



УДК 616.155.392.2-036.11-085.277.3-06:616.36]-078.088.7-053.2

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ *CYP* У ДЕТЕЙ С ГЕПАТОТОКСИЧНОСТЬЮ НА ФОНЕ ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ОСТРОГО ЛИМФОБЛАСТНОГО ЛЕЙКОЗА

Руденкова Т. В.¹, Костюк С. А.¹, Климович Н. Н.¹, Демиденко А. Н.²

¹ Государственное учреждение образования
«Белорусская медицинская академия последипломного образования»,
г. Минск, Республика Беларусь;

² Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр
радиационной медицины и экологии человека»,
г. Гомель, Республика Беларусь

Реферат. Основные процессы биотрансформации ксенобиотиков локализованы в печени, где в ходе I фазы их метаболизма происходит образование реактивных токсичных соединений. Семейство генов *CYP* относят к высоко полиморфным генам, для которых распространенность различных полиморфных вариантов зависит от этнической и расовой принадлежности. Применение токсичных химиотерапевтических лекарственных средств для лечения пациентов с острым лимфобластным лейкозом является причиной развития осложнений (гепатотоксичность), обусловленных в том числе и индивидуальными характеристиками метаболизма лекарственных средств. Именно особенности функционирования ферментных систем, участвующих в процессах биотрансформации ксенобиотиков, оказывают влияние на развитие токсических эффектов при проведении химиотерапии. У обследованных детей с острым лимфобластным лейкозом высокая частота выявления мутантного аллеля была установлена для полиморфизма *C100T* (rs1065852) в гене *CYP2D6* (мутантный аллель TT — 27,50 % ($n = 11$) случаев).

Ключевые слова: острый лимфобластный лейкоз, полиморфизм генов, *CYP1A1*, *CYP2E1*, *CYP2D6*.

Введение. Лейкозы являются наиболее распространенным злокачественным новообразованием, диагностируемым в детском возрасте. На долю острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) приходится примерно 80 % от всех диагностированных лейкозов среди пациентов в возрасте 0–19 лет. Детские формы ОЛЛ отличаются от форм, встречающихся во взрослом возрасте, по молекулярным (цитогенетическим) характеристикам, факторам риска, лейкомогенной восприимчивости и прогнозу [1, 2].

Несмотря на то что точная молекулярно-генетическая этиология ОЛЛ остается неизвестной, в ходе многих исследований подтверждено, что на развитие заболевания оказывают влияние сложные взаимодействия между факторами окружающей среды и генетическими факторами конкретного организма. К значимым факторам, ассоциированным с риском развития заболевания, относят присутствие в геноме пациента полиморфных вариантов генов, контролирующих синтез ферментов, участвующих в метаболизме ксенобиоти-

ков, в том числе и полиморфных вариантов генов цитохрома P450 (*CYP*) [2, 3].

Авторами исследований подчеркивается, что полученные результаты валидны для конкретных изученных групп пациентов, так как распространенность полиморфизмов, а также характер их ассоциации с развитием ОЛЛ варьирует в различных этнических и расовых группах, а также может изменяться в зависимости от межгенных взаимодействий, возраста пациента, подтипа лейкоза и др.

Применение токсичных химиотерапевтических лекарственных средств для лечения пациентов с ОЛЛ является причиной развития осложнений (побочных реакций). К наиболее распространенным относят осложнения, связанные с нарушениями работы желудочно-кишечного тракта (желудочно-кишечная токсичность, гепатотоксичность), развитие которых обусловлено в том числе и индивидуальными характеристиками метаболизма лекарственных средств. Именно особенности функционирования ферментных систем, участвующих в процессах биотрансформации ксе-

нобиотиков, оказывают влияние на развитие токсических эффектов при проведении химиотерапии [4].

