

УДК: 612.6.05-072.85

## Использование $^{13}\text{C}$ -дыхательных тестов в современной клинической практике- актуальное направление индивидуализации лекарственной терапии

И.Л. Кляритская, Ю.С. Работягова

## Using $^{13}\text{C}$ -respiratory tests in modern clinical practice- current trend for personalizing drug therapy

I.L. Klyaritskaya, Y.S. Rabotjagova

*ГУ «Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского», г. Симферополь*

**Ключевые слова:**  $^{13}\text{C}$ -дыхательные тесты, цитохром P450, реакции биотрансформации

**К**раткая история развития дыхательных тестов

Использование врачами выдыхаемого воздуха пациента для диагностики и лечения некоторых заболеваний было известно медицине на протяжении многих веков со времен Гиппократов. Тем не менее, с появлением различных диагностических методик, таких как анализ крови / мочи / слюны, рентгеновских методов исследования, МРТ, КТ, УЗИ, биопсии, генетических тестов, и т.д., анализ выдыхаемого воздуха отошел на задний план. Пионером современных химических анализов выдыхаемого воздуха был Antoine Lavoisier. Он был первый, кто произвел химический анализ выдыхаемого воздуха и определил в его составе диоксид углерода. В 19 веке химики разрабатывали дыхательные тесты для определения содержания этилового спирта и ацетона в выдыхаемом воздухе. Современная эра дыхательных тестов началась с 1970-х годов, когда Linus Puling обнаружил, что выдыхаемый человеком

воздух, представляет собой сложную смесь газов, содержащую более 200 различных летучих органических соединений в пиколярных концентрациях (14). За это открытие он был удостоен Нобелевской премии. С тех пор, анализ выдыхаемого воздуха постепенно «набирает обороты», как быстрый, неинвазивный вариант для диагностики болезней или оценки метаболизирующей активности ферментов системы CYP450 (12).

В пробах выдыхаемого воздуха было обнаружено около 4000 летучих органических соединений и некоторые из них были связаны с определенным заболеванием (15). Летучие органические соединения в выдыхаемом воздухе стали исследоваться как биомаркеры болезней совсем недавно, а ряд  $^{13}\text{C}$ -меченых субстратов стал использоваться в ка-

*195006, Украина, Симферополь, Крым, бульв. Ленина 5/7, e-mail office@csmu.strace.net*

честве зондов для оценки деятельности различных ферментов (12).

Биомаркеры, содержащиеся в выдыхаемом воздухе, могут быть разделены на две группы:

- метаболиты, такие как  $^{13}\text{CO}_2$  или  $^{14}\text{CO}_2$ , которые появляются после приема меченого препарата или субстрата;
- компоненты, возникающие эндогенно вследствие особого физиологического состояния или заболевания.

### **$^{13}\text{CO}_2$ биомаркеры, используемые для диагностики заболеваний и индивидуализации лекарственной терапии**

$^{13}\text{CO}_2$ -меченные субстраты в качестве диагностических проб широко используются на протяжении последних 30 лет в научно-исследовательских лабораториях. В течение последних трех десятилетий были опубликованы данные о  $^{13}\text{C}$ -дыхательных тестах для некоторых клинических показаний.

Межличностные различия метаболизма лекарственных препаратов являются важной причиной возникновения побочных реакций, а именно возникновение токсичности и отсутствия эффективности при приеме лекарственного средства. Большинство ферментов, участвующих в I и II фазах метаболизма лекарственных препаратов и являющиеся важнейшими факторами клинического исхода лекарственной терапии, полиморфны. Поэтому в последнее время был сделан акцент на использовании *in vivo*  $^{13}\text{C}$ -меченого маркера в качестве дыхательного теста для определения конкретного изофермента CYP450. Это позволит обнаружить недостаток фермента, оценить скорость метаболизма препарата, ингибирование субстратом фермента, а также уровень активности фермента. Эти дыхательные тесты, определяющие фенотип фермента, являются быстрой (занимают по времени менее 1 ч), неинвазивной методикой, использующие две пробы воздуха: до и после принятия меченого препарата или субстрата (12).

