

ОПЫТ ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКОГО ТЕСТИРОВАНИЯ В УКРАИНСКИХ ПОПУЛЯЦИЯХ

Кобец М.Н.*, Кобец Ю.Н., Тимошина И.А.***, Филипцова О.В.**

*Национальный фармацевтический университет
*кафедра фармацевтического маркетинга и менеджмента,
**кафедра биологии, г. Харьков*

Ключевые слова: фармакогенетическое тестирование, генетический паспорт, цитохромы P450, цитохром CYP1A2, цитохром CYP2B6.

Резюме: впервые в Украине проведено фармакогенетическое тестирование по генам CYP1A2 (rs762551) и CYP2B6. В результате исследований установлено распределение генотипов в выбранной группе для обоих генов. Показан генетический полиморфизм, который свидетельствует о необходимости проведения дальнейших исследований.

Resume: For the first time pharmacogenetic testing for the genes CYP1A2 (rs762551) and CYP2B6 was held in Ukraine. The study found the distribution of genotypes in the selected group for both genes. Genetic polymorphism was shown, that demonstrates the need for further research.

Актуальность. Реакция организма человека на лекарственное средство, как известно, зависит от ряда факторов, среди которых можно выделить: возраст, пол, одновременный прием сразу нескольких лекарственных средств, сопутствующие заболевания, в т.ч. хронические, вредные привычки (курение, употребление алкоголя), характер питания и др. Из литературных источников известно, что в 50% случаев неэффективность лекарственных препаратов или риск развития побочных эффектов зависит от генетических особенностей пациента [4].

Фармакогенетическое тестирование – перспективный инструмент персонализированной/персонифицированной медицины на основе индивидуализированного подхода выбора лекарственных препаратов и их доз для конкретного пациента, позволяющий значительно повысить эффективность и безопасность фармакотерапии пациентов с различными заболеваниями [5].

На основании фармакогенетического тестирования составляется генетический паспорт – документ, в котором в виде определенной комбинации букв и цифр представлена информация о ДНК. Исследовав геном конкретного человека, можно дать полную картину особенностей отдельных генов. Гены, связанные с заболеваниями человека могут свидетельствовать о риске их развития [6].

Геном человека включает около 30 тысяч генов [1]. Существует масса фармакологических показателей, определяющих эффективность воздействия лекарственных средств на организм. Среди них статус человека по типу метаболизма. Выделяют медленные, нормальные, быстрые и сверхбыстрые метаболизаторы. Причинами неэффективности лекарственных средств является носительство генов, ассоциированных с быстрым или медленным метаболизмом препаратов. При медленном метаболизме лекарственных средств возникают побочные эффекты, связанные с кумуляцией препаратов в организме. У быстрых метаболизаторов эта же доза не оказывает воздействие [1].

Очень часто в мире при назначении индивидуального лечения определяют статус метаболитатора по семейству цитохрома CYP-450, который отвечает за 50% выпускаемых в мире лекарственных средств. В качестве примера были взяты гены *CYP1A2*(rs762551) и *CYP2B6* (rs3745274). Распространенность мутации (rs762551) в европейской популяции – 30-50% [7]. Эти ферменты участвуют в процессах биотрансформации часто назначаемых врачами лекарственных средств.

Цель: исследование однонуклеотидного полиморфизма *CYP1A2* (rs762551) и *CYP2B6* в украинской популяции. Данное исследование проводится впервые. Ранее гены *CYP1A2*(rs762551) и *CYP2B6* (rs3745274) не исследовались в Украине ни на какие виды полиморфизма.

Задачи:

- 1) осуществить забор буккального эпителия в выборке украинских популяций;
- 2) провести фармакогенетическое тестирование по генам *CYP1A2* (rs762551) и *CYP2B6* (rs3745274);
- 3) провести обработку полученных данных и дать рекомендации.

Материал и методы. Для изучения популяционного распределения *CYP1A2*(rs762551) и *CYP2B6* (rs3745274) сформирована выборка украинской популяции из 100 человек, не состоящих в родстве. В качестве биологического материала использовался буккальный эпителий. Генотипирование полиморфизма *CYP1A2* (rs762551) и *CYP2B6* (rs3745274) осуществляли с использованием метода полимеразной цепной реакции. Данный метод основывается на многократном удвоении определённого участка ДНК при помощи ферментов *in vitro*, вследствие чего нарабатываются количества ДНК, достаточные для визуального восприятия. При этом копируется только тот участок, который удовлетворяет заданным условиям, и только в том случае, если он присутствует в исследуемом образце. С помощью полимеразной цепной реакции возможно введение мутаций, сращивание фрагментов ДНК.

ДНК выделена из буккального эпителия при помощи ионообменной смолы Chelex-100 [9]. Определение аллельного состояния гена *CYP1A2* по однонуклеотидной замене (rs762551) проводили согласно методике [8].

Аmplифицирование проводили на термоциклере «Терцик» (ДНК-технология, Россия). По результатам генотипирования рассчитаны частоты аллелей.