Негативное влияние осложнений химиотерапии на желудочно-кишечный тракт проявляется не только снижением качества жизни пациентов, но и приводит к изменению приверженности к лечению. Токсические эффекты химиотерапии являются основанием изменения тайминга протокола лечения, а также снижения дозы лекарственного средства в организме пациента, что отрицательно сказывается на эффективности терапии. Для профилактики и лечения некоторых проявлений осложнений химиотерапии (рвота, диарея) существуют эффективные лекарственные средства, для других (колит, гепатит) эффективных средств профилактики и лечения мало или практически нет. Нарушения работы ферментов могут возникать как за счет снижения активности фермента, что приводит к нарушениям процесса детоксикации, так и за счет увеличения активности фермента, что приводит к избыточному образованию реактивных метаболитов и усилению токсичности [3, 4].

Способность организма человека противостоять воздействию неблагоприятных факторов (токсины, канцерогены) основана на функционировании ферментных систем организма, которые преобразовывают токсичные соединения в полярные водорастворимые метаболиты и могут быть выведены из организма. Белки суперсемейства цитохрома P450 являются основными ферментами, участвующими в фазе I метаболизма чужеродных соединений. Их структура, функции и активность контролируются генами *CYP*, среди которых широко распространены полиморфные варианты, играющие важную роль в межиндивидуальной вариабельности реакций на лекарственные средства, а также во взаимодействиях между различными лекарственными средствами (*drug-drug interaction*), лекарственными средствами и другими ксенобиотиками (*drug-xenobiotic interaction*), кроме того оказывающие влияние на восприимчивость организма к химически индуцированным заболеваниям [3, 5].

Основные процессы биотрансформации ксенобиотиков локализованы в печени, где в ходе I фазы их метаболизма происходит образование реактивных токсичных соединений. Семейство генов *CYP* относят к высоко полиморфным генам. Для большинства из 57 генов этого семейства описано от 2 до 140 аллелей, представляющих собой либо однонуклеотидные полиморфизмы, либо делеции (отдельных

нуклеотидов или участков гена). Присутствие в геноме измененного аллеля приводит к изменению структуры, функции, уровня каталитической активности фермента. Для генов семейства *CYP* распространенность различных полиморфных вариантов зависит от этнической и расовой принадлежности [1, 2, 3, 4].

Ген *CYP1A1* кодирует фермент (гидроксилазу), который участвует в процессах биотрансформации и метаболической активации ароматических углеводов. Полиморфизм T6235C гена *CYP1A1* (*CYP1A1*2A*, m1 или rs4646903) характеризуется нуклеотидной заменой T на C в положении 6235 в 3'-фланкирующей области гена *CYP1A1*, что создает сайт расщепления для рестриктазы *MspI*. Наличие полиморфизма T6235C ассоциировано с изменением уровня экспрессии гена и стабильности матричной РНК, что приводит к увеличению каталитической активности фермента [3].

Полиморфизм A4889G в гене *CYP1A1* (*CYP1A1*2C*, m2, Ile462Val или rs1048943) характеризуется нуклеотидной заменой A на G в 7 экзоне гена в кодоне 462, приводит к замене изолейцина (Ile) на валин (Val) в положении 462 и создает сайт расщепления для рестриктазы *BsrDI*. Этот полиморфизм ассоциирован с двукратным увеличением активности микросомальных ферментов [2, 3, 5].

Ген *CYP2E1* человека расположен на 10 хромосоме, содержит 9 экзонов и 8 интронов. Данный ген контролирует синтез ферментов, принимающих участие в метаболизме низкомолекулярных соединений (этанол, ацетон), лекарственных средств, проканцерогенов (бензол, нитрозамины, N-нитрозодиметилламин) [6].

Полиморфизмы C1053T/G1293C в гене *CYP2E1* (*CYP2E1*5B*; rs2031920/rs3813867) характеризуются заменами в регионе, расположенном в 5'-фланкирующей области гена, что создает сайты расщепления для рестриктаз *RsaI/PstI*. В экспериментах *in vitro* было показано, что присутствие данных полиморфизмов ассоциировано с изменением уровня экспрессии фермента [5, 6].

