

**Кобец М.Н.\*, Кобец Ю.Н., Тимошина И.А.\*\*, Филипцова О.В.\*\***  
**ФЕНОТИПИРОВАНИЕ И ГЕНОТИПИРОВАНИЕ КАК СТРАТЕГИИ**  
**ПЕРСОНАЛИЗАЦИИ МЕДИЦИНЫ (НА ПРИМЕРЕ НАСЕЛЕНИЯ**  
**УКРАИНЫ)**

*Национальный фармацевтический университет*

*\*кафедра фармацевтического маркетинга и менеджмента, \*\*кафедра биологии*  
*г. Харьков*

**Ключевые слова:** фенотипирование, генотипирование, фенилтиокарбамид, цитохром CYP1A2, цитохром CYP2B6, интерлейкин IL-6, население Украины

**Резюме:** изучена выборка населения Украины относительно частоты фенотипов, связанных с чувствительностью к фенилтиокарбамиду. Полученные в ходе исследования у мужчин и женщин частоты аллеля T и t очень близки к частотам тех же аллелей в популяциях Индии. Полученные данные дополняют имеющуюся информацию в связи с генетической структурой современных украинских популяций. Показан генетический полиморфизм по трем генам, которые имеют отношение к индивидуальной предрасположенности к мультифакториальным заболеваниям и особенностям метаболизма целого ряда лекарственных препаратов.

**Resume:** a sample of the population of Ukraine was studied as to the frequency of phenotypes associated with phenylthiocarbamide susceptibility. In males and females the frequency of allele T and t, found in the study, is very close to the frequency of the same alleles in India populations. These data complement the information available in connection with the genetic structure of modern Ukrainian populations. The genetic polymorphisms in three genes that are relevant to the individual predisposition to multifactorial diseases and metabolic characteristics of a variety of drugs was shown.

**Актуальность.** Фармакогенетика, являющаяся важнейшей составляющей персонализированного подхода в медицине, базируется на двух основных стратегиях скрининга на полиморфизм – фенотипировании и генотипировании.

Фенотипирование имеет реальное биохимическое измерение и позволяет установить присутствие или активность изучаемого белка в организме человека. Оно позволяет установить уровень метаболитов у человека после приема исследуемого лекарственного препарата, например, путем измерения уровня метаболитов кофеина в крови после его употребления. Фенотипирование дает более однозначные выводы, однако, оно и более опасно из-за непосредственного применения лекарств и возникновения побочных эффектов.

Генотипирование определяет у человека наличие конкретного варианта гена посредством полимеразной цепной реакции, или ПЦР. Генотипирование безопасно, поскольку оно выполняется на легко доступном образце ткани, например, на клетках буккального эпителия или крови. Однако часто результаты генотипирования являются довольно сложными для интерпретации. Если фенотипирование дает окончательный ответ о фармакогенетических различиях между людьми, то генотипирование позволяет установить причину таких различных реакций на лекарственный препарат.

Классическими примерами фармакогенетически значимых признаков, которые фенотипированы и генотипированы в разных популяциях мира, являются определение вкусовой чувствительности к некоторым соединениям на основе

тест-систем и варианты генов, связанные с предрасположенностью к мультифакториальным заболеваниям и неодинаковой реакцией на различные лекарственные препараты.

В частности, одним из классических генетических маркёров человека является вкусовая чувствительность к фенилтиокарбамиду (ФТК), определяемая в результате фенотипирования. Согласно результатам фенотипирования испытуемого можно отнести либо к тестерам (ощущается горький вкус ФТК) либо к нетестерам (соединение ощущается как безвкусное). Иногда встречаются супертестеры, которые способны распознавать горький вкус в очень низких концентрациях [5]. Данная методика является достаточно дешёвой, доступной и простой. Фенотипирование в отношении чувствительности к ФТК используется в медицинской практике довольно давно и уже позволило выявить взаимосвязь ряда ассоциаций статуса тестерства с болезнями человека. Так, нетестеры по сравнению с тестерами менее подвержены малярии [12], имеют менее высокий уровень тревожности [2], среди них чаще встречается шизофрения [14] и ожирение [4, 9]. Также показана связь чувствительности к ФТК и риска развития кариеса зубов [17], но не выявлено связи статуса тестерства с ревматоидным артритом [3]. Данный легко определяемый фенотипически признак изучен в разных популяциях мира [10], в Украине же – лишь в западном регионе страны [2], что не отражает полной картины фенотипирования по всей Украине.

