

Фармакогенетика безопасности феназепама при синдроме отмены алкоголя: гаплотипический и комбинаторный анализ полиморфных вариантов генов фармакокинетических факторов

Ивашенко Д.В.¹, Терещенко О.В.², Темирбулатов И.И.¹, Акмалова К.А.¹, Гришина Е.А.¹, Застрожин М.С.^{1,3}, Савченко Л.М.¹, Брюн Е.А.^{1,3}, Сычев Д.А.¹

¹ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва; ²ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва; ³ГБУЗ Департамента здравоохранения г. Москвы «Московский научно-практический центр наркологии», Москва
¹Россия, 125993, Москва, ул. Баррикадная, 2/1, стр. 1; ²Россия, 115230, Москва, Каширское шоссе, 34; ³Россия, 109390, Москва, ул. Люблинская, 37/1

Феназепам – бензодиазепиновый транквилизатор, широко применяемый в России. Метаболизм феназепама осуществляется изоферментами цитохрома P450 семейства CYP3A. Поскольку их субстраты имеют сходство к P-гликопротеину, возможно влияние полиморфных вариантов гена ABCB1 на безопасность данного препарата.

Цель исследования – анализ ассоциации полиморфизмов генов CYP3A5, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 и ABCB1 с безопасностью терапии феназепамом при синдроме отмены алкоголя (СОА).

Пациенты и методы. В исследование было включено 102 пациента с диагнозом неосложненного СОА (F10.30 по МКБ-10). Все пациенты наблюдались 6 сут, в течение которых принимали феназепам. У каждого пациента было взято 5 мл венозной крови для генотипирования. Носительство полиморфных вариантов CYP3A4*22, CYP3A5*3, CYP2C9*2, *17, CYP2C9*2, ABCB1 3435C>T, 1236C>T и 2677G>T/A определялось методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. На 6-е сутки оценивалась безопасность проводимой терапии посредством шкалы оценки нежелательных эффектов (UKU Side Effect Rating Scale). Статистическая обработка проведена в программе SPSS Statistics 21.0. Гаплотипический и комбинаторный анализ выполнен с помощью программы SNPStats.

Результаты и обсуждение. Большая субъективная выраженность неблагоприятных реакций (НР) была показана для гомозигот ABCB1 1236C>T CC (отношение шансов, ОШ 2,154; 95% доверительный интервал, ДИ 1,271–3,650; p=0,014) и ABCB1 2677G>T GG (ОШ 2,154; 95% ДИ 1,271–3,650; p=0,014). Комбинаторный анализ, напротив, выявил роль полиморфных аллелей ABCB1 3435C>T, 1236C>T и 2677G>T как предикторов большей субъективной выраженности НР. Статистически значимыми были следующие сочетания полиморфных вариантов гена ABCB1 3435-1236-2677 и изоферментов цитохрома P450: T-T-T-CYP3A5*3 (ОШ 5,03; 95% ДИ 1,65–15,34; p=0,0056); T-T-T-CYP2C9*1 (ОШ 3,61; 95% ДИ 1,31–9,92; p=0,015); T-T-T-CYP2C19*1 (ОШ 2,52; 95% ДИ 1,05–6,08; p=0,042). Также установлена ассоциация нарушений концентрации внимания с носительством T-T-T-CYP2D6*1 (ОШ 2,58; 95% ДИ 1,08–6,13; p=0,035).

Заключение. Носительство гаплотипа ABCB1 3435-2677-1236 (T-T-T) значимо связано с усилением выраженности НР у пациентов с СОА, принимающих феназепам.

Ключевые слова: феназепам; синдром отмены алкоголя; фармакогенетика; гаплотипы; цитохромы P450; P-гликопротеин.

Контакты: Дмитрий Алексеевич Сычев; Dmitry.alex.sychev@gmail.com

Для ссылки: Ивашенко ДВ, Терещенко ОВ, Темирбулатов ИИ и др. Фармакогенетика безопасности феназепама при синдроме отмены алкоголя: гаплотипический и комбинаторный анализ полиморфных вариантов генов фармакокинетических факторов. Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2020;12(2):17–22. DOI: 10.14412/2074-2711-2020-2-17-22

Pharmacogenetics of the safety of phenazepam in alcohol withdrawal syndrome: haplotype and combinatorial analyses of polymorphic variants in the pharmacokinetic factor genes