Полиморфизм T7632A в гене *CYP2E1* (*CYP2E1*6*, rs6413432) характеризуется заменой нуклеотида в интроне 6, что создает сайт расщепления для рестриктазы *DraI*. Наличие данного полиморфизма ассоциировано со снижением активности фермента и увеличением количества одноцепочечных разрывов ДНК [5, 6].

Ген *CYP2D6* локализован на 22 хромосоме (22q13.2), содержит в гене 9 экзонов. Это высокополиморфный ген, который имеет более

100 аллельных и субаллельных вариантов [6]. Полиморфные варианты гена *CYP2D6* ассоциированы как со статусом организмов с низким уровнем метаболизма ксенобиотиков, так и со сверхбыстрым уровнем метаболизма. У сверхбыстрых метаболизаторов в геноме присутствует до 13 копий активного гена *CYP2D6*. Несмотря на низкое содержание *CYP2D6* в печени по сравнению с другими ферментами *CYP* (2–4 %), именно этот фермент участвует в метаболизме значительной части лекарственных средств, которые используются в клинической практике [3, 7].

Полиморфизм A2549del в гене *CYP2D6* (*CYP2D6**3, rs35742686), характеризуется делецией нуклеотида в положении 2549, что создает сайт рестрикции для фермента *MspI*. Присутствие в геноме данного аллеля приводит к синтезу функционально неактивного фермента, что существенно замедляет метаболизм ксенобиотиков у носителя, снижает эффективность лечения, приводит к накоплению промежуточных токсичных продуктов метаболизма в организме и появлению побочных реакций [3, 7].

Полиморфизм G1846A в гене *CYP2D6* (*CYP2D6**4, rs3892097) характеризуется заменой нуклеотида в положении 1846, в результате чего исчезает сайт расщепления для фермента *MvaI*. Так же как и в случае присутствия полиморфного варианта A2549del, у носителей полиморфизма G1846A происходит синтез неактивной формы фермента [3, 7].

Полиморфизм C100T в гене *CYP2D6* (*CYP2D6**10, rs1065852) характеризуется заменой нуклеотида С на Т в положении 100, что создает сайт расщепления для фермента *HphI*. Присутствие данного аллеля в геноме приводит к синтезу фермента со сниженной активностью и замедляет реакции метаболизма чужеродных соединений [7].

Таким образом, вариации в генах P450 могут приводить к синтезу белков с измененной каталитической активностью, что проявляется высокой индивидуальной вариабельностью метаболизма лекарственных средств и фармакологических эффектов. Поэтому актуальным представляется изучение роли полиморфизма генов цитохрома p450 в развитии токсических гепатитов на фоне полихимиотерапии при ОЛЛ.

Цель работы — установить распространенность полиморфизмов генов *CYP1A1*, *CYP2E1*, *CYP2D6* у пациентов с гепатотоксичностью на фоне химиотерапевтического лечения острого лимфобластного лейкоза.

Материалы и методы. Объектами исследования явились пациенты, страдающие ОЛЛ. В основную группу исследования были включены 43 пациента. Возраст пациентов основной группы исследования составил 6,8 (2–17) лет. В распределении по гендерной принадлежности незначительное преобладание пациентов мужского пола — 24 мальчика (55,8 %) и 19 девочек (44,2 %). Все пациенты на момент обследования получали специфическую терапию по протоколу ALL-MB-2015 на базе ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии» и гематологического отделения ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека».

В качестве биологического материала у пациентов проводили взятие периферической крови, которую забирали в стерильные вакуумные пробирки («МиниМед», РФ). Цитрат натрия или ЭДТА использовали как антикоагулянт. Пробирки с кровью замораживали и оставляли для хранения при температуре –18 °С. Выделение ДНК из крови проводили с использованием коммерческого набора реагентов NucleoSpin Blood (Macherey-Nagel).

