



В.Й. Кресюн, П.Б. Антоненко

ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНУ ЦИТОХРОМУ-450 2С19 НА ПІВДЕННОМУ ЗАХОДІ УКРАЇНИ

Одеський національний медичний університет

Ключові слова: ген *CYP2C19*, поліморфізм, генотип.**Ключевые слова:** ген *CYP2C19*, полиморфизм, генотип.**Key words:** *CYP2C19* gene, polymorphism, genotype.

За допомогою полімеразно-ланцюгової реакції та ендонуклеазного аналізу досліджено поліморфізм гену *CYP2C19* з використанням ендонуклеаз *SmaI* і *BamHI* для виявлення мутантних генів *CYP2C19*2* і *CYP2C19*3*, а також дикого гену *CYP2C19*1*. Зразки крові отримані у здорових донорів в Одеській обласній станції переливання крові в 2010 р. Жодних суттєвих відмінностей за віком, статтю, групою крові серед носіїв різних генотипів і алелів *CYP2C19* не спостерігали. Поліморфізм генотипів і алелів *CYP2C19* на південному заході України був близьким до результатів досліджень у країнах Європи й Ірані, але відрізнявся від таких у Південній Кореї.

С помощью полимеразно-цепной реакции и эндонуклеазного анализа исследован полиморфизм гена *CYP2C19* с использованием эндонуклеаз *SmaI* и *BamHI* с целью обнаружения мутантных генов *CYP2C19*2* и *CYP2C19*3*, а также дикого гена *CYP2C19*1*. Образцы крови были получены от здоровых доноров в Одесской областной станции переливания крови в 2010 г. Существенные отличия в возрасте, половой принадлежности, группе крови среди носителей различных генотипов и аллелей *CYP2C19* не отмечали. Полиморфизм генотипов и аллелей *CYP2C19* на юго-востоке Украины был близким результатам исследований в странах Европы и Иране, но значительно отличался от таких в Южной Корее.

Gene *CYP2C19* polymorphism was studied with the help of PCR (polymerase chain reaction) and endonuclease analysis with utilization of endonucleases *SmaI* and *BamHI* for detection of the mutant allele *CYP2C19*2* and *CYP2C19*3* correspondently as well as wild gene *CYP2C19*1*. The blood sample were obtained from healthy donors in Odesa district station of blood transfusion in 2010. Any significant difference in age, gender or blood group between carriers of different genotype and allele *CYP2C19* has not been observed. Polymorphism of *CYP2C19* genotypes and alleles in south-west Ukraine was close to the spreading in European countries and Iran and greatly differ from South Korea reports.

Згідно сучасних знань, ферменти родини цитохромів-450 (*CYP*) 2 відповідають за метаболізм більшості вживаних лікарських препаратів. Так, *CYP2C19* бере участь у метаболізмі омепразолу, варфарину, мефенітоїну, прогунанілу, циталопраму, антибіотиків-макролідів, багатьох антидепресантів тощо [1]. З іншого боку, є низка препаратів, що можуть впливати на активність цитохрому *CYP2C19*, зокрема, протитуберкульозні препарати рифампіцин, ізоніазид [2].

Різні етнічні групи можуть мати різну поширеність повільних і швидких метаболізаторів, і після отримання однакових доз певних лікарських препаратів різний відсоток хворих у кожній такій групі досягне терапевтичного рівня препарату в організмі. Тому загальна ефективність рекомендованих доз може відрізнятися у мешканців різних країн. Отже, ефективність стандартної дози у пацієнтів у різних етнічних груп треба перевірити [3].

Водночас у спеціалізованій літературі майже відсутні відомості про поширеність поліморфізму гену *CYP2C19* в Україні як серед здорових, так і серед хворих осіб.