Ivashchenko D.V.¹, Tereshchenko O.V.², Temirbulatov I.I.¹, Akmalova K.A.¹, Grishina E.A.¹, Zastrozhin M.S.^{1,3}, Savchenko L.M.¹, Bryun E.A.^{1,3}, Sychev D.A.¹

¹Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Ministry of Health of Russia, Moscow;

²Mental Health Research Center, Moscow; ³Moscow Research and Practical Center of Addictions, Moscow Healthcare Department, Moscow

¹2/1, Barrikadnaya St., Build. 1, Moscow 125993, Russia; ²34, Kashirskoe Shosse, Moscow 115230, Russia;

³37/1, Lyublinskaya St., Moscow 109390, Russia

Phenazepam is a benzodiazepine tranquilizer that is widely used in Russia. The drug is metabolized by cytochrome P450 3A (CYP3A) isozymes. Since their substrates have an affinity for P-glycoprotein, the polymorphic variants in the ABCB1 gene may affect the safety of this drug.

Objective: to analyze associations between the CYP3A5, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 and ABCB1 gene polymorphisms and the safety of phenazepam treatment for alcohol withdrawal syndrome (AWS).

Patients and methods. The investigation enrolled 102 patients diagnosed with uncomplicated AWS (ICD-10 code F10.30). All the patients were followed up for 6 days within which they took phenazepam. 5-ml venous blood samples were collected from each patient for genotyping. The carriage of CYP3A4*22, CYP3A5*3, CYP2C19*2, CYP2C19*17, CYP2C9*2, ABCB1 3435C>T, 1236C>T, and 2677G>T/A polymorphic variants was determined by a real-time polymerase chain reaction assay. Therapy safety was evaluated using the UKU Side-Effect Rating Scale on day 6. Statistical analysis was carried out with SPSS Statistics 21.0. Haplotype and combinatorial analyses were performed using SNPStats.

Results and discussion. The greater subjective severity of adverse reactions (ARs) was shown for the homozygotes of ABCB1 1236C>T CC (odds ratio (OR), 2.154; 95% confidence interval (CI), 1.271–3.650; $p=0.014$) and ABCB1 2677G>T GG (OR, 2.154; 95% CI, 1.271–3.650; $p=0.014$). On the contrary, a combinatorial analysis revealed the role of ABCB1 3435C>T, 1236C>T, and 2677G>T polymorphic alleles as predictors for the greater subjective severity of ARs. The following statistically significant polymorphic variant combinations were ABCB1 3435-1236-2677 and T-T-T-CYP3A5*3 isozymes (OR=5.03; 95% CI, 1.65–15.34; $p=0.0056$); T-T-T-CYP2C9*1 (OR=3.61; 95% CI, 1.31–9.92; $p=0.015$); T-T-T-CYP2C19*1 (OR=2.52; 95% CI, 1.05–6.08; $p=0.042$). Attention disorders were also established to be associated with the carriage of T-T-T-CYP2D6*1 (OR=2.58; 95% CI, 1.08–6.13; $p=0.035$).

Conclusion. The carriage of ABCB1 3435-2677-1236 (T-T-T) haplotype is significantly associated with the greater severity of ARs in phenazepam-treated patients with AWS.

Keywords: phenazepam; alcohol withdrawal syndrome; pharmacogenetics; haplotypes; cytochromes P450; P-glycoprotein.

Contact: Dmitry Alekseevich Sychev; Dmitry.alex.sychev@gmail.com

For reference: Ivashchenko DV, Tereshchenko OV, Temirbulatov II, et al. Pharmacogenetics of the safety of phenazepam in alcohol withdrawal syndrome: haplotype and combinatorial analyses of polymorphic variants in the pharmacokinetic factor genes. *Nevrologiya, neiropsikhiatriya, psikhosomatika = Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics.* 2020;12(2):17–22. DOI: 10.14412/2074-2711-2020-2-17-22

Феназепам – бензодиазепиновый транквилизатор, который широко применяется на территории России по ряду показаний: купирование синдрома отмены алкоголя (СОА), тревожные и панические расстройства, психотические состояния и др. Прием феназепама сопряжен с развитием нежелательных реакций (НР) разной степени тяжести [1], однако персонализированные подходы к его назначению в реальной клинической практике ранее не изучались.