### **Будущее дыхательных тестов**

#### **$^{13}\text{C}$ -пантопразоловый дыхательный тест для определения полиморфизма фермента CYP2C19 и оптимизации лекарственной терапии**

Ферменты группы CYP450 в печени катализируют начальные реакции биотрансформации ксенобиотиков. Известно, что в организме человека существует более 50 изоферментов CYP450, они разделены на 17 семейств и 39 подсемейств на основе сходства аминокислотной последовательности. Основная часть метаболизма лекарственных препаратов осуществляется несколькими членами семейства CYP 1, 2 и 3 и происходит главным образом в печени,

которая содержит самую высокую концентрацию CYP450 в организме человека. В среднем, в печени взрослого человека вырабатывается 70% цитохрома P450 и состоит из следующих изоферментов: 1A2, 2A6, 2B6, подсемейства 2C (2C8, 2C9, 2C18 и 2C19), 2D6, 2E1 и подсемейства 3A (3A4 и 3A5) (3, 13).

Последние новые данные свидетельствуют о том, что межличностные и межэтнические различия в активности фермента CYP2C19 влияют на терапевтический ответ на некоторые лекарственные препараты, такие как ингибиторы протонной помпы, клопидогрел, циклофосамид и талидомид. Активность этого фермента сильно варьирует среди отдельных лиц, отчасти из-за полиморфизма гена CYP2C19, поскольку существует несколько вариантов аллелей, которые влияют на ферментативную активность, а также в результате воздействия некоторых препаратов, образа питания и химического загрязнения окружающей среды, которые могут ингибировать его активность. Также на ферментную активность CYP2C19 могут оказывать влияние некоторые болезненные состояния. На основании способности к метаболизму препаратов все люди могут быть классифицированы как лица с медленным метаболизмом (PM), с промежуточным метаболизмом (IM), с быстрым метаболизмом (EM) и со сверхбыстрым метаболизмом (UMS) CYP2C19 (1,2,3).

В последние годы была продемонстрирована потенциальная клиническая значимость межличностных различий активности CYP2C19 влияющая на результаты лечения его субстратами. Например, частота эрадикации *Helicobacter Pylori* у больных язвенной болезнью намного выше у медленных метаболизаторов (PM), чем у лиц с быстрым метаболизмом CYP2C19 (EM). Также существуют данные, что клинический ответ на клопидогрел и циклофосамид, два препарата, которые чтобы стать фармакологически активными требуют метаболической активации CYP2C19, может быть существенно снижен у больных с пониженной активностью CYP2C19 (у медленных метаболизаторов). Недавние исследования генетического полиморфизма аллелей гена CYP2C19 обнаружили снижение ингибирования тромбоцитов и увеличение сердечно-сосудистого риска у пациентов, получавших клопидогрел, являющимися носителями даже одной аллели гена CYP2C19 со сниженной функцией (1,2).

Несколько клинических исследований показали, что  $^{13}\text{C}$ -пантопразоловый дыхательный тест может быть полезным диагностическим методом для быстрой оценки активности фермента CYP2C19 и, возможно, позволит индивидуализировать терапию ингибиторами протонной помпы (ИПП) и клопидогрелем для конкретного пациента (1, 2, 16,17,18).

$^{13}\text{C}$ -пантопразоловый дыхательный тест предлагает большую практическую и клиническую ценность по сравнению с существующими подходами по определению генотипа в прогнозировании и оценке активности CYP2C19, особенно в раз-

делении медленных метаболитов (PM) от лиц с промежуточным метаболизмом (IM), CYP2C19. <sup>13</sup>C-пантопразоловый дыхательный тест – это быстрый *in vivo* тест, охватывающий изменение активности CYP2C19, возникающие вследствие генетических и эпигенетических факторов, в особенности из-за межлекарственных взаимодействий. Т.е. в отличие от генотипирования, <sup>13</sup>C-пантопразоловый дыхательный тест позволит определить изменение фенотипа фермента под влиянием внешних факторов (генотип остается неизменен, а фенотип меняется вследствие тех или иных условий) (12).

Таким образом, прогностический тест, способный оценить активность CYP2C19 будет ценным инструментом для оптимизации терапии и позволит избежать побочных эффектов препаратов, прежде всего тех, которые метаболизируются CYP2C19.

### **<sup>13</sup>C-декстрометорфановый дыхательный тест**

Цитохром P450 2D6 (CYP2D6) является примером ферментов, принимающих участие в обмене многих лекарственных препаратов и для которых информация о генотипе и фенотипе имеет важное значение, как для улучшения безопасности их применения, так для повышения эффективности (5).