При персонализированном лечении, проводя предварительное генотипирование, довольно часто определяют статус метаболитатора по семейству цитохромов CYP-450, которые отвечают за метаболизм более 50% выпускаемых в мире лекарственных препаратов. В частности, CYP1A2 и CYP2B6 являются важнейшими ферментами печени, которые участвуют в метаболизме целого ряда широко применяемых лекарственных средств. Из лекарственных средств субстратами CYP1A2, претерпевающими значительное (более 30%) метаболическое воздействие под его влиянием, являются, теофиллин, кофеин, верапамил, мелатонин, аминопирин, пропранолол, такрин, клозапин, оланзапин и др. Среди лекарственных средств, подвергающихся в небольшой (от 30 до 10%) или умеренной степени действию CYP1A2, можно выделить лидокаин, парацетамол, антипирин, имипрамин и др. Вследствие индукции гена *CYP1A2* и изменения активности вырабатываемого фермента полиморфизм 163A/C данного гена связан с распространенными патологиями человека. Доказано, что большую роль полиморфизм 163A/C гена *CYP1A2* оказывает на предрасположенность к онкологическим заболеваниям. CYP2B6 отвечает за метаболизм таких лекарственных средств, как циклофосфамид, бупропион, эвафиренз [15], метадон, кетамин и др [6]. Повышение уровня IL-6 в крови наблюдается при многих патологических состояниях, таких как тяжёлые воспалительные процессы, аутоиммунные заболевания, травмы, инфекции, статус ВИЧ-инфицированности, аллергия и бронхиальная астма.

Для оказания качественной, в том числе и безопасной фармакотерапии изучение полиморфизма генов *CYP1A2* и *CYP2B6* системы биотрансформации

лекарственных средств и гена *IL-6* имеет практическое значение и носит важный медико-социальный характер.

Методика генотипирования, в отличие от фенотипирования, появилась гораздо позже и стала использоваться не так давно. Данная методика является дорогостоящей, менее доступной и более сложной. К сожалению, на данный момент ввиду дороговизны и ряда других ограничивающих факторов на территории Украины генотипирование используется редко. Кроме того, понимание самой сущности фармакогенетических исследований потенциальными потребителями услуг генетических лабораторий оставляет желать лучшего [1].

**Цель исследования.** анализ распределения чувствительности к ФТК и изучение полиморфизма генов *CYP1A2* (rs762551), *CYP2B6* (rs3745274) и *IL-6* (rs2069840) в выборке населения Украины, представленной жителями Харькова и ряда других регионов Украины. Данное исследование является уточняющим для полиморфизма *IL-6* (rs2069840) и пилотным для полиморфизмов *CYP1A2* (rs762551) и *CYP2B6* (rs3745274).

**Задачи.** 1) провести анализ распределения чувствительности к ФТК в выборке украинского населения;

2) провести генотипирование на полиморфизм *CYP2B6* (rs3745274), *CYP1A2* (rs762551) и *IL-6* (rs2069840) с помощью ПЦР.

**Материалы и методы.** Для фенотипирования в исследовании приняли участие 533 человека, не состоящих в родстве (78 мужчин и 455 женщин) в возрасте от 16 до 25 лет и представляли в значительной степени общепопуляционную выборку в отношении чувствительности к ФТК. Раствор ФТК в концентрации 0,13% был приготовлен согласно методике Харриса и Кальмуса [11]. Контрольной системой служили полоски фильтровальной бумаги. Испытуемые вначале пробовали на вкус обычную фильтровальную бумагу, а затем фильтровальную бумагу, пропитанную ФТК. При этом если ощущался вкус ФТК как «очень горький», «горький» или «горьковатый», то фенотип испытуемого определялся как тестер. Однако, если не ощущался вкус ФТК («вкус бумаги», «без вкуса»), то испытуемого относили к нетестеру.