Метаболизм бензодиазепиновых транквилизаторов осуществляется изоферментами цитохрома P450 CYP3A4, CYP3A5 и CYP2C19 [2]. Имеются также сообщения о роли в этом процессе CYP2D6 и CYP2C9 [3, 4]. Установлено, что изоферменты CYP3A4 и CYP3A5 – основные факторы метаболизма феназепама [2, 5]. Роль генов CYP3A5, CYP2C9, CYP2C19 в прогнозировании риска развития отдельных НР была показана нами ранее в клиническом фармакогенетическом исследовании [6].

Гены изоферментов CYP3A4 и CYP3A5 располагаются на соседних локусах 7-й хромосомы [7]. Благодаря структурной близости их молекул до 85% субстратов являются для них общими [8]. CYP3A5 часто составляет не менее 50% экспрессируемых изоферментов семейства CYP3A [7, 8]. Ген CYP3A4 является низкополиморфным, особенно у европеоидов [7]. CYP3A5 считается высокополиморфным – описано до 25 его аллельных вариантов (обозначаются как *1п*9); функциональным аллелем считается CYP3A5*1 [9]. У европеоидов очень распространен полиморфный вариант гена CYP3A5*3 (*rs776746*, A>G), который характеризуется сниженной экспрессией фермента – носители генотипа CYP3A5*3/*3 не экспрессируют его вовсе [9]. При носительстве CYP3A5*1 более 50% субстратов CYP3A метаболизируются изоферментом CYP3A5. По разным данным, от 82 до 95% европеоидов являются носителями CYP3A5*3 или аллеля G данного полиморфизма [9].

Ген CYP2C19 насчитывает более 30 полиморфных вариантов (от CYP2C19*1A до *35) [10]. Основными полиморфизмами, ассоциированными с замедлением скорости метаболизма субстратов CYP2C19, являются CYP2C19*2 и

CYP2C19*3 [10]. Другой активно изучаемый полиморфизм (CYP2C19*17) связан с ускорением метаболизма субстратов CYP2C19, так как приводит к увеличению экспрессии белка в печени даже при гетерозиготном носительстве [11].

Активность CYP2C9 также является генетически детерминированной [12]. Два наиболее клинически значимых полиморфных варианта гена CYP2C9 – CYP2C9*2 (*rs1799853*) и CYP2C9*3 (*rs1057910*). Их носительство ассоциировано с замедлением активности изофермента CYP2C9 [12]. Изофермент цитохрома P450 CYP2D6 считается вторым по значимости метаболизатором лекарственных средств (ЛС) – он осуществляет оксидацию (I фаза метаболизма) 30–35% применяемых медикаментов [13]. Кроме того, CYP2D6 участвует в метаболизме большинства психотропных препаратов [13]. Активность данного цитохрома генетически детерминирована; ген CYP2D6 – высокополиморфный, на сегодня известно более 100 его вариантов [12, 13]. Полиморфизмы CYP2D6*3, *4, *5, *6 связаны с медленной скоростью метаболизма (низкая активность, низкая экспрессия белка), CYP2D6*10, *17, *29 и *41 – с «промежуточным» типом метаболизма; дупликация или мультипликация активных аллельных вариантов CYP2D6*1 и *2 приводит к повышенной активности изофермента [13]. Но стоит повторить, что роль CYP2D6 в метаболизме бензодиазепиновых транквилизаторов незначительна, в частности, он принимает участие в метаболизме бромазепама [4].

Важно учитывать не только метаболизм ксенобиотиков в печени, но и роль транспортных белков – их влияние на плазменную концентрацию препаратов бывает очень велико. Ген ABCB1 (multidrug resistance gene 1 – MDR1) кодирует транспортный белок P-гликопротеин (P-гр) из семейства АТФ-зависимых трансмембранных переносчиков [14]. Более высокая активность P-гр сопровождается снижением всасывания ЛС и его проникновения через гематоэнцефалический барьер [15]. Известно, что P-гр и цитохром CYP3A4 имеют общие субстраты: следовательно, генетические полиморфизмы ABCB1 могут значимо влиять на эффективность и безопасность субстратов CYP3A4 [16]. Наи-

более изученными полиморфизмами *ABCB1* считаются: *1236C>T*, *2677G>T/A* и *3435C>T*. На примере полиморфизма *3435C>T* впервые было показано, что ген *ABCB1* влияет на биодоступность ЛС в организме [14]. Носительство генотипа *3435TT* приводит к снижению экспрессии белка-переносчика, в результате повышается проницаемость мембранных барьеров для ЛС. В фармакогенетических исследованиях с этим связывают возрастание уровня в плазме крови субстратов Р-гр, а также более стойкий эффект психотропных средств [17]. Обратная картина – лекарственная резистентность – наблюдается у носителей генотипа *3435CC*, ее объясняют повышенной экспрессией Р-гр и, как следствие, снижением проникновения ЛС через мембраны [18]. Однако данные метаанализа не подтвердили связь полиморфизма *3435C>T* с резистентностью к антиконвульсантам [19]. Несмотря на опровержения, этот биомаркер активно изучается с целью использования его при персонализированном подходе к фармакотерапии [14].