В популяции активность фермента CYP2D6 сильно варьирует, это в свою очередь приводит к повышенному риску возникновения побочных эффектов у медленных метаболитов (PM) и к неудаче лечения у сверхбыстрых метаболитов (UM). Известно, что примерно 20-25% всех препаратов, использующихся в клинической практике, метаболизируются, по крайней мере, частично, CYP2D6. Среди них некоторые агонисты бета-рецепторов, антиаритмики, антидепрессанты, тамоксифен, антипсихотические (транквилизаторы) и производные морфина (3).

В последнее время внимание клиницистов привлекают последствия влияния низкой активности или отсутствия активности CYP2D6 на формирование высокоэстрогенного метаболита тамоксифена, эндоксифена, и таким образом, влияние на исходы лечения больных раком молочной железы. Поэтому <sup>13</sup>C-декстрометорфановый дыхательный тест представляется перспективным быстрым и минимально инвазивным фенотипическим анализом для определения активности CYP2D6 в естественных условиях (7).

Пациентам с низкой активностью фермента CYP2D6, не ответившим на терапию тамоксифеном, может быть назначен ингибитор ароматазы для предотвращения рецидива рака молочной железы. С помощью <sup>13</sup>C-декстрометорфанового дыхательного теста может быть персонализирована терапия психиатрическими препаратами, в том числе селективными ингибиторами обратного захвата серотонина и анальгетиками, такими как кодеин, трамадол и метадон (12).

### **<sup>13</sup>C-урациловый дыхательный тест**

5-фторурацил один из наиболее часто назначаемых препаратов при различных солидных опухолях, включая колоректальный рак и рак молочной железы. Например, только в США ежегодно 250 000–300 000 пациентов подвергаются лечению 5-фторурацилом (8). Из-за его узкого терапевтического индекса, важной клинической проблемой является возникновение тяжелых дозо-зависимых токсических реакций. У лиц с дефицитом фермента дигидропиримидиндегидрогеназы возможна повышенная чувствительность к препарату. Исследования показали, что около 31% больных раком, получающих болюсное введение 5-фторурацила испытывают гематологическую токсичность III-IV степени, а 40-60% из этих больных имеют недостаточность дигидропиримидиндегидрогеназы. <sup>13</sup>C-урациловый дыхательный тест может быстро оценить нарушение обмена пиримидина до начала терапии 5-фторурацилом (4, 9, 10, 12).

### **<sup>13</sup>C-пропионовый дыхательный тест для диагностики дефицита витамина B<sub>12</sub>**

Дефицит витамина B<sub>12</sub> может привести к необратимому повреждению нервной ткани при отсутствии лечения. Наиболее часто используемые диагностические тесты ограничены в точности, чувствительности и не являются специфичными для определения дефицита витамина B<sub>12</sub>. Дыхательный тест для обнаружения дефицита витамина B<sub>12</sub> основан на метаболизме натрий 1 – <sup>13</sup>C-пропионата с использованием витамина B<sub>12</sub> в качестве кофактора. Статистический анализ показал, тест может точно и надежно диагностировать дефицит витамина B<sub>12</sub> (19, 12).

### **<sup>13</sup>C-леводопа дыхательный тест**

Введение леводопы в 1960 году произвело революцию в лечении болезни Паркинсона и остается «золотым стандартом» лечения. К сожалению, только около 1-3% от введенной в организм леводопы поступает интактной в головной мозг. Существует два пути метаболизма L-допы, один из них осуществляется с помощью декарбоксилазы ароматических L-аминокислот, также известной как DOPA декарбоксилаза, которая превращает L-допу в дофамин, который не проникает через гематоэнцефалический барьер.

При болезни Паркинсона периферический уровень карбидопы может влиять на уровень центрального допамина посредством ингибирования DOPA-декарбоксилазы, что приводит к увеличению биодоступности леводопы. Последние данные свидетельствуют о том, что более высокие дозы карбидопы, чем те, которые в настоящее время используются для лечения болезни Паркинсона, могут привести к улучшению клинического от-

вета. Оптимизация дозы карбидопы у отдельных пациентов может привести к идеальной индивидуальной терапии.  $^{13}\text{C}$ -леводопа дыхательный тест может быть полезным неинвазивным диагностическим инструментом для оценки активности ДОРА-декарбоксилазы с использованием меченого  $^{13}\text{CO}_2$  в выдыхаемом воздухе и первым шагом в персонализации дозы карбидопы для пациентов с болезнью Паркинсона (11, 12).