Для генотипирования была сформирована выборка из 102 жителей Украины (48 мужчин, 54 женщин), не состоящих в родстве. В качестве биологического материала использовался буккальный эпителий. Генотипирование добровольцев на полиморфизм *CYP1A2* (rs762551), *CYP2B6* (rs3745274) и *IL-6* (rs2069840) проводили с использованием стандартных методик молекулярной генетики, в частности, полимеразной цепной реакции [8]. С использованием ионообменной смолы Chelex-100 была выделена ДНК из биоматериала [18]. Определение аллельного состояния гена *CYP1A2* по однонуклеотидной замене (rs762551) проводили согласно методике [7,13]. Определение аллельного состояния гена *CYP2B6*\*6 по однонуклеотидной замене 516G/T (rs3745274) проводили согласно методике [16].

Сбор информации проведён с учётом этических требований при работе с человеком согласно Хельсинской декларации.

Результаты и их обсуждение. Показано, что в украинской популяции присутствует 22% лиц, которые не ощущают вкуса фенилтиокарбамида. Среди мужчин несколько больше нетестеров, чем среди женщин, однако, при данном размере выборки ( $n=533$ ) различия не являются существенными. Рассчитанная на основании уравнения Харди-Вайнберга частота доминантного и рецессивного аллеля гена чувствительности к фенилтиокарбамиду составила в целом в выборке  $p_T = 0,55$  и  $q_t = 0,45$  соответственно.

В ходе исследований установлено распределение генотипов в данной группе для *CYP1A2* (rs762551): 37% AA, 50% AC, 15% CC; для *CYP2B6* (rs3745274): 57% GG, 38% GT, 7% TT и для *IL-6* (rs2069840): 47% CC, 50% CG, 5% GG. Установлены частоты аллелей для *CYP1A2*:  $p_A = 0,6$  и  $q_C = 0,4$ ; для *CYP2B6*:  $p_G = 0,75$  и  $q_T = 0,25$ ; для *IL-6*:  $p_C = 0,72$  и  $q_G = 0,28$ . Теоретически ожидаемое число генотипов составило для *CYP1A2*: 36% AA, 48% AC, 16% CC; для *CYP2B6*: 56% GG, 38% GT, 6% TT; для *IL-6*: 52% CC, 40% CG, 8% GG. В ходе исследований установлено, что популяционная структура населения не отклоняется от равновесия Харди-Вайнберга для всех изучаемых генов.

**Выводы.** 1) изучена структура выборки населения Украины в отношении частоты фенотипов, связанных с чувствительностью к ФТК;

2) показан генетический полиморфизм среди украинского населения, имеющий в дальнейшем рекомендательный характер для проведения генетического тестирования полиморфизма генов *CYP1A2* (rs762551), *CYP2B6* (rs3745274) и *IL-6* (rs2069840) при назначении лекарственной терапии.

Данное исследование выполнено при поддержке гранта МОН Украины «Биологические вызовы и угрозы, обусловленные миграциями и инвазиями: популяционно-генетический подход» (2017 г.).