МЕТА РОБОТИ

Дослідження поліморфізму гену *CYP2C19* на півдні України на прикладі Одеського регіону.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Зразки крові отримано від 122 здорових донорів в Одеській обласній станції переливання крові в 2010 р., з яких 15 (12,3%) жінок, решта 107 (87,7%) – чоловіки. Вік донорів – від 17 до 62 років. ДНК-матеріал екстрагований з крові донорів з використанням набору ДНК-сорбБ (АмпліСенс, Російська Федерація). Генотип *CYP450 2C9*

– за допомогою полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛР) та ендонуклеазного аналізу за методом J.A. Goldstein, J. Blaisdell, 2004 [4]. Для ПЛР-ампліфікації *CYP2C19*2* і *CYP2C19*3* використали дві пари відповідних специфічних праймерів. ПЛР-продукти *CYP2C19*2* і *CYP2C19*3* піддані рестрикції за допомогою ферментів (рестриктаз) *SmaI* і *BamHI* відповідно. Оскільки місце рестрикції відсутнє в мутантних алелях, ПЛР-продукти унікалі рестрикції відповідними ферментами. В *CYP2C19*1* (немутованих) алелях рестрикційні ферменти *SmaI* і *BamHI* розділяли ДНК-фрагмент в 321 п.н. на 2 фрагменти – 212 і 109 п.н., а також ДНК-фрагмент 271 п.н. на 2 фрагменти – 175 і 96 п.н., відповідно. Статистичний аналіз проведено з використанням Microsoft Excel і χ^2 -критерію.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Відповідно до генотипу *CYP2C19*, зі 122 здорових донорів 79,5% індивідів були носіями гомозиготного дикого типу гену *CYP2C19*1/*1* (табл. 1). Також 18,9% і 0,8% добровольців були носіями гетерозиготних генів *CYP2C19*1/*2* і *CYP2C19*1/*3* відповідно. Виявлено лише одного носія гомозиготного мутанного гена – *CYP2C19*2/*2* (0,8%), водночас комбінації генів *CYP2C19*2/*3* або *CYP2C19*3/*3* не спостерігали (табл. 1).

Загалом, з досліджених 122 пар генів *CYP2C19*, 89,3% складала алель *CYP2C19*1*, 10,2% – алель *CYP2C19*2* і лише 0,4% – алель *CYP2C19*3*.

Згідно формули Харді-Вайнберга (Hardy-Weinberg), що відображає розподіл генотипів і фенотипів у популяції за певних умов, розраховано очікувану поширеність генотипів



Таблиця 1

Генотип і алелі гену *CYP2C19* серед здорових донорів (кількість)

Генотип <i>CYP2C19</i> (n=122)					
*1/*1	*1/*2	*1/*3	*2/*2	*2/*3	*3/*3
97	23	1	1	0	0
Алель (n=226)					
*1	*2	*3			
196	15	15			

CYP2C19. Отримані результати істотно не відрізнялись від розрахованих за формулою (табл. 2).

Таблиця 2

Поширеність генотипів *CYP2C19* серед здорових донорів (%) фактичний і розрахований за формулою Харді-Вайнберга

Результати	Генотип (n=113)					
	*1/*1	*1/*2	*1/*3	*2/*2	*2/*3	*3/*3
Фактичні	79,5	18,9	0,8	0,8	0	0
Розраховані	79,8	18,3	0,7	1,0	0,1	0

Серед носіїв гомозиготного дикого типу гену *CYP2C19**1/*1 більшість (87,6%) склали чоловіки. Так само серед носіїв гетерозиготного типу гену (*CYP2C19**1/*2 або *CYP2C19**1/*3) 87,0 і 100% відповідно склали чоловіки. Єдиний донор, який був носієм комбінації *CYP2C19**2/*2, чоловік. Отже, вірогідної різниці серед носіїв різних генотипів *CYP2C19* за статтю не спостережено ($P < 0,05$).