### Литература

1. Desta Z, Modak A, Nguyen P D, Lemler S M, Kurogi Y, Li L and Flockhart D A 2009 Rapid identification of the hepatic cytochrome P450 2C19 activity using a novel and noninvasive [ $^{13}\text{C}$ ]-pantoprazole breath test J. Pharmacol. Exp. Ther. 329 297–305
2. Furuta T, Iwaki T and Umamura K 2010 [ $^{13}\text{C}$ ]-Pantoprazole breath test as a predictor of the anti-platelet function of clopidogrel Eur. J. Clin. Pharmacol. 66 457–63.
3. Ingelman-Sundberg M: Pharmacogenetics of cytochrome P450 and its applications in drug therapy: the past, present and future. Trends Pharmacol. Sci. 25, 193–200 (2004).
4. Johnson M R and Diasio R B 2001 Importance of dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) deficiency in patients exhibiting toxicity following treatment with 5-fluorouracil Adv. Enzyme Regul. 41 151–7.
5. Kirchheiner J et al 2004 Pharmacogenetics of antidepressants and antipsychotics: the contribution of allelic variations to the phenotype of drug response Mol. Psychiatr. 9 442–73.
6. Kirchheiner J et al 2004 Pharmacogenetics of antidepressants and antipsychotics: the contribution of allelic variations to the phenotype of drug response Mol. Psychiatr. 9 442–73
7. Leeder JS, Pearce R, Gaedigk A, Modak A, Rosen D: Evaluation of the [ $^{13}\text{C}$ ]-DM breath test to assess CYP2D6 phenotype. J. Clin. Pharm. 48, 2041–2051 (2008).

8. Lehtonen ST, Svensk AM, Soini Y et al.: Peroxiredoxins, a novel protein family in lung cancer. Int. J. Cancer 111, 514–521 (2004).
9. Mattison L, Ezzeldin H, Carpenter M, Johnson M and Diasio R 2004 Rapid identification of dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency by using a novel 2– $^{13}\text{C}$ -uracil breath test Clin. Cancer Res. 10 2652–9.
10. Meta-Analysis Group 1998 Toxicity of fluorouracil in patients with advanced colorectal cancer: effect of administration schedule and prognostic factors Cancer J. Clin. Oncol. 16 3537–41.
11. Modak A, Durso R, Joseph E and Rosen D 2012 A rapid non invasive L-DOPA- $^{13}\text{C}$  breath test for optimally suppressing extracerebral AADC enzyme activity—toward individualizing carbidopa therapy in Parkinson's disease J. Park. Dis. 2 349–56.
12. Modak Anil S. Regulatory issues on breath tests and updates of recent advances on  $^{13}\text{C}$ -breath tests. J. Breath Res. 7 (2013) 037103 (8pp).
13. Nelson D R 1999 Cytochrome P450 and the individuality of species Arch. Biochem. Biophys. 369 1–10.
14. Pauling L, Robinson A, Teranishi R and Cary P 1971 Quantitative analysis of urine vapor and breath by gas-liquid partition chromatography Proc. Natl Acad. Sci. USA 68 2374–6.
15. Phillips N, Herrera J, Krishnan S, Zain M, Greenberg J and Cataneo R 1999 Variation in volatile organic compounds in the breath of normal humans J. Chromatogr. B 729 75–88.
16. Tazaki J et al 2012 Prediction of clopidogrel low responders by a rapid CYP2C19 activity test J. Atheroscler. Thromb. 19 186–93.
17. Thacker D L, Modak A, Flockhart D A and Desta Z 2013 Is (+)-[ $^{13}\text{C}$ ]-pantoprazole better than (±)-[ $^{13}\text{C}$ ]-pantoprazole for the breath test to evaluate CYP2C19 enzyme activity? J. Breath Res.
18. Thacker D L, Modak A, Nguyen P D, Flockhart D A and Desta Z 2011 Stereoselective pharmacokinetics of stable isotope (±)-[ $^{13}\text{C}$ ]-pantoprazole: implications for a rapid screening phenotype test of CYP2C19 activity Chirality 23 904–9.
19. Wagner D A, Schatz R, Coston R, Curington C, Bolt D and Toskes P P 2011 A new  $^{13}\text{C}$ -breath test to detect vitamin B12 deficiency: a prevalent and poorly diagnosed health Probl. J. Breath Res.

