

АНАЛИЗ ГЕНОТИПИЧЕСКИХ ВАРИАНТОВ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА CYP2C9 В УЗБЕКСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

Докт. мед. наук Х. Я. КАРИМОВ¹, С. Б. АЗИМОВА²,
докт. мед. наук К. Т. БОБОЕВ¹

¹ НИИ гематологии и переливания крови, Ташкент

² Ташкентская медицинская академия,
Республика Узбекистан

Проведен анализ генотипических комбинаций полиморфных вариантов 430С > Т и 1075А > С гена цитохрома P450 CYP2C9 у больных хроническим гепатитом В и условно здоровых лиц узбекской популяции. Показано, что полиморфные варианты 430С > Т (Arg144Cys) и 1075А > С (Ile359Leu) гена CYP2C9 в Узбекистане имеют популяционные особенности. По частоте распространенности полученные нами данные ближе к данным азиатской популяции, достоверно отличаясь при этом от данных европейской популяции.

Ключевые слова: хронический гепатит, полиморфизм гена CYP2C9.

Активное развитие методов изучения генома человека в последние два десятилетия обусловило новый этап в развитии медицины, характеризующийся переходом ее на молекулярный уровень. Анализ множества генов и их взаимодействия позволяет определить предрасположенность к развитию болезни, что является основой для оценки прогноза, профилактики и ранней терапии ряда заболеваний.

В настоящее время проводится все больше исследований, связанных с изучением генетического полиморфизма, который является фактором риска развития различных заболеваний. Выявление взаимосвязи полиморфизма генов с риском развития хронических заболеваний, а также с эффективностью лечения данных заболеваний остается актуальным для каждой популяционной группы ввиду вариабельности частот аллелей в различных популяциях [1].

В клинической практике наибольшее значение имеет полиморфизм генов, ответственных за синтез ферментов, катализирующих метаболические процессы. Ген CYP2C9 относится к семейству цитохромов P450, которые играют важную роль в процессах окисления ксенобиотиков и эндогенных соединений [2].

Использование генотипирования пациентов позволяет установить аллельные состояния генов, кодирующих изофермент CYP2C9, который обуславливает нарушения лекарственного метаболизма, а также синтеза холестерина, стероидов и других липидов у конкретного пациента. Последующее фенотипирование показывает скорость биотрансформации, которую обеспечивает изофермент с известным генотипом [3, 4]. При этом фенотипирование является прямым методом определения активности изоферментов цитохрома P450, позволяющим оценить не только генотип, но и его роль в развитии сопутствующих заболеваний,

а также влияние лекарственной терапии на скорость биотрансформации лекарственных средств [5]. Следует отметить, что содержание изофермента CYP2C9 в печени составляет 18% и оказывает значительное влияние на развитие заболеваний печени [3].

Аутоиммунный гепатит и другие формы гепатитов могут изменять печеночную экспрессию P450 и активность ферментов. Нарушения функции печеночных цитохромов P450 были отмечены у больных хроническим гепатитом В (ХГВ) [6].

Целью настоящего исследования является анализ генотипических комбинаций полиморфных вариантов 430С > Т и 1075А > С гена цитохрома P450 CYP2C9 у больных ХГВ и условно здоровых лиц узбекской популяции.

Материалом для молекулярно-генетического исследования служила периферическая кровь 37 больных с верифицированным диагнозом ХГВ, которые вошли в основную группу, и 30 условно здоровых доноров, не страдающих данной патологией, составивших контрольную группу. При отборе лиц учитывали их национальную принадлежность. Пациенты обеих групп являлись лицами узбекской национальности в возрасте от 20 до 60 лет. Лица основной и контрольной групп постоянно проживают в различных регионах Республики Узбекистан.

Выделение ДНК проводили по стандартной методике, идентификацию аллелей полиморфизма осуществляли с использованием полимеразной цепной реакции на программируемом термоциклере («Applied Biosystems», США) с последующим расщеплением фрагментов ДНК рестриктазой согласно рекомендациям фирмы-изготовителя. Продукты амплификации фрагментов ДНК разделяли в 2–3%-ном агарозном геле и после окраски этидиум бромидом детектировали в проходящем УФ свете.

Частоту вариантов аллелей и генотипов (f) рассчитывали по формуле:

$$f = n/2N \text{ и } f = n/N,$$

где n – встречаемость варианта (аллеля или генотипа), N – объем выборки.

Относительный риск (OR) развития заболевания рассчитывали по стандартной формуле:

$$OR = a/b \times d/c,$$

где a и b – количество больных, у которых мутантный аллель выявлен/отсутствовал соответственно, и c и d – количество лиц в контрольной группе, у которых мутантный аллель выявлен/отсутствовал соответственно.

В результате проведенного исследования нами было идентифицировано 2 мутантных аллеля (CYP2C9*2 и CYP2C9*3) и 1 аллель дикого типа (CYP2C9*1); выявлено 5 генотипов (CYP2C9*1/1, CYP2C9*1/2, CYP2C9*1/3, CYP2C9*2/3, CYP2C9*2/2) из 6 возможных комбинационных вариантов (*1/*1; *1/*2; *1/*3; *2/*2; *2/*3; *3/*3).

Нормальная каталитическая активность фермента соответствовала варианту CYP2C9*1. Наличие мутаций, заключающихся в замене аргинина на цистеин в 144-й позиции или изолейцина на лейцин в 359-й позиции, приводит к существенному снижению каталитической активности фермента (варианты CYP2C9*2 и CYP2C9*3). Следует отметить, что в настоящее время наиболее хорошо изученными однонуклеотидными полиморфизмами гена CYP2C9 являются аллельные варианты CYP2C9*2 и CYP2C9*3, у носителей которых отмечается снижение активности CYP2C9, что приводит к снижению скорости биотрансформации лекарственных средств [5].

В результате генотипирования CYP2C9 у пациентов основной и контрольной групп были получены следующие результаты (табл. 1): отмечена наиболее высокая частота встречаемости генотипа CYP2C9*1/*1 – 89,2% случаев в основной и 86,7% – в контрольной группе. При сравнении частот CYP2C9*1/*1 генотипа в основной и контрольной группах статистически значимых различий в распределении не выявлено (табл. 2). Генотип CYP2C9 2*/*2 в изучаемых выборках выявлен не был. Частота генотипа CYP2C9 *1/*3 составила 5,4% в основной группе и 6,6% – в контрольной группе, что сопоставимо с частотами данных генотипов некоторых азиатских популяций [7].

Сравнительный анализ распределения частот генотипических вариантов гена CYP2C9 не показал статистически достоверных различий между контрольными группами Узбекистана, Китая и Кореи ($p > 0,05$) (табл. 3). При этом обнаружено, что у узбеков по сравнению с этими популяциями чаще встречался генотип CYP2C9*2/*3, однако такие различия не являлись статистически значимыми ($p > 0,05$). Кроме того, в азиатских популяциях

Таблица 1

Распределение частот генотипов гена CYP2C9 в выборках основной и контрольной групп

Генотип	Основная группа, n =37		Контрольная группа, n =30	
	абс. ч.	%	абс. ч.	%
CYP2C9*1/*1	33	89,2	26	86,7
CYP2C9*1/*2	1	2,7	1	3,3
CYP2C9*1/*3	2	5,4	2	6,6
CYP2C9*2/*2	0	0,0	0	0,0
CYP2C9*2/*3	1	2,7	1	3,3

Таблица 2

Различие генотипов гена CYP2C9 у пациентов основной и контрольной групп

Генотип	Частота аллелей и генотипов в группах, %	
	основная	контрольная
CYP2C9*1/*1	89,2	86,7
CYP2C9*1/*2	2,7	3,3
CYP2C9*1/*3	5,4	6,6
CYP2C9*2/*2	0,0	0,0
CYP2C9*2/*3	2,7	3,3

Таблица 3

Распределение частот генотипов гена CYP2C9 в некоторых странах мира

Генотип	Частота, %			
	Турция	Китай	Корея	Узбекистан
CYP2C9*1/*1	61,72	94,0	88,0	86,7
CYP2C9*1/*2	18,04	0,0	0,0	3,3
CYP2C9*1/*3	17,23	6,0	12,0	6,6
CYP2C9*2/*2	1,0	0,0	0,0	0,0
CYP2C9*2/*3	1,10	0,0	0,0	3,3
CYP2C9*3/*3	0,80	0,0	0,0	0,0
Источник	[8]	[7]	[9]	Наши данные

аллель CYP2C9*2 не обнаружен, а CYP2C9*3 встречается у жителей Японии и Китая в 1,5–3% случаев [7, 10, 11]. Распространенность аллельных полиморфизмов цитохрома CYP2C9 в европейских популяциях достаточно высока [12]. По данным зарубежных исследователей [13, 14], частота выявления варианта CYP2C9*2 составляла 15,7%, а CYP2C9*3 – 15%. Популяционные исследования, проведенные в Санкт-Петербурге, показали, что аллель CYP2C9*1 встречался в 82,66% случаев, а CYP2C9*2 и CYP2C9*3 – в 11,11 и 6,32% соответственно [15, 16].

Некоторые различия в распространенности аллельных вариантов гена CYP2C9 по сравнению с нашими данными были получены Ю. А. Михеевой и соавт. [17]. По данным исследователей, дикий вариант CYP2C9*1/*1 гена обнаруживался реже (68,5%), чем в нашем исследовании (86,7%); в гомозиготном состоянии был выявлен аллель CYP2C9*2/*2 у 1,2% обследованных; аллель CYP2C9*3/*3 — у 2,4%. Распространенность гетерозиготных вариантов составила для CYP2C9*1/*2 и CYP2C9*1/*3 — 14,3% и 11,9% соответственно и существенно отличалась от полученных нами данных.

Таким образом, на основании проведенного нами исследования установлено, что полиморфные вари-

анты 430C > T (Arg144Cys) и 1075A > C (Leu359Leu) гена CYP2C9 в Узбекистане имеют популяционные особенности, частота встречаемости изученного полиморфизма сопоставима с литературными данными по азиатской популяции и достоверно отличается от данных европейской популяции.

Полученные результаты не позволяют говорить о том, что изучаемый полиморфизм является значимым генетическим фактором риска формирования ХГВ. Для оценки прогностического значения данного генетического маркера в развитии ХГВ и его клинического течения необходимо проведение