397 індивідів, які були носіями гомозиготного дикого типу гену *CYP2C19**1/*1, згідно до системи АВО переважали носії А (II) групи крові – 35,1%, рідше траплялись носії 0 (I) групи крові – 34%, В (III) групи крові – 23,7% добровольців, решта, або 7,2%, індивідів мали АВ (IV) групу кров (рис. 1).

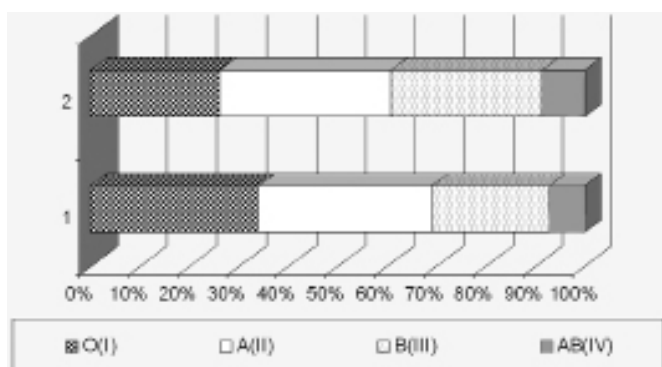


Рис. 1. Належність носіїв генотипів *CYP2C19**1/*1 (1) і *1/*2 (2) до різних груп крові згідно системи АВО (вісь ордината).

Майже так само розподілились носії генотипу *CYP2C19**1/*2, з яких 34,8% мали В (III) групу крові, 30,4% мали 0 (I) групу крові, 30,4% мали А (II) групу крові, решта, або 8,7%, індивідів мали АВ (IV) групу крові. Донори, які мали комбінації *CYP2C19**1/*3 або *2/*2, мали 0 (I) і А (II) групу крові відповідно. Отже, носіїв гомозиготних і гетерозиготних генотипів однаково часто спостерігали у пацієнтів з різними групами крові за системою АВО.

Серед 97 носіїв гомозиготного дикого типу гену *CYP2C19**1/*1 домінували донори віком від 21 до 30 років

і від 31 до 40 років – 34 і 32% донорів відповідно, рідше спостерігали донорів віком 41–50 років, до 20 років або після 51 року – 12,4; 11,3 і 10,3% донорів відповідно (рис. 2).

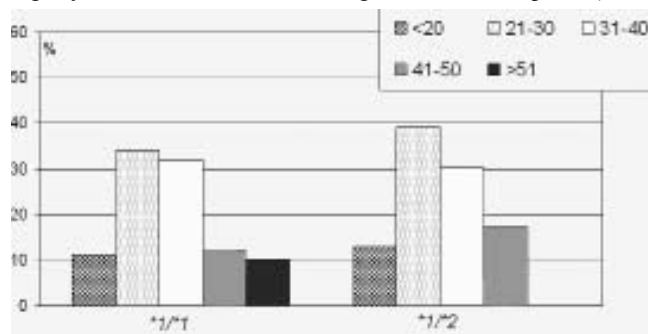


Рис. 2. Поширення генетичного поліморфізму *CYP2C19* серед здорових донорів у різних вікових групах (вісь абсциса, роки).

Носії гетерозиготних генів *CYP2C19**1/*2 дещо частіше належали до вікових категорій 21–30, 31–40 і 41–50 років – 39,1; 30,4 і 17,4% донорів відповідно, водночас не було жодного донора віком понад 50 років. Донори, які мали комбінації *CYP2C19**1/*3 або *2/*2, були від 31 до 40 років. Однак, різниця між носіями різних генотипів *CYP2C19* була не вірогідною.

Відносно *CYP2C19*, проведений аналіз засвідчив, що лише один з індивідів мав обидві поліморфних алелі (*CYP2C19**2/*2), тобто лише один хворий (0,8%) може бути віднесеним до повільних метаболізаторів, водночас 26 індивідів (19,7%) були носіями одного поліморфного алелю. Жодних суттєвих відмінностей за віком, статтю, групою крові серед носіїв різних генотипів і алелів *CYP2C19* не спостережено.