## Использование $^{13}\text{C}$ -дыхательных тестов в современной клинической практике- актуальное направление индивидуализации лекарственной терапии

И.Л. Кляритская, Ю.С. Работягова

Медицина как наука со времен Гипократа использует анализ выдыхаемого пациентом воздуха для диагностики заболеваний. В 1970 годах было обнаружено, что выдыхаемый человеком воздух, представляет собой сложную смесь газов содержит более 200 различных летучих органических соединений в пиколярных концентрациях. С тех пор, анализ выдыхаемого постепенно «набирает обороты», как быстрый, неинвазивный вариант для диагностики болезней или оценки метаболической активности ферментов системы CYP450 лекарственных препаратов.

## Застосування $^{13}\text{C}$ -дихальних тестів в сучасній клінічній практиці- актуальний напрямок індивідуалізації лікарської терапії

І.Л. Кляритська, Ю.С. Работягова

Медицина як наука з часів Гіпократів використовує аналіз видихуваного пацієнтом повітря для діагностики захворювань. У 1970 роках було виявлено, що видихається людиною повітря, являє собою складну суміш газів, що містить більше 200 різних

летких органічних сполук у пікомолярних концентраціях. З тих пір, аналіз повітря, що видихається поступово «набирає обертів», як швидкий, неінвазивний варіант для діагностики хвороб або оцінки метаболічної активності ферментів системи CYP450 лікарських препаратів.

## Using $^{13}\text{C}$ -respiratory tests in modern clinical practice- current trend for personalizing drug therapy

*I.L. Klyaritskaya, Y.S. Rabotjagova*

Over the last decade non invasive diagnostic phenotype  $^{13}\text{C}$ -breath tests have been researched extensively. Interindividual differences in drug disposition are critical reasons for adverse drug reactions (toxicity) and lack of drug response (efficacy). The majority of phase I and phase II drug-metabolizing enzymes are polymorphic and constitute essential factors for the clinical outcome of drug therapy. CYP450 enzymes in the liver catalyze the initial step in the biotransformation of xenobiotics. More than 50 CYP450 isozymes are known to exist in humans and they have been classified into 17 families and 39 subfamilies based on amino acid sequence similarities. The bulk of drug metabolisms are carried out by a few members of the CYP1, 2, and 3 families and occurs primarily in the liver, which contains the highest concentration of CYP450 in the body. On average, 70% of the P450s expressed in adult human liver consist of the following isozymes: 1A2, 2A6, 2B6, the 2C subfamily (2C8, 2C9, 2C18, and 2C19), 2D6, 2E1, and the 3A subfamily (3A4 and 3A5).  $^{13}\text{C}$ -Breath tests with several clinical applications have been published over the last three decades. More recently, emphasis has been placed on utilizing a suitably  $^{13}\text{C}$  labeled *in vivo* breath test probe for a specific CYP450 isozyme to detect enzyme deficiencies or evaluate the rate of metabolism of a drug or the inhibition of probe substrate or the level of enzyme activity. These phenotype breath tests are rapid (less than 1 h), non invasive and utilize a single breath collection post ingestion of the  $^{13}\text{C}$  probe.

Ии Stable isotope-labeled xenobiotics can be used as probes to provide rapid *in vivo* phenotype assessment of phase I enzymes (CYPP450). The DM-BT (CYP2D6), MBT (CYP1A2) and Ptz-BT (CYP2C19) offer promise as rapid, point of care and non invasive phenotyping assays or CDx for evaluating enzyme activity thereby enabling physicians to personalize medication for existing drugs. These breath tests can also be used as CDx to identify non-responders to new medications in clinical trials metabolized primarily by specific enzymes. Diagnostic breath tests, a promising new field in medicine, will potentially offer noninvasive, real-time, POC disease diagnostics and metabolic status monitoring to enable physicians personalize therapy