Также у пациентов проводили взятие соскобов эпителиальных клеток слизистой ротовой полости (буккального эпителия) с использованием одноразовых универсальных стерильных зондов. Материал с использованием зонда забирали со внутренней поверхности обеих щек пациента. Полученный материал помещали в пробирку типа эппендорф объемом 1,5 мл, содержащую 250 мкл транспортной среды с муколитиком («АртБиоТех», Беларусь). Пробирки замораживали и оставляли для хранения при температуре –18 °С. Выделение ДНК из соскобов буккального эпителия проводили с применением набора реагентов «АртДНК легкий» («АртБиоТех», Беларусь).

Для определения концентрации и степени чистоты выделенной ДНК проводили спектрофотометрические исследования (NanoDrop 1000, Thermo Fisher Scientific), при этом определяли отношение поглощения на длинах волн 260 и 280 нм ($A_{260/280}$).

ДНК, выделенную из биологического материала пациентов, использовали для амплификации фрагментов генов *CYP1A1*, *CYP2E1*, *CYP2D6*. Амплификацию ДНК проводили с применением специфических пар праймеров (таблица 1) и мастер-микса «ArtMix Форез

ДНК-полимераза» («АртБиоТех», Беларусь) на приборе QuantStudio™ 3 (Thermo Fisher Scientific).

Программы амплификации, которые использовали в ходе исследований, представлены в таблице 2.

Таблица 1 — Последовательности праймеров и ферменты для рестрикции фрагментов генов *CYP1A1*, *CYP2E1*, *CYP2D6*

Ген	№ rs	Фермент	Последовательность праймера
<i>CYP1A1</i>	rs1048943	<i>BsrDI</i>	F-CTGTCTCCCTCTGGTTACAGGAAGC
			R-TTCCACCCGTTGCAGCAGGATAGCC
	rs4646903	<i>MspI</i>	F-TAGGAGTCTTGTCTCATGCCT
			R-CAGTGAAGAGGTGTAGCCGCT
<i>CYP2E1</i>	rs6413432	<i>DraI</i>	F-TCGTCAGTTCCTGAAAGCAGG
			R-GAGCTCTGATGCAAGTATCGCA
	rs3813867	<i>Pst I</i>	F-CCAGTCGAGTCTACATTGTCA
			R-TTCATTCTGTCTTCTAACTGG
	rs2031920	<i>RsaI</i>	F-CCAGTCGAGTCTACATTGTCA
			R-TTCATTCTGTCTTCTAACTGG
<i>CYP2D6</i>	rs35742686	<i>MspI</i>	F-ATGAGCTGCTAACTGAGCCC
			R-CCGAGAGCATACTCGGGAC
	rs3892097	<i>MvaI</i>	F-TGCCGCCTTCGCCAACCCT
			R-TCGCCCTGCAGAGACTCCTC
	rs1065852	<i>HphI</i>	F-GTGCTGAGAGTGTCTGCC
			R-CACCCACCATCCATGTTTGC