Проведено порівняння поширеності різних генотипів і алельної частоти *CYP2C19*, отриманими в даній роботі, з аналогічними показниками інших країн (табл. 3).

Як видно з таблиці 3, поширеність алелі *CYP2C19**1 на південному заході України (89,3%) близька до європейських країн та Ірану (83,7–89,7%), але більша від аналогічного показника досліджень, проведених на Далекому Сході (Південна Корея) (63,3%) [5–10]. Поширеність поліморфних алелів (*CYP2C19**2 і *CYP2C19**3) на південному заході України склали 10,2 і 0,4% відповідно, що також було близьким до поширеності зазначених алелів у європейських країнах та Ірані – 9,4–15,9% і 0–1% відповідно; і значно нижчою від результатів досліджень у Південній Кореї – 28,0 і 8,7% відповідно. За результатами генотипування *CYP2C19* і розподілом за генотипом *CYP2C19* на швидких (*1/*1), помірних (*1/*2, *1/*3) і повільних метаболізаторів [10], 79,5% індивідів були швидкими, 19,7% – помірними і 0,8% – повільними метаболізаторами. Дослідження в інших європейських країнах та Ірані виявили близький рівень швидких метаболізаторів – від 68,2 до 76,6%, і значно нижчий рівень у Південній Кореї – 40,9%. Поширеність генотипу помірних метаболізаторів становила 19,7%, що було близьким до результатів досліджень у Росії – 19,3%, Італії – 20,4%, Греції – 22%, Ірані – 25,6%, Словенії – 30,7% і



Поширеність генотип і алелів гену CYP2C9 у різних країнах (%)

Генотип / алель	Проведене дослідження (n=122)	Росія (n=290)	Словенія (n=119)	Італія (n=260)	Греція (n=283)	Іран (n=127)	Південна Корея (n=166)
Генотип CYP2C19							
CYP2C19*1/*1	79,5	76,6	68,2	79,4	76,0	74,0	40,9
CYP2C19*1/*2	18,9	19,0	30,0	18,8	22,0	25,0	33,7
CYP2C19*1/*3	0,8	0,3	0,7	1,6	0	0,6	10,8
CYP2C19*2/*2	0,8	1,7	0,7	0	2,0	0,6	8,4
CYP2C19*2/*3	0	0,3	0	0	0	0	5,4
CYP2C19*3/*3	0	0	0	0	0	0	0,6
Алель							
CYP2C19*1	89,3	88,2	83,7	89,7	86,9	86,0	63,3
CYP2C19*2	10,2	11,3	15,9	9,4	13,0	13,0	28,0
CYP2C19*3	0,4	0,3	0,3	0,8	0	1,0	8,7
Джерело	-	[5]	[6]	[7]	[8]	[9]	[10]

значно меншим від Південної Кореї – 44,5%. За поширеністю повільних метаболізаторів країни можна ранжувати так: Італія (0%) < Іран (0,6%) < Словенія (0,7%) < Україна (0,8%) < Росія та Греція (по 2%) < Південна Корея (14,4%). Отримані результати засвідчили генетичну спорідненість і поліморфізм CYP2C19 з європейськими країнами та Іраном, а також значну розбіжність з Південною Кореєю.

Отримані дані щодо малого поширення повільних метаболізаторів геном CYP2C19 за результатами генотипування бажано перевірити шляхом фенотипування, що буде мати велике значення у використанні ліків, що метаболізуються за допомогою CYP2C19. Водночас, результати фенотипування і генотипування CYP2C19 збігаються у понад 90% випадків [4].

ВИСНОВКИ

1. Відповідно до генотипу CYP2C19 зі 122 здорових донорів 79,5% індивідів були носіями гомозиготного дикого типу гену CYP2C19*1/*1, близько 20,5% мали генотип CYP2C19*1/*2 і по 0,8% досліджених були носіями комбінацій CYP2C19*1/*3 і *2/*2.

