

Значение полиморфизмов генов-транспортеров органических анионов для индивидуализации фармакотерапии

В.Г. Кукес, Д.А. Сычев, Р.Е. Казаков, А.В. Семенов, И.В. Игнатьев,
Г.В. Раменская, В.Н. Каркищенко

Институт клинической фармакологии ФГУ НЦЭСМП, Москва

Научный центр биомедицинских технологий РАМН, Москва

Институт новых технологий РАМН, Москва

Данный обзор содержит анализ литературы последних лет, посвященной исследованиям влияния полиморфизма транспортеров органических анионов на эффективность фармакотерапии. Установлено, что некоторые аллели транспортера OATP-C связаны со снижением вывода из организма статинов. Анализ аллельных вариантов других транспортеров органических анионов также может иметь прикладное значение.

Ключевые слова: транспортеры органических анионов, индивидуализация фармакотерапии.

Транспортеры органических анионов принимают участие в метаболизме большого числа соединений, включая широко применяемые лекарственные средства (ЛС). Являясь частью системы, элиминирующей ксенобиотики из организма, транспортеры органических анионов способствуют выведению ряда ЛС через почки в мочу и через печень в желчь.

В последние годы пристальное внимание исследователей привлекает изучение влияния полиморфизмов генов, ответственных за фармакокинетику ЛС, на процессы биотрансформации и выведения ЛС. Полученные данные могут иметь большое значение при разработке индивидуальных режимов дозирования ЛС на основе генотипа пациента, что будет способствовать более эффективной и безопасной фармакотерапии.

Транспортеры органических анионов — ОАТ и ОАТР

Транспортеры органических анионов представляют собой трансмембранные белки, ответственные за перенос через мембрану эндогенных веществ и ксеноби-

отиков с различными химическими свойствами. Они участвуют в абсорбции, распределении и выведении из организма лекарственных препаратов, функционируя в тесной связи с ферментами биотрансформации. Функцию выведения ксенобиотиков выполняют также, наряду с транспортерами органических анионов, и другие транспортные системы, например Р-гликопротеин и транспортеры органических катионов.

В настоящее время установлено, что группа соединений, в транспорте которых участвуют транспортеры органических анионов, не ограничивается исключительно органическими анионами: также возможен транспорт через мембрану катионов, цвиттерионов и даже неионизированных молекул [8]. Субстратами могут служить соединения разной химической природы, главными «опознавательными признаками» для переноса через мембрану являются заряд и степень гидрофобности молекулы.

Транспортеры органических анионов представлены двумя семействами: ОАТ (organic anion-transporters) и ОАТР (organic anion-transporting polypeptides).

OATP экспрессируются в печени, почках, головном мозге и кишечнике, играя важную роль в регуляции биодоступности и распределения ЛС в организме [8]. Их субстратами являются многие органические вещества, включая стероидные конъюгаты, тиреоидные гормоны, пептиды и ксенобиотики. OATP отвечают за фармакокинетику ряда ЛС (правастатин, рифампин, фексофенадин и др.).

OAT-транспортеры структурно отличаются от OATP, многие из них играют важную роль в функционировании почек. Различаются оба семейства субстратами: OATP переносят органические анионы с более крупными и более гидрофобными молекулами, тогда как OAT – более мелкие и гидрофильные. Среди веществ, выводимых из организма транспортерами семейства OAT, ряд важных анионных ЛС, включая β -лактамные антибиотики, диуретики, нестероидные противовоспалительные, противовирусные и противоопухолевые препараты [8].

Представители семейства OATP, участвующие в процессах фармакокинетики и фармакодинамики ЛС

В последние годы согласно новой классификации, отражающей особенности первичной структуры, изменились названия представителей семейства OATP. Но, тем не менее, старые названия, наряду с новыми, до сих пор часто употребляются в научной литературе.

OATP-A (OATP1A2 по новой классификации) экспрессируется в мозге и почках, незначительная экспрессия наблюдается также в печени. Он участвует в выведении через почки многих эндогенных соединений и ксенобиотиков, включая бромосульфофталеин, желчные кислоты, стероидные сульфаты, тиреоидные гормоны, опиоидные пептиды, фексофенадин [5].

В настоящее время описано порядка 20 полиморфизмов гена *SLCO1A2*, кодирующе-

щего OATP-A, но из них только одна нуклеотидная замена, A516C, приводит к замещению аминокислоты Glu на Asp в положении 172, что вызывает снижение транспортной активности [6].

Транспортер OATP-C (OATP1B1) экспрессируется исключительно в базолатеральной мембране гепатоцитов. Также как OATP-A, OATP-C обладает широкой субстратной специфичностью и участвует в выведении из организма желчных кислот, сульфатных и глюкуроновых конъюгатов, тиреоидных гормонов, пептидов, ЛС (правастатин, метотрексат, рифампин). Полиморфизм гена *SLCO1B1*, кодирующего OATP-C, влияет на фармакокинетику препаратов, метаболизируемых в печени. Скринингом кодирующей области гена было идентифицировано более 20 нуклеотидных замен, причем ряд аллельных вариантов сопровождается снижением транспортной активности OATP-C (табл. 1).