Таблица 2 — Программы амплификации фрагментов генов *CYP1A1*, *CYP2E1*, *CYP2D6*

Ген	№ rs	Программа амплификации
<i>CYP1A1</i>	rs1048943	1 цикл: 95 °C — 5 мин 40 циклов: 95 °C — 40 с, 64 °C — 40 с, 72 °C — 40 с 1 цикл: 72 °C — 10 мин
	rs4646903	1 цикл: 95 °C — 5 мин 30 циклов: 95 °C — 60 с, 57 °C — 60 с, 72 °C — 90 с 1 цикл: 72 °C — 10 мин
<i>CYP2E1</i>	rs6413432	1 цикл: 95 °C — 5 мин 35 циклов: 95 °C — 40 с, 60 °C — 40 с, 72 °C — 60 с 1 цикл: 72 °C — 10 мин
	rs3813867	1 цикл: 95 °C — 5 мин 35 циклов: 95 °C — 30 с, 50 °C — 30 с, 72 °C — 30 с 1 цикл: 72 °C — 10 мин
	rs2031920	1 цикл: 95 °C — 5 мин 35 циклов: 95 °C — 30 с, 50 °C — 30 с, 72 °C — 30 с 1 цикл: 72 °C — 10 мин
<i>CYP2D6</i>	rs35742686	1 цикл: 95 °C — 5 мин 40 циклов: 95 °C — 30 с, 60 °C — 30 с, 72 °C — 30 с 1 цикл: 72 °C — 10 мин
	rs3892097	1 цикл: 95 °C — 5 мин 35 циклов: 95 °C — 30 с, 62 °C — 30 с, 72 °C — 30 с 1 цикл: 72 °C — 10 мин
	rs1065852	1 цикл: 95 °C — 5 мин 35 циклов: 95 °C — 30 с, 58 °C — 30 с, 72 °C — 30 с 1 цикл: 72 °C — 10 мин

Для идентификации уровней амплификации специфических и неспецифических фрагментов проводили анализ кривых плавления и электрофоретический анализ полученных ампликонов.

Далее проводили рестрикцию амплифицированных фрагментов с использованием ферментов: *BsrDI* (New England BioLabs); *MspI*

(Thermo Fisher Scientific); *DraI* (Thermo Fisher Scientific), *PstI* (Thermo Fisher Scientific), *RsaI* (New England BioLabs); *MvaI* (Thermo Fisher Scientific), *HphI* (New England BioLabs) (таблица 3). Анализ результатов рестрикции амплифицированных фрагментов проводили в 3 % агарозном геле методом электрофоретического анализа.

Таблица 3 — Длина продуктов амплификации, вариант генотипа и длина продуктов рестрикции фрагментов генов *CYP1A1*, *CYP2E1*, *CYP2D6*

Ген	Фермент	Длина продукта (п.о.)	Замена	Генотип — длина продуктов расщепления (п.о.)
<i>CYP1A1</i>	<i>BsrDI</i>	204	A2455G	Дикий тип (AA) — 150, 54
				Гетерозигота (AG) — 204, 150, 54
				Мутантный тип (GG) — 204
	<i>MspI</i>	340	T3801C	Дикий тип (TT) — 340
				Гетерозигота (TC) — 340, 200, 140
				Мутантный тип (CC) — 200, 140
<i>CYP2E1</i>	<i>DraI</i>	995	T7632A	Дикий тип (TT) — 571, 305, 121
				Гетерозигота (TA) — 876, 571, 305, 121
				Мутантный тип (AA) — 876, 121
	<i>PstI</i>	410	G1293C	Дикий тип (GG) — 410
				Гетерозигота (GC) — 410, 290, 120
				Мутантный тип (CC) — 290, 120
	<i>RsaI</i>	410	C1053T	Дикий тип (CC) — 360, 50
				Гетерозигота (CT) — 410, 360, 50
				Мутантный тип (TT) — 410
<i>CYP2D6</i>	<i>MspI</i>	270	A2549del	Дикий тип (AA) — 188, 82
				Гетерозигота (A/del) — 188, 168, 20
				Мутантный тип (del/del) — 168, 20
	<i>MvaI</i>	309	G1846A	Дикий тип (GG) — 201, 108
				Гетерозигота (GA) — 309, 201, 108
				Мутантный тип (AA) — 309
	<i>HphI</i>	330	C100T	Дикий тип (CC) — 282, 62
				Гетерозигота (CT) — 282, 182, 100
				Мутантный тип (TT) — 182, 100

Статистическая обработка полученных результатов проводилась при помощи компьютерной программы Statistica 10. Вид распределения количественных переменных определяли с использованием критерия Колмогорова — Смирнова. Так как распределение значений переменных было отличным от нормального, для их описания использовали медиану и квартили ($Me (Q_{25}/Q_{75})$). Для сравнения количественных показателей применяли критерий Манна — Уитни. При уровне значимости $p < 0,05$ различия считались статисти-

чески достоверными. Для описания частоты выявления признака приводили абсолютные (n) и относительные (%) значения.