2. Жодних суттєвих відмінностей за віком, статтю, групою крові серед носіїв різних генотипів і алелів CYP2C19 не спостережено. Поліморфізм генотипів і алелів CYP2C19 на півдні України був близьким до результатів досліджень у країнах Європи, Ірані й суттєво відрізнявся від даних, отриманих у Південній Кореї.

ЛІТЕРАТУРА

1. Кресюн В.И. Фармакогенетические основы взаимодействия организма и лекарств / Кресюн В.И., Бажора Ю.И. – Одесса: Одес. гос. мед. ун-т, 2007. – 164 с.

- Chen Y. The transcriptional regulation of the human CYP2C genes / Y. Chen, J.A. Goldstein // *Curr. Drug Metab.* – 2009. – Vol. 10, №6. – P. 567–578.
- Castillejos-López Mde J. Cytochrome P450 and NAT2 polymorphisms and drug metabolism in DOTS / Mde J. Castillejos-López, M. C. García-Sancho, F. Quiñones-Falconi, J. R. Pérez-Padilla // *Rev. Invest. Clin.* – 2008. – Vol. 60, №1. – P. 47–57.
- Goldstein J.A. Genetic tests which identify the principal defects in CYP2C19 responsible for the polymorphism in mephenytoin metabolism / J.A. Goldstein, J. Blaisdell // *Methods Enzymol.* – 1996. – Vol. 272. – P. 210–218.
- Polymorphisms of drug-metabolizing enzymes CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP1A1, NAT2 and of P-glycoprotein in a Russian population / E.A. Gaikovitch, I. Cascorbi, P.M. Mrozikiewicz, J. Brock-möller [et al.] // *Eur. J. Clin. Pharmacol.* – 2003. – Vol. 59. – P. 303–312.
- Herman D. Genetic polymorphism of cytochromes P450 2C9 and 2C19 in Slovenian population / D. Herman, V. Dolzan, K. Breskvar // *Zdrav. Vestn.* – 2003. – Vol. 72. – P. 347–351.
- Allele and genotype frequencies of CYP2C9, CYP2C19 and CYP2D6 in an Italian population / M.G. Scordo, A.P. Caputi, C.D'Arrigo, G. Fava [et al.] // *Pharmacol. Res.* – 2004. – Vol. 50. – P. 195–200.
- Genetic polymorphisms of drug-metabolizing enzymes CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 and CYP3A5 in the Greek population / K. Arvanitidis, G. Ragia, M. Iordanidou, S. Kyriaki, [et al.] // *Fundam. Clin. Pharmacol.* – 2007. – Vol. 21. – P. 419–426.
- Investigation of allele and genotype frequencies of CYP2C9, CYP2C19 and VKORC1 in Iran / N. Azarpira, S. Namazi, F. Hendijani, M. Banan [et al.] // *Pharmacological reports.* – 2010. – Vol. 62. – P. 740–746.
- Lee Jun-Beom Cytochrome P450 2C19 polymorphism is associated with reduced clopidogrel response in cerebrovascular disease / Jun-Beom Lee, Kyung-A Lee, Kyung-Yul Lee // *Yonsei Med. J.* – 2011. – Vol. 52, №5. – P. 734–738.

Відомості про авторів:

Кресюн В.И., д. мед. н., професор, перший проректор ОНМедУ, зав. каф. загальної та клінічної фармакології ОНМедУ, чл.-кор. НАМН України.

Антоненко П.Б., к. мед. н., доцент каф. загальної та клінічної фармакології ОНМедУ.

Адреса для листування:

Антоненко Петро Борисович. 65082, м. Одеса, Валіховський пров., 2.

Тел.: (048) 712 31 03, (048) 717 35 45.

E-mail: peterantonenko@yandex.ru