Поскольку феназепам зарегистрирован только в некоторых странах, в литературе отсутствуют публикации, посвященные его фармакогенетическим исследованиям. Таким образом, необходимо изучение ассоциации фармакогенетических биомаркеров с безопасностью применения феназепама в клинической практике. Полученные данные могут указывать на генетические факторы риска и других бензодиазепиновых транквилизаторов, что является актуальным ввиду их широкой распространенности в клинической практике.

Цель исследования – оценка влияния полиморфизмов генов *CYP3A5*, *CYP2C9*, *CYP2C19*, *CYP2D6* и *ABCB1* на профиль безопасности феназепама при СОА с помощью гаплотипического анализа.

Пациенты и методы. В исследование вошли 102 пациента мужского пола с диагнозом неосложненного СОА (F10.30 по МКБ-10), страдавшие синдромом алкогольной зависимости (F10.2 по МКБ-10). Включение в исследование происходило в первые 24 ч после госпитализации. От каждого пациента было получено добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии включения: 1) возраст от 18 до 55 лет с целью нивелирования влияния возрастных особенностей на безопасность бензодиазепинов; 2) отсутствие осложнений СОА на момент госпитализации; 3) отсутствие коморбидного психического расстройства; 4) отсутствие противопоказаний для приема транквилизаторов из группы бензодиазепинов; 5) отрицательный экспресс-тест на наркотики при госпитализации; 6) согласие пациента на участие в исследовании. **Критерии не включения:** 1) несоответствие любому из критериев включения; 2) наличие хронического соматического заболевания в стадии декомпенсации, требующего лечения в отделении интенсивной терапии. **Критерии исключения:** 1) развитие тяжелых осложнений СОА (делирий, судорожные припадки); 2) непереносимость транквилизаторов из группы бензодиазепинов; 3) отказ больного от продолжения участия в исследовании.

Динамическое наблюдение за участниками исследования продолжалось 5 сут, согласно общепринятым клиническим рекомендациям и стандартам оказания медицинской помощи при СОА. В этот период пациенты получали детоксикационную и медикаментозную терапию, в состав которой обязательно входил транквилизатор из группы бензодиазе-

пинов. В 100% случаев применялся феназепам (бромдигидрохлорфенилбензодиазепин; Фензитат, таблетки по 1 мг, ОАО «Татхимфармпрепарат», Казань, Россия). Кроме того, небольшое число пациентов принимали карбамазепин (таблетки по 200 мг, ЗАО «АЛСИ Фарма» Москва, Россия) и/или Паглюферал 3 (содержит фенобарбитал, папаверин, кальция глюконат, бромизовал, кофеин-бензоат натрия, таблетки по 100 мг, ЗАО «Московская фармацевтическая фабрика», Москва, Россия). Назначение карбамазепина во время купирования СОА проводилось по усмотрению лечащего врача, суточная доза всегда составляла 300 мг. Паглюферал также назначался по усмотрению лечащего врача в дозе 200 мг на ночь для усиления снотворного эффекта бензодиазепинов. На 6-е сутки оценивали наличие НР с помощью шкалы оценки нежелательных эффектов (UKU Side-Effects Rating Scale), а также брали для анализа 5 мл венозной крови. Кровь замораживали при -70°C и транспортировали в лабораторию для выделения ДНК и генотипирования.

Лабораторные исследования. ДНК выделяли сорбентным методом с использованием реактивов ЗАО «Синтол» (Москва, Россия). Количество и качество экстрагированной ДНК тестировали на пригодность для последующих ферментативных реакций с помощью спектрофотометра для микрообъемов NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, NY, США). В каждый раунд экстракции включали контроль на контаминацию ДНК Homo sapiens. Образцы ДНК хранились в элюирующем буфере при температуре -80°C . Определение полиморфных вариантов генов *CYP3A4*22*, *CYP3A5*3*, *CYP2C19*2*, **17*, *CYP2C9*2*, *ABCB1 3435C>T*, *1236C>T* и *2677G>T/A* осуществляли с помощью коммерческих наборов для амплификации (детектирующий амплификатор CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System, Bio-Rad, США). Метод полимеразной цепной реакции основан на многократном избирательном копировании определенного участка ДНК посредством фермента ДНК-зависимой ДНК-полимеразы в условиях *in vitro*.