Результаты и их обсуждение. В образцах крови и буккального эпителия пациентов, страдающих ОЛЛ, с применением метода ПЦР и рестриционного анализа была поведена идентификация полиморфных вариантов гена *CYP1A1* (A4889G и T6235C). Полученные результаты, характеризующие частоту выявления различных геновариантов, представлены в таблице 4.

Таблица 4 — Результаты выявления полиморфных вариантов гена *CYP1A1* у пациентов с острыми лимфобластными лейкозами

Ген	Генотип	Частота выявления	
		%	<i>n</i>
<i>CYP1A1</i> (<i>BsrDI</i>) rs1048943 (<i>n</i> = 43)	AA	93,02	40
	AG	4,65	2
	GG	2,33	1
<i>CYP1A1</i> (<i>MspI</i>) rs4646903 (<i>n</i> = 43)	TT	72,09	31
	TC	27,91	12
	CC	0	0

В ходе анализа результатов, полученных при изучении частоты выявления полиморфизма A4889G (rs1048943) в гене *CYP1A1*, у обследованных пациентов доминирующим был аллель дикого типа — AA (93,02 %, *n* = 40), гетерозиготный (AG) и мутантный (GG) аллели были выявлены в 4,65 % (*n* = 2) и 2,33 % (*n* = 1) случаев соответственно. Среди обследованных пациентов распространенность полиморфизма T6235C (rs4646903) в гене *CYP1A1* составила:

TT (аллель дикого типа) — 72,09 % (*n* = 31) случаев, гетерозиготный аллель TC — 27,91 % (*n* = 12) случаев. Мутантный аллель CC у обследованных пациентов не был выявлен.

Для гена *CYP2E1* было проведено выявление трех полиморфизмов: T7632A (rs6413432), G1293C (rs3813867) и C1053T (rs2031920). Полученные результаты, характеризующие частоту выявления различных геновариантов, представлены в таблице 5.

Таблица 5 — Результаты выявления полиморфных вариантов гена *CYP2E1* у пациентов с острыми лимфобластными лейкозами

Ген	Генотип	Частота выявления	
		%	<i>n</i>
<i>CYP2E1</i> (<i>DraI</i>) rs6413432 (<i>n</i> = 43)	TT	90,70	39
	TA	9,30	4
	AA	0	0
<i>CYP2E1</i> (<i>Pst I</i>) rs3813867 (<i>n</i> = 43)	GG	100	43
	GC	0	0
	CC	0	0
<i>CYP2E1</i> (<i>RsaI</i>) rs2031920 (<i>n</i> = 43)	CC	93,02	40
	CT	6,98	3
	TT	0	0

Анализ полученных результатов позволил установить, что у обследованных пациентов распространенность полиморфизма T7632A (rs6413432) составила: TT (аллель дикого типа) — 90,70 % (*n* = 39) случаев, гетерозиготный (аллель) TA — 9,30 % (*n* = 4) случаев. Мутантный аллель AA у обследованных пациентов не был выявлен. Для полиморфизма G1293C (rs3813867) было выявлено только присутствие дикого аллеля (GG) у обследованных пациентов (*n* = 43). Доминирующим аллелем полиморфизма C1053T (rs2031920) был аллель дикого типа CC (93,02 %, *n* = 40), гетерозиготный вариант CT был выявлен в 6,98 % (*n* = 3) случаев. Мутантный аллель TT

у обследованных пациентов не был выявлен.

В ходе исследований в гене *CYP2D6* проводили определение трех полиморфизмов: A2549del (rs35742686), G1846A (rs3892097), C100T (rs1065852). Полученные результаты, характеризующие частоту выявления различных геновариантов, представлены в таблице 6.

