быстрые – 21%, средние – 43%, медленные – 36%; n=95 чел.).

Имеются тенденции к увеличению выявленных групп фенотипов с увеличением длительности заболеваний, тяжестью осложнений, динамикой биохимических и иммунологических показателей.

С увеличением стажа сахарного диабета 2 типа, декомпенсации углеводного обмена и прогрессирования диабетической нефропатии отмечается тенденция к увеличению быстрого фенотипа ацетилирования, что является фактором глубоких метаболических нарушений. По-

казано, что быстрый фенотип ацетилирования определяет нестабильность почечных цитомембран. Выявлено, что у больных сахарным диабетом 2 типа с увеличением длительности заболевания, наличием декомпенсации и стадий микро- и макроальбуминурии наблюдается замедление элиминации тест-препарата окисления антипирина.

В острый период заболевания ангиной соотношение фенотипов ацетилирования и окисления у больных достоверно не отличалось от группы сравнения. В периоде реконвалесценции в группе сравнения имеется тенденция к увеличению скорости ацетилирования у 21,4% больных. После курса лечения ксимедоном у 65 % больных с медленным ацетилированием индукция к концу лечения привела к переходу в быстрый фенотип, что имело достоверную разницу с группой сравнения ($p < 0,05$). В периоде ранней реконвалесценции в группе сравнения происходит уменьшение количества больных с медленным фенотипом окисления (до 33,3%), увеличение со средним фенотипом (до 54,8%) и сохраняется достовер-

но малое количество с быстрым фенотипом окисления (11,9%). На фоне лечения ксимедоном к периоду ранней реконвалесценции происходит перераспределение фенотипов окисления и их соотношение приближается к группе здоровых лиц (по 41,2% медленный и средний фенотипы и 17,6% - быстрый фенотип).

Выводы

Разработанные подходы по фенотипированию можно использовать для оценки особенностей ферментативной активности и ингибирующих эффектов лекарственных средств в процессе терапии сахарного диабета 2 типа и стрептококковой ангины, которые пригодны для раннего выявления тяжести течения и осложнений, индивидуального подбора и коррекции лекарственной терапии.

Работа выполнена в рамках Гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых ученых – докторов наук № МД-2523.2008.3.