Обработка результатов. Для статистической обработки результатов использовали программу SPSS Statistics 21.0. Анализ ассоциаций проводили с помощью критерия χ^2 и точного критерия Фишера. Чувствительность и специфичность биомаркеров рассчитывали с применением таблицы сопряженности 2×2 , точного критерия Фишера. Для установления предиктивной роли полиморфных вариантов в отношении риска развития непереносимости феназепама был проведен логистический регрессионный анализ. Для гаплотипического анализа использован онлайн-инструмент SNPStat [20], реализованный на основе метода логистического регрессионного анализа. Под гаплотипическим анализом подразумевается анализ ассоциаций полиморфизмов одного гена с фенотипическим признаком (в данном случае – конкретной НР, согласно шкале UKU Side Effects Rating Scale). Мы также включили в гаплотипический анализ сочетания полиморфных вариантов разных генов изоферментов цитохрома P450: *CYP3A5*3*, *CYP2C9*, *CYP2C19*. Для коррекции значения *p* в результате проведения множественного анализа гаплотипов была введена поправка Бонферрони.

Результаты. Влияние одиночных полиморфизмов на риск развития НР при приеме феназепама. Данные о связи отдельных полиморфных вариантов *CYP3A5*3*, *CYP2C9*3*, *CYP2C19*2* с риском развития НР при приеме феназепама были опубликованы нами ранее [6].

Результаты гаплотипического анализа риска развития НР в комбинациях с полиморфизмами гена *ABCB1* в общей выборке пациентов ($n=102$)

НР	Гаплотип	Частота	ОШ (95% ДИ)	p	Значимость, согласно поправке Бонферрони
Большая выраженность по мнению пациента	<i>T-T-T-CYP3A5*3</i>	<i>ABCB1 3435-1236-2677-CYP3A5*3</i> 0,36	5,03 (1,65–15,34)	0,0056	<0,007
Большая выраженность по мнению пациента	<i>T-T-T-CYP2C9*1</i>	<i>ABCB1 3435-1236-2677-CYP2C9</i> 0,3383	3,61 (1,31–9,92)	0,015	<0,007
Большая выраженность по мнению пациента	<i>T-T-T-CYP2C19*1</i>	<i>ABCB1 3435-1267-2677-CYP2C19</i> 0,3136	2,52 (1,05–6,08)	0,042	<0,007
Нарушения концентрации внимания	<i>T-T-T-CYP2D6*1</i>	<i>ABCB1 3435-1236-2677-CYP2D6</i> 0,3473	2,58 (1,08–6,13)	0,035	<0,007

Генотип *ABCB1 3435C>T CC* играет протективную роль: снижает риск общей выраженности НР по мнению пациента (отношение шансов, ОШ=0,238; 95% доверительный интервал, ДИ 0,08–0,67; $p=0,01$), чувствительность – 40%, специфичность – 14,3%.

Показано, что полиморфный вариант *ABCB1 1236C>T* является значимым предиктором развития НР при терапии феназепамом. Так, большая субъективная выраженность НР показана для гомозигот *CC* (ОШ 2,154; 95% ДИ 1,271–3,650; $p=0,014$), чувствительность – 42,4% и специфичность – 82,6%. Аналогичные результаты получены для полиморфного варианта *ABCB1 2677G>T*: гомозиготы *GG* имели более высокий риск возникновения НР, согласно субъективной оценке пациента (ОШ 2,154; 95% ДИ 1,271–3,650; $p=0,014$), чувствительность – 42,4%, специфичность – 82,6%. Наиболее вероятно, одинаковая частота обусловлена высокой сцепленностью полиморфизмов *1236C>T* и *2677G>T*.