При проведении анализа результатов, полученных для полиморфизма A2549del (rs35742686), было установлено, что среди обследованных пациентов преобладают носители аллеля дикого типа AA — 95,35 % (*n* = 41) случаев. Частота выявления гетерозиготного аллеля (A/del) составила 2,33 % (*n* = 1) случа-

ев, мутантного аллеля (del/del) — 2,33 % ($n = 1$) случаев. Среди обследованных пациентов распространенность полиморфизма G1846A (rs3892097) в гене *CYP2D6* составила:

GG (аллель дикого типа) — 60,47 % ($n = 26$) случаев, гетерозиготный аллель GA — 32,56 % ($n = 14$) случаев, мутантный аллель AA — 6,97 % ($n = 3$).

Таблица 6 — Результаты выявления полиморфных вариантов гена *CYP2D6* у пациентов с острыми лимфобластными лейкозами

Ген	Генотип	Частота выявления	
		%	n
<i>CYP2D6</i> (<i>MspI</i>) rs35742686 ($n = 43$)	AA	95,35	41
	A/del	2,33	1
	del/del	2,33	1
<i>CYP2D6</i> (<i>MvaI</i>) rs3892097 ($n = 43$)	GG	60,47	26
	GA	32,56	14
	AA	6,97	3
<i>CYP2D6</i> (<i>HphI</i>) rs1065852 ($n = 40$)	CC	52,50	21
	CT	20,00	8
	TT	27,50	11

В трех образцах (6,98 %) после проведения амплификации фрагмента гена *CYP2D6* для идентификации полиморфизма C100T (rs1065852) не было выявлено специфических ампликонов ни при анализе кривых плавления, ни при электрофоретической детекции. При этом в данных пробах фрагменты других анализируемых генов (*CYP1A1*, *CYP2E1*), а также фрагменты гена *CYP2D6* для идентификации полиморфизмов A2549del (rs35742686), G1846A (rs3892097) были успешно амплифицированы. Повторное выделение ДНК и амплификация данного фрагмента гена *CYP2D6* подтвердила отсутствие специфических ампликонов в данных образцах ($n = 3$), что может быть связано со сложной структурной организацией гена *CYP2D6* и наличием межиндивидуальных особенностей структуры гена в области отжига подобранных пар праймеров. Таким образом, анализ полиморфизма C100T (rs1065852) в гене *CYP2D6* проводили для 40 пациентов. Присутствие дикого аллеля (CC) было выявлено у 52,50 % ($n = 21$) обследованных пациентов, гетерозиготного геноварианта CT — у 20,00 % ($n = 8$), мутантного аллеля TT — у 27,50 % ($n = 11$) обследованных пациентов.

Заключение. У обследованных пациентов с ОЛЛ частота выявления аллелей дикого типа была доминирующей для полиморфизмов: A4889G (rs1048943) в гене *CYP1A1*; T7632A (rs6413432), G1293C (rs3813867) и C1053T (rs2031920) в гене *CYP2E1*; A2549del (rs35742686) в гене *CYP2D6*, для данных геновариантов частота выявления составила от 90,70 до 100 %.

Распространенность гетерозиготных геновариантов среди обследованных пациентов была выше для полиморфизма T6235C (rs4646903) в гене *CYP1A1* (гетерозиготный аллель TC — 27,91 % ($n = 12$) случаев), а также для полиморфизма G1846A (rs3892097) в гене *CYP2D6* (гетерозиготный аллель GA — 32,56 % ($n = 14$) случаев).

Самая высокая частота выявления мутантного аллеля была установлена для полиморфизма C100T (rs1065852) в гене *CYP2D6* (мутантный аллель TT — 27,50 % ($n = 11$) случаев).

Изучение влияния изменений в функционировании ферментных систем на формирование осложнений при химиотерапии ОЛЛ поможет разработать эффективные подходы к профилактике и лечению осложнений химиотерапии на основании персонализированного подхода с учетом индивидуальных молекулярно-генетических характеристик ферментных систем пациента.