Проведена проверка распределения генотипов на соответствие соотношению Харди-Вайнберга. Сравнение генотипов выполнено с использованием критерия χ^2 . Проверку статистических гипотез проводили на уровне значимости 0,05.

Результаты и их обсуждение. *CYP1A2* играет важную роль в окислении соединений экзогенного и эндогенного происхождения. К соединениям экзогенного происхождения можно отнести лекарственные средства, мутагены, канцерогены, пестициды, яды. Жирные кислоты, желчные кислоты, простагландины, стероиды – соединения эндогенного происхождения. *CYP1A2* участвует в метаболизме таких лекарственных средств: кофеина, теофиллина, клозапина, парацетамола, наркотиков, такрина, фенацетина [7]. Показано, что изоформа *CYP1A2* метаболизирует более 90% кофеина [2,3]. *CYP2B6* (rs3745274) представляет собой фермент, который в числе прочего связан с метаболизмом антидепрессанта бупропина, успешно применяемого при лечении никотиновой зависимости [1].

В результате исследований *CYP1A2* установлено распределение генотипов в выбранной группе: 37% AA, 50% AC, 15% CC, что близко к европейскому распределению. С точки зрения генотипов, только rs762551 (AA, гомозиготы) считаются быстрыми метаболиторами. Лица rs762551 (AC) – гетерозиготы или rs762551 (CC) – гомозиготы – оба считаются медленными метаболиторами. Установлены частоты аллелей: $p_A = 0,6$ и $q_C = 0,4$. Согласно распределению Харди-Вайнберга, теоретически ожидаемое число генотипов рассчитывали по формуле: p^2 AA: $2p(1-p)$ AC: $(1-p)^2$ CC. Теоретически ожидаемое число генотипов составило: 36% AA, 48% AC, 16% CC.

При изучении *CYP2B6* (rs3745274) установлено распределение генотипов в выбранной группе: 57% GG, 38% GT, 7% TT. Установлены частоты аллелей: $p_G = 0,75$ и $q_T = 0,25$. Теоретически ожидаемое число генотипов составило: 56% GG, 38% GT, 6% TT. Проверка распределения генотипов в группе на соответствие Харди-Вайнберга показала, что популяционная структура населения не отклоняется от данного равновесия для обоих генов.

Выводы:

1) в результате исследований установлено распределение генотипов в выбранной группе для *CYP1A2* (rs762551) 37% AA, 50% AC, 15% CC и для *CYP2A15* 57% GG, 38% GT, 7% TT;

2) популяционная структура населения не отклоняется от равновесия Харди-Вайнберга;

3) показан генетический полиморфизм, который свидетельствует о необходимости проведения дальнейших исследований.

Литература

1. Введение в психогенетику [Электронный ресурс] : учеб. пособие / Л.А. Атраментова, О.В. Филиппова. – 3-е изд., стер. М. : Флинта. 2014. – 472 с.: ил.
2. Изоформа *CYP1A2*, как составная часть суперсемейства цитохрома P450 / Новицкая Я.Г., Жердев В.П., Виглинская А.О., Литвин А.А. // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2014. – №1. – С. 4-13. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://cyberleninka.ru/article/n/izoforma-cyp1a2-kak-sostavnaya-chast-supersemeystva-tsitohroma-p450>
3. Кантемирова Б.И. Клинико-фармакологические подходы к повышению эффективности и безопасности применения лекарственных средств в педиатрической практике: Автореф. ... дис. докт. мед н. – В., 2013 г. – 45 с.
4. Клиническая фармакогенетика / Д.А. Сычев, Г.В. Раменская, И.В. Игнатъев, В.Г. Кукес // М.: ГЭОТАР-Медиа. – 2007. – 248 с.
5. Фармакогенетичне тестування / О.В. Філіппова, М.М. Кобець // Фармацевтична енциклопедія. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/8351/farmakogenetichne-testuvannya>
6. Хайтович М.В. Персоналізова медицина: сучасний стан та перспективи // Український науково-медичний молодіжний журнал. – 2015. – № 2 (88). – С. 6-11.
7. Цитохром *CYP1A2*: інформація компанії «Постгеномные и нанотехнологические инновации» // Электронный ресурс. Режим доступа: <http://www.pynny.ru/information/124-CYP1A2.html>
8. Phenotype-genotype analysis of *CYP1A2* in Japanese patients receiving oral theophylline therapy / K. Takata, J. Saruwatari, N. Nakada, M. Nakagawa, K. Fukuda, F. Tanaka, S. Takenaka, S. Mihara, T. Marubayashi, K. Nakagawa // Eur. J. Clin. Pharmacol. – 2006. – V. 62. – P.23-28.
9. Walsh P.S. Chelex 100 as a medium for extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material / P.S. Walsh, D.A. Metzger, R. Higuchi // BioTechniques. – 1991. – V. 10. – P. 506-513.