Но выявлены также и особенные ассоциации для двух полиморфных вариантов *ABCB1*. В частности, носители аллеля *C* полиморфизма *ABCB1 1236C>T* чаще отмечали снижение концентрации внимания (ОШ 1,225; 95% ДИ 1,061–1,415; $p=0,038$), чувствительность – 27,4%, специфичность – 94,4%; носители аллеля *G* полиморфизма *ABCB1 2677G>T* – нарушение аккомодации глаз (ОШ 1,324; 95% ДИ 1,177–1,489; $p=0,045$); носители генотипа *TT* ни разу не указали на данный побочный эффект, поэтому расчет чувствительности и специфичности не представлялся возможным.

Логистическая регрессия. Был проведен логистический регрессионный анализ, в который как ковариаты были включены полиморфные варианты *CYP2C9*2*, *CYP2C9*3*, *CYP2C19*2*, *CYP2C19*17*, *ABCB1 3435C>T*, *1236C>T*, *2677G>T*; в качестве независимой переменной выступало наличие НР по субъективной оценке пациента. Модель строилась методом обратного отбора ковариат с пошаговым исключением и является надежной по предиктивной роли: $V=1,073$; стандартная ошибка = 0,227; $\text{Exp}(V)=2,923$; $p=0,0001$.

В результате значимый вклад в риск развития НР внесли только полиморфный вариант *CYP3A5*3* (ОШ 3,242; 95% ДИ 1,048–10,280; $p=0,041$). Показана предиктивная

роль генотипа *CC* локуса *ABCB1 3435C>T* (ОШ 0,216; 95% ДИ 0,076–0,611; $p=0,004$). Это означает, что отсутствие аллеля *T*, ассоциированного со снижением активности Р-gp, уменьшает риск развития побочных реакций на феназепам.

Гаплотипический и комбинаторный анализ. Ранее нами было установлено наличие определенных ассоциаций между гаплотипами полиморфных вариантов генов, кодирующих изоферменты цитохрома P450, и параметрами безопасности феназепама [6]. В частности, гаплотип *CYP3A5*3-CYP2C19*2-CYP2C19*17 G-G-T* был связан с нарушением концентрации внимания (ОШ 2,86; 95% ДИ 0,96–8,50; $p=0,061$), частота гаплотипа – 22,2%. Остальные гаплотипы демонстрировали протективный эффект: они ассоциировались с меньшим риском развития НР у пациентов [6].

Анализ ассоциаций комбинаций гаплотипов *ABCB1* и полиморфизмов генов, кодирующих изоферменты цитохрома P450. Ряд значимых результатов был получен при анализе ассоциации исследуемых полиморфизмов с параметрами безопасности феназепама в комбинациях из полиморфных вариантов гена *ABCB1* и одного из генов системы цитохрома P450. Наличие гаплотипа *ABCB1 3435-1236-2677-CYP2D6*4 (T-T-T-CYP2D6*1)* повышало риск развития нарушений концентрации внимания.

Носительство *ABCB1 3435-1236-2677-CYP3A5*3 (T-T-T-CYP3A5*3)* было ассоциировано с ухудшением переносимости терапии по субъективной оценке пациента, аналогичная закономерность была прослежена для гаплотипов *ABCB1 3435-1236-2677-CYP2C9 (T-T-T-CYP2C9*1)* и *ABCB1 3435-1267-2677-CYP2C19 (T-T-T-CYP2C19*1)*. Подробные данные представлены в таблице.

Обсуждение. Установлено, что полиморфные варианты гена *ABCB1* ассоциированы с НР феназепама у пациентов с СОА. В нашем исследовании носительство полиморфного аллеля *ABCB1* в составе гаплотипа приводило к увеличению вероятности развития НР. Но отдельные полиморфные варианты *ABCB1 1236C>T* и *2677G>T/A* продемонстрировали парадоксальные ассоциации: гомозиготы «дикого» типа значимо соотносились с ухудшением переносимости феназепама. Но гаплотипический и комбинаторный анализ не подтвердил данные находки.

Носительство полиморфизма гена *ABCB1* должно приводить к сниженной активности эффлюксного транспортера Р-гр, что выражается в повышении плазменной концентрации ЛС, большей выраженности НР у пациента. До настоящего времени практически не проводилось исследований, посвященных влиянию полиморфных вариантов *ABCB1* на безопасность бензодиазепинов, что затрудняет сравнение полученных нами данных с результатами других авторов. В нашей работе обнаружены ассоциации, подтверждающие участие Р-гр в метаболизме феназепама: есть значимые ассоциации полиморфных вариантов *ABCB1* с параметрами безопасности данного препарата.