OATP8 (OATP1B3) по первичной структуре сходен с OATP-C: также экспрессируется преимущественно в печени [2], но при этом принимает участие в выведении дигоксина и холецистокинина-8. Обнаружены 4 замены в гене, кодирующем OATP8, не влияющие на транспортную активность белка [7]. Также не выявлено влияния на транспортную функцию полиморфизмов генов, кодирующих менее изученные транспортеры OATP-D, OATP-E, OATP-F, OATP-H, OATP-I и OATP-J.

Представители семейства OAT, участвующие в процессах фармакокинетики и фармакодинамики

Все представители семейства OAT экспрессируются на мембране клеток почек, но в меньшем количестве их мРНК обнаруживается в других органах: в печени, скелетных мышцах, плаценте, мозге и т.д. OAT2 у человека в большей степени является печеночным транспортером, хотя также экспрессируется в почках [15].

Таблица 1

Полиморфизмы гена *SLCO1B1*, кодирующего транспортер органических анионов OATP1B1 (OATP-C) (по Marzolini et al. [1].)

Положение замены нуклеотида	Замена аминокислоты	Влияние на транспортную активность OATP-C
1	217 T>C	Phe 73 Leu
2	245 T>C	Val 82 Ala
3	388 A>G	Asn 130 Asp
4	411 G>A	Нет замены
5	452 A>G	Asn 151 Ser
6	455 G>A	Arg 152 Lys
7	463 C>A	Pro 155 Tre
8	467 A>G	Glu 156 Gly
9	521 T>C	Val 174 Ala
10	571 T>C	Нет замены
11	578 T>G	Leu 193 Arg
12	597 C>T	Нет замены
13	721 G>A	Asp 241 Asn
14	1007 C>G	Pro 336 Arg
15	1058 T>C	Ile 353 Tre
16	1294 A>G	Asn 432 Asp
17	1385 A>G	Asp 462 Gly
18	1454 G>T	Cys 485 Phe
19	1463 G>C	Gly 488 Ala
20	1964 A>G	Asp 655 Gly
21	2000 A>G	Glu 667 Gly
22	2040 C>A	Нет замены

Идентифицировано 4 переносчика семейства ОАТ (OAT1-OAT4), встречающиеся у многих организмов. Структурно они представляют собой белки длиной 526-568 аминокислотных остатка, и содержат 12 трансмембранных доменов. Кроме того, транспортеры имеют гликозилированный участок между трансмембранными доменами 1 и 2 (на наружной стороне мембраны), а также сайты фосфорилирования между трансмембранными доменами 6 и 7, а также после 12-го домена (на внутренней стороне мембраны). Фосфорилирование соответствующих сайтов может играть важную роль в регуляции активности ОАТ [11].

Функциональный механизм ОАТ состоит в обмене α -кетоглутарата на орга-

нические анионы через мембрану, что осуществляется за счет непрямого сцепления с градиентом натрия, поддерживаемым Na-K-АТФазой [14].

OAT1 участвует в выведении через почки в мочу многих ЛС: противовирусных препаратов (ацикловир, ганцикловир, зидовудин, адефовир, цидофовир, тенофовир), нестероидных противовоспалительных средств, β -лактамных антибиотиков, диуретиков, противоопухолевых ЛС [15].

Обнаружено значительное количество замен нуклеотидов в генах транспортеров: 17 у OAT1, 16 у OAT3, но при этом не выявлено изменений общей транспортной активности в опытах *in vitro*. Но не исключено, что такие различия могут иметь ме-

сто избирательно для узкого круга соединений, в том числе лекарственных средств – субстратов ОАТ. Действительно, недавно были получены предварительные данные, что замена у ОАТ1 в положении 50 аргинина на гистидин повышает сродство транспортера к циодофовиру и адефовиру [14], а также по влиянию полиморфизма ОАТ3 на фармакокинетику правастатина [10]. Поэтому необходимы дальнейшие расширенные исследования влияния аллельных вариантов генов, кодирующих ОАТ, на фармакокинетику и фармакодинамику ЛС, являющихся субстратами ОАТ.

ОАТ2 печени и почек выводит небольшие гидрофильные анионы, среди которых индометацин и салицилат. Полиморфизм гена, кодирующего ОАТ2, малоизучен.

ОАТ3 участвует в транспорте сульфата эстрона, эстрадиола, простагландинов, нестероидных противовоспалительных средств, метотрексата, циметидина, многих противовирусных препаратов, желчных кислот и правастатина [12].