Для установления распространенности полиморфных вариантов генов *CYP* среди пациентов с ОЛЛ, а также для определения их ассоциации с индивидуальными реакциями на химиотерапевтические лекарственные средства и формированием осложнений в ходе лечения должны быть проведены дальнейшие исследования, в ходе которых будет расширена выборка для анализа изученных полиморфизмов с целью более точного определения истинной популяционной частоты изучаемых генетических вариантов как у пациентов с ОЛЛ, так и в группе сравнения.

Список цитированных источников

1. The Prenatal Origin of Childhood Leukemia: Potential Applications for Epidemiology and Newborn Screening / E. L. Marcotte [et al.] // *Front. Pediatr.* — 2021. — Vol. 9. DOI:10.3389/fped.2021.639479.
2. Genetic polymorphisms of CYP1A1 and risk of leukemia: a meta-analysis / J. Lu [et al.] // *Onco. Targets and therapy.* — 2015. — Vol. 8. — P. 2883–2902. DOI: 10.2147/OTT.S92259.
3. Genetic Polymorphisms of Metabolic Enzymes CYP1A1, CYP2D6, GSTM1 and GSTT1 and Leukemia Susceptibility / H. C. Chen [et al.] // *Europ. J. of Cancer. Prevention.* — 2018. — Vol. 17, № 3. — P. 251–258.
4. Potential role of drug metabolizing enzymes in chemotherapy-induced gastrointestinal toxicity and hepatotoxicity / G. Tao [et al.] // *Expert. Opin. Drug. Metab. Toxicol.* — 2020. — Vol. 16, № 11. — P. 1109–1124. DOI: 10.1080/17425255.2020.1815705.
5. CYP polymorphisms and pathological conditions related to chronic exposure to organochlorine pesticides / A. O. Docea // *Toxicol Rep.* — 2017. — Vol. 4. — P. 335–341. DOI: 10.1016/j.toxrep.2017.05.007.
6. CYP1A1 and CYP2E1 polymorphism frequencies in a large Brazilian population / R. Coura dos Santos [et al.] // *Genetics and Molecular Biology* . — 2007. — Vol. 30, № 1. — P. 1–5. DOI: 10.1590/S1415-47572007000100001.
7. PharmVar GeneFocus: CYP2D6 / C. Nofziger [et al.] // *Clin. Pharmacol. Ther.* — 2020. — Vol. 107, № 1. — P. 154–170. DOI: 10.1002/cpt.1643.

Cyp gene polymorphism in children with hepatotoxicity after chemotherapeutic treatment of acute lymphoblastic leukemia

Rudenkova T. V.¹, Kostiuk S. A.¹, Klimkovich N. N.¹, Demidenko A. N.²

¹ *State Institution Education “Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education”, Minsk, Republic of Belarus;*

² *State Institution “Republican Scientific and Practical Center for Radiation Medicine and Human Ecology”, Gomel, Republic of Belarus*

The main processes of xenobiotics biotransformation are localized in the liver, where reactive toxic compounds are generated during the first phase of their metabolism. The *CYP* genes family is classified as highly polymorphic genes. The prevalence of various polymorphic variants depends on ethnicity and race. The use of toxic chemotherapeutic drugs for the treatment of patients with acute lymphoblastic leukemia is the cause of complications progress (e.g. hepatotoxicity), determined the individual characteristics of drug metabolism. Features of the functioning of enzyme systems involved in the processes of xenobiotics biotransformation influence the development of toxic effects during chemotherapy. In the examined children with acute lymphoblastic leukemia, the high frequency of the mutant allele detection was established for the C100T (rs1065852) polymorphism in the *CYP2D6* gene (TT mutant allele — 27.50 % ($n = 11$) of cases).

Keywords: acute lymphoblastic leukemia, gene polymorphism, *CYP1A1*, *CYP2E1*, *CYP2D6*.

Поступила 10.06.2022