В настоящем исследовании наиболее значимым является влияние комбинации *ABCB1 1236-2677-3435* и *CYP3A5*3* на большую выраженность НР, субъективно ощущаемую пациентом. Другие выявленные ассоциации комбинаций были статистически незначимыми после введения поправки Бонферрони на множественные сравнения. Но стоит отметить, что гаплотипы *ABCB1* в остальных случаях сочетались с «дикими» генотипами *CYP2C19*, *CYP2C9*, *CYP2D6*. Таким образом, выявлено ухудшение переносимости феназепама у пациентов со сниженной функцией Р-гр

при условии нормальной активности изоферментов *CYP3A5*, *CYP2C19*, *CYP2C9*, *CYP2D6*. Это говорит о важной роли белка-переносчика в фармакокинетике препарата, а также о его клиническом значении как предиктора развития НР. Важно, что носительство полиморфного аллеля *CYP3A5*3* в гетерозиготном состоянии приводит к нормальной активности данного изофермента, поэтому сочетание гаплотипа *ABCB13435-2677-1236 (T-T-T)* с *CYP3A5*3* также укладывается в общую концепцию.

Заключение. Было установлено, что носительство гаплотипа *ABCB1 3435-2677-1236 (T-T-T)* значимо ассоциировано с усилением выраженности НР у пациентов с СОА, принимающих феназепам. Вклад данного гаплотипа являлся значимым при отсутствии носительства полиморфных вариантов генов изоферментов цитохрома Р450, участвующих в метаболизме феназепама. Таким образом, полиморфные варианты гена *ABCB1* являются значимыми прогностическими факторами безопасности применения феназепама. Однако ввиду наличия парадоксальных ассоциаций рекомендуется использовать гаплотипический анализ полиморфных вариантов *ABCB1 3435 C>T*, *2677 G>T*, *1236 C>T*.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Ладыженский МЯ, Городничев АВ, Костюкова ЕГ. Бензодиазепиновые анксиолитики: востребованы ли они сегодня? Современная терапия психических расстройств. 2014;(2):20-5.
2. [Ladyzhenskii MYa, Gorodnichev AV, Kostyukova EG. Benzodiazepine anxiolytics: demand are they today? *Sovremennaya terapiya psikhicheskikh rasstroivst*. 2014;(2):20-5. (In Russ.)].
3. Fukasawa T, Suzuki A, Otani K. Effects of genetic polymorphism of cytochrome P450 enzymes on the pharmacokinetics of benzodiazepines. *J Clin Pharm Ther*. 2007 Aug;32(4):333-41.
4. Ham AC, Ziere G, Broer L, et al. CYP2C9 Genotypes Modify Benzodiazepine-Related Fall Risk: Original Results From Three Studies With Meta-Analysis. *J Am Med Dir Assoc*. 2017 Jan;18(1):88.e1 88.e15.
5. Whirl-Carrillo M, McDonagh EM, Hebert JM, et al. Pharmacogenomics Knowledge for Personalized Medicine. *Clin Pharmacol Ther*. 2012 Oct;92(4):414-7. doi: 10.1038/clpt.2012.96.
6. Ivashchenko DV, Rudik AV, Poloznikov AA, et al. Which cytochrome P450 does metabolize Phenazepam? Step by step in silico, in vitro and in vivo studies. *Drug Metab Pers Ther*. 2018 Jun 27;33(2):65-73. doi: 10.1515/dmpt-2017-0036.
7. Иващенко ДВ, Рыжикова КА, Созаева ЖА и др. Влияние полиморфизмов генов *CYP3A5*, *CYP2C9*, *CYP2C19* и *CYP2D6* на профиль безопасности феназепама при синдроме отмены алкоголя. Вестник РАМН. 2018;73(3):206-14.
8. [Ivashchenko DV, Ryzhikova KA, Sozaeva ZhA, et al. Impact of *CYP3A5*, *CYP2C9*, *CYP2C19*, and *CYP2D6* Polymorphisms on Phenazepam Safety in Patients with Alcohol Withdrawal Syndrome. *Vestnik RAMN*. 2018;73(3):206-14. (In Russ.)].
9. de Jonge H, Elens L, de Loor H, et al. The CYP3A4*22 C>T single nucleotide polymorphism is associated with reduced midazolam and tacrolimus clearance in stable renal allograft recipients. *Pharmacogenomics J*. 2015 Apr;15(2):144-52. doi: 10.1038/tj.2014.49. Epub 2014 Oct 7.
10. Kuehl P, Zhang J, Lin Y, et al. Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nat Genet*. 2001 Apr;27(4):383-91.
11. Werk AN, Cascorbi I. Functional gene variants of CYP3A4. *Clin Pharmacol Ther*. 2014 Sep;96(3):340-8. doi: 10.1038/clpt.2014.129. Epub 2014 Jun 13.
12. Hiratsuka M. Genetic Polymorphisms and in Vitro Functional Characterization of CYP2C8, CYP2C9, and CYP2C19 Allelic Variants. *Biol Pharm Bull*. 2016;39(11):1748-1759.
13. Fricke-Galindo I, Cespedes-Garro C, Rodrigues-Soares F, et al. Interethnic variation of CYP2C19 alleles, 'predicted' phenotypes and 'measured' metabolic phenotypes across world populations. *Pharmacogenomics J*. 2016 Apr;16(2):113-23. doi: 10.1038/tj.2015.70
14. Zanger UM, Schwab M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacol Ther*. 2013 Apr;138(1):103-41. doi: 10.1016/j.pharmthera.2012.12.007. Epub 2013 Jan 16.
15. Lerena A, Naranjo ME, Rodrigues-Soares F, et al. Interethnic variability of CYP2D6 alleles and of predicted and measured metabolic phenotypes across world populations. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2014 Nov;10(11):1569-83. doi: 10.1517/17425255.2014.964204.
16. Wolking S, Schaeffeler E, Lerche H, et al. Impact of Genetic Polymorphisms of ABCB1 (MDR1, P-Glycoprotein) on Drug Disposition and Potential Clinical Implications: Update of the Literature. *Clin Pharmacokinet*. 2015 Jul;54(7):709-35. doi: 10.1007/s40262-015-0267-1.
17. Kwan P, Brodie MJ. Early identification of refractory epilepsy. *N Engl J Med*. 2000 Feb 3;342(5):314-9.
18. Cascorbi I, Haenisch S. Pharmacogenetics of ATP-binding cassette transporters and clinical implications. *Methods Mol Biol*. 2010;596:95-121
19. Candiotti K, Yang Z, Xue L et al. Single-Nucleotide Polymorphism C3435T in the ABCB1 Gene is Associated with Opioid Consumption in Postoperative Pain. *Pain Med*. 2013 Dec;14(12):1977-84. doi: 10.1111/pme.12226. Epub 2013 Aug 19.
20. Aronica E, Sisodiya SM, Gorter JA. Cerebral expression of drug transporters in epilepsy. *Adv Drug Deliv Rev*. 2012 Jul;64(10):919-29. doi: 10.1016/j.addr.2011.11.008. Epub 2011 Nov 29.
21. Haerian BS, Lim KS, Tan CT, et al. Association of ABCB1 gene polymorphisms and their haplotypes with response to antiepileptic drugs: a systematic review and meta-analysis. *Pharmacogenomics*. 2011 May;12(5):713-25. doi: 10.2217/pgs.10.212. Epub 2011 Mar 11.
22. Sole X, Guino E, Valls J, et al. SNPStats: a web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics*. 2006 Aug 1;22(15):1928-9. Epub 2006 May 23.