#### Литература

1. Кобец М.Н. Опыт фармакогенетического тестирования в украинских популяциях / М.Н. Кобец, Ю.Н. Кобец, О.В. Филипцова // Инновации в медицине и фармации – 2016 : матер. дистанц. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых, 11 ноября 2016 г., Минск, БГМУ. – 2016. – С. 782-784.
2. Павлович С.А. Изменчивость проявлений тревожности в различных фенотипических группах детей / С.А. Павлович, В.Ф. Безруков // Вісник Українського товариства генетиків і селекціонерів. – 2007. – Т.5, №1-2. – С.48-55.
3. Ягур В.Е. Генетический маркер "сенситивность к фенилтиокарбамиду" и клинический полиморфизм ревматоидного артрита / В.Е. Ягур // Медицинский журнал. – 2008. – №2. – С.95-97.
4. Association of phenylthiocarbamide taste blindness trait with early onset of childhood obesity in Mysore / Y.S. Saraswathi, M. Najafi, V.S. Vineeth, P. Kavitha, S.S. Malini // Journal of Paramedical Sciences (JPS). – 2011. – Vol.2, No.4. – P.6-11.
5. Bartoshuk L.M. Comparing sensory experiences across individuals: recent psychophysical advances illuminate genetic variation in taste perception / L.M. Bartoshuk // Chem Senses. – 2000. – Vol.25, No.4. – P.447-60.
6. CYP2B6\*6 allele and age substantially reduce steady-state ketamine clearance in chronic pain patients: impact on adverse effects / Y. Li, K.A. Jackson, B. Slon, J.R. Hardy, M. Franco, L. William, P. Poon, J.K. Collier, M.R. Hutchinson, D.C. Currow, A.A. Somogyi // Br J Clin Pharmacol. – 2015. – V. 80(2). – P. 276-284.
7. Detection of three genetic polymorphisms in the 5'-flanking region and intron 1 of human CYP1A2 in the Japanese population / M. Chida, T. Yokoi, T. Fukui, M. Kinoshita, J. Yokota, T. Kamataki // Jpn J Cancer Res. – 1999. – No.90. – P. 899-902.

8. Garibyan L. Research Techniques Made Simple: Polymerase Chain Reaction (PCR) / L. Garibyan, N. Avashia // *J Invest Dermatol.* – 2013. – No.133(3). – p6.
9. Genetic Sensitivity to Phenylthiocarbamide – Effect on Body Mass Indices and DNA damage / G. Gandhi, G. Kaur, A. Kaur, N. Mahajan, J. Kaur // *Antrocom Online Journal of Anthropology.* – 2012. – Vol.8, No.1. – P.91-101.
10. Guo S.W. The genetics of phenylthiocarbamide perception / S.W. Guo, D.R. Reed // *Ann Hum Biol.* – 2001. – Vol.28, No.2. – P.111-42.
11. Harris H. The measurement of taste sensitivity to phenylthiourea (PTC) / H. Harris, H. Kalmus // *Ann Eugen.* – 1949. – Vol.15. – P.24–31.
12. Igbeneghu C. Association between Phenylthiocarbamide (PTC) Taste Perception and Falciparum Malaria Infection in Osogbo, Southwestern Nigeria / C. Igbeneghu, Y. Owoeye, E.O. Akanni // *Annual Research & Review in Biology.* – 2014. – Vol.4, No.14. – P.2295-2301.
13. 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.
14. Phenylthiocarbamide (PTC) perception in patients with schizophrenia and first-degree family members: relationship to clinical symptomatology and psychophysical olfactory performance / P.J. Moberg, C. McGue, S.J. Kaner, D.R. Roalf, C.C. Balderston, R.E. Gur, C.G. Kohler, B.I. Turetsky // *Schizophr Res.* – 2007. – Vol.90, No.1-3. – P.221-8.
15. Prevalence of CYP2B6 polymorphisms in Argentinians: the role of genetic testing / P. Scibona, C. Vazquez, A.R. Cajal, P.F. Argibay, W. H. Belloso // *Genet Mol Res.* – 2015. – V. 14(4). – P. 16594-16599.
16. Prevalence of MDR1 C3435T and CYP2B6 G516T Polymorphisms among HIV-1 Infected South African Patients / T.M. Masebe, P.O. Bessong, J. Nwobegahay, R.N. Ndip, D. Meyer // *Dis Markers.* – 2012. – V. 32(1). – P. 43-50.
17. Sensitivity To Bitter & Sweet Perception In Relation To Dental Caries Among 12 Year Old School Children In Lucknow – A Cross Sectional Study / Sourav Sen, Sabyasachi Saha, L. Vamsi Krishna Reddy, Shafaat Mohammad, Minti Kumari // *International Journal of Oral Health Research & Review.* – 2012. – P.83-93.
18. 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.