ОАТ4 находится в почках, значительный уровень экспрессии поддерживается также в плаценте. Транспортирует сульфаты стероидов, охратоксин А, зидовудин, метотрексат. Полиморфизм гена, кодирующего ОАТ4 малоизучен.

Роль ОАТ и ОАТР в фармакогенетике статинов

Применение статинов, ингибиторов 3-гидроксигидроксил-КоА редуктазы (ГМГ-КоА-редуктазы), занимает важное место в лечении пациентов с ишемической болезнью сердца. В ряде случаев применение лекарства сопряжено с нежелательными лекарственными реакциями (НЛР), либо с отсутствием должного эффекта, что связано с применением несоответствующей дозы препарата. В 50% случаев за НЛР ответственны генетические факторы [1]. Причины отрицательного ответа организма на прием статинов

можно выявить методами генетической диагностики и использовать полученные данные для индивидуального подбора режима дозирования и типа ЛС.

Гены, полиморфизм которых может влиять на фармакологический ответ пациента на статины, составляют три группы:

1. Гены белков, ответственных за фармакокинетику статинов (изоформы цитохрома Р-450, Р-гликопротеин, ОАТР-С, ОАТ3).
2. Гены белков, ответственных за механизм действия статинов (ГМГ-КоА-редуктаза, холестерин-этерифицирующий трансферный протеин).
3. Гены белков, участвующих в патогенезе атеросклероза (АТФ-связывающий «кассетный» транспортер G5/G8, изофермент цитохрома Р-450 7A1) [3, 4].

При применении различных статинов, в зависимости от механизмов их действия и путей выведения, участвуют продукты разных генов. Часть статинов уже изначально являются лекарствами и для их активации не нужно протекания химических реакций внутри организма (аторвастатин, правастатин, флувастатин, розувастатин). Другие статины являются пролекарствами и превращаются в активный метаболит под действием карбоксиэстераз печени, образуя β-гидроксикислоты (ловастатин, симвастатин). Помимо метаболизма, осуществляемого различными изоформами цитохрома Р-450, статины активно выводятся из организма. Так, аторвастатин и β-гидроксикислоты ловастатина секретируются в желчь с помощью Р-гликопroteина [2].

Среди полиморфизмов гена *MDR1*, кодирующего Р-гликопротеин, наибольшее клиническое значение имеет C3435T, связанный с изменением уровня экспрессии. Также клиническое значение имеют некоторые полиморфизмы ОАТР-С. В табл. 1 представлены данные о влиянии известных нуклеотидных замен гена, кодирующего ОАТР-С, на транспортную функцию транспортера.

Было обнаружено, что у носителей аллельного варианта *OATP-C*15* (две замены аминокислоты: Asn130Asp и Val174Ala) наблюдается снижение транспортной активности ОАТР-С. У таких пациентов замедляется поступление статинов из крови в гепатоциты, что приводит к снижению концентрации статинов в гепатоцитах и к ее повышению в плазме крови. Следствием этого является уменьшение гиполипидемического действия статинов и повышение риска возникновения НЛР со стороны поперечно-полосатой мускулатуры [2].

Было показано, что лица, являющиеся носителями аллельного варианта *OATP-C*15*, имеют достоверные отличия фармакокинетики правастатина по сравнению с гомозиготами по «дикому» типу [7]. У них на фоне терапии статинами (правастатин, аторвастатин, симвастатин) снижение уровня липопротеинов низкой плотности происходило в меньшей степени, чем у лиц, не имеющих данной аллели [12].

Также на фармакокинетику статинов влияет нуклеотидная замена A388G (аллель *OATP-C*1b*): у лиц, несущих данный аллельный вариант, достоверно выше площадь под фармакокинетической кривой (AUC) правастатина [9].

Наряду с процессом поступления статинов из крови в печень, в котором участвуют транспортеры ОАТР, они также могут выводиться из организма через почки с помощью ОАТ. В выведении правастатина, как уже было сказано, участвует ОАТ3.

В скелетной мускулатуре экспрессируются ОАТ1 и ОАТ3. Из них только ОАТ3 ответственен за проникновение правастатина внутрь мышечных клеток у человека, тогда как у крыс в фармакокинетике правастатина участвуют оба транспортера. С другой стороны, флувастатин и симвастатин дозозависимо ингибируют ОАТ1, снижая транспорт их субстратов в миоци-

ты [13]. Дальнейшее исследование взаимодействия статинов с ОАТ, возможно, позволит вскрыть механизмы возникновения таких НЛР, как миопатии.

Заключение

Современная фармакогенетика открывает новые возможности определения причин неблагоприятного фармакологического ответа, проявляющегося в отсутствии должного эффекта или появлении НЛР. Выявление аллельных вариантов генов транспортеров органических анионов, наряду с генотипированием нуклеотидных замен в других генах (ферменты биотрансформации I и II фазы), отвечающих за фармакокинетику, механизм действия или патогенез, является перспективным подходом, способствующим индивидуализации фармакотерапии.

Фармакогенетика является сравнительно молодой, бурно развивающейся областью молекулярной медицины. Очевидно, что уже в недалеком будущем генетический анализ аллельных вариантов прочно войдет в число рутинных процедур.

Литература

1. Кукас В.Г. Клиническая фармакология. М.: Геотармед, 2004, С. 154-168.
2. Кукас В.Г. Метаболизм лекарственных средств: клинико-фармакологические аспекты. М.: Реафарм, 2004, С. 18-27; 55-65.
3. Сычев Д.А., Семенов А.В., Пауков С.В., Кукас В.Г. Фармакогенетика ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы (статинов): возможности индивидуализации терапии на основе генотипа.
4. Kajinami K., Takekoshi N., Brousseau M.E., Schaefer E.J. Pharmacogenetics of HMG-CoA reductase inhibitors: exploring the potential for genotype-based individualization of coronary heart disease management. *Atherosclerosis* - 2004, 177(2), P. 219-234.
5. Konig J., Cui Y., Nies A.T. et al. A novel human organic anion transporting polypeptide localized to the basolateral hepatocyte mem-

- brane. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver. Physiol.* 2000, 278, P. 156-164.
6. Lee W., Smith L.H., Gervasini G., Leake B.F., Kim R.B. Identification of nonsynonymous polymorphisms of human organic anion transporting polypeptide-A (OATP-A) associated with altered transport activity. *105th Annual Meeting of the American Society for Clinical Pharmacology and Therapeutics, Florida, USA, 2004.*
 7. Lida A., Saito S., Sekine A. et al. Catalog of 258 single-nucleotide polymorphisms (SNPs) in genes encoding three organic anion transporters, three organic anion transporting polypeptide, and three NADH: ubiquinone oxidoreductase flavoproteins. *J. Hum. Genet.* - 2001, 46, P. 668-683.
 8. Marzolini C., Tirona R.G., Kim R.B. Pharmacogenomics of the OATP and OAT families. *Pharmacogenomics.* 2004, 5(3), P. 273-282. Review. 15.
 9. Mvinyi J., Johnne A., Bauer S., Roots I., Gerloff T. Evidence for inverse effects of OATP-C (*SLC21A6*) 5 and 1b haplotypes on pravastatin kinetics. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2004, 75, 5, P. 415-421.
 10. Nishizato Y., Ieiri I., Suzuki H. et al.: Polymorphisms of OATP-C (*SLC21A6*) and OAT3 (*SLC22A8*) genes: consequences for pravastatin pharmacokinetics. *Clin. Pharm. Ther.* 2003, 73, P. 554-565.
 11. Sweet D.H., Bush K.T., Nigam S.K. The organic anion transporter family: from physiology to ontogeny and the clinic. *Am J Physiol Renal Physiol.* - 2001, 281(2), P. 197-205. Review.
 12. Tachibana-Iimori R., Tabara Y., Kusuhara H., et al. Effect of genetic polymorphism of OATP-C (*SLC01B1*) on lipid-lowering response to HMG-CoA reductase inhibitors. *Drug Metab. Pharmacokin.* 2004, 19, 5, P. 375-380.
 13. Takeda M., Noshiro R., Onozato M.L., et al. Evidence for a role of human organic anion transporters in the muscular side effects of HMG-CoA reductase inhibitors. *European J. of Pharmacology.* 2004, 483, P. 133-138.
 14. Vavricka S.R., Van Montfoort J., Ha H.R., Meier P.J., Fattinger K. Interactions of rifamycin SV and rifampicin with organic anion uptake systems of human liver. *Hepatology.* 2002, 36(1), P. 164-172.
 15. You G. The role of organic ion transporters in drug disposition: an update. *Current Drug Metab.* 2004, 5, P. 55-62.

THE ROLE OF ORGANIC ANION TRANSPORTERS IN INDIVIDUAL PHARMACOTHERAPY

**V.G. Kukes, D.A. Sychev, R.E. Kazakov, A.V. Semenov, I.V. Ignatiev,
G.V. Ramenskaya, V.N. Karkischenko**

*Institute of Clinical Pharmacology NC ESMP, Moscow,
Research Center for Biomedical Technologies of RAMS, Moscow
Institute of New Technologies of RAMS, Moscow*

This review contains analysis of recent literature exploring how polymorphisms of organic anion transporters influence on efficacy of pharmacotherapy. It is known that some of single nucleotide polymorphisms of OATP-C have effect on lowering the statines outflow. Allelic analysis of other organic anion transporters genes have clinical aim possibly too.

Key words: organic anion transporters, individual pharmacotherapy.