Поступила/отрецензирована/принята к печати
Received/Reviewed/Accepted
8.01.2020/2.02.2020/3.03.2020

Заявление о конфликте интересов/Conflict of Interest Statement

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, проект №18-315-00005. Конфликт интересов отсутствует. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать. Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.

This investigation has been supported by the Russian Foundation for Basic Research, Projects No. 18-315-00005. There are no conflicts of interest. The authors are solely responsible for submitting the final version of the manuscript for publication. All the authors have participated in developing the concept of the article and in writing the manuscript. The final version of the manuscript has been approved by all the authors.

Ивашенко Д.В. <https://orcid.org/0000-0002-2295-7167>
Терещенко О.В. <https://orcid.org/0000-0001-5937-3395>
Темирбулатов И.И. <https://orcid.org/0000-0002-1242-0833>
Акмалова К.А. <http://orcid.org/0000-0003-3505-8520>
Гришина Е.А. <https://orcid.org/0000-0002-5621-8266>
Застрожин М.С. <https://orcid.org/0000-0002-3964-9726>
Савченко Л.М. <http://orcid.org/0000-0002-2411-3494>
Брюн Е.А. <https://orcid.org/0000-0001-7790-9595>
Сычев Д.А. <http://orcid.org/0000-0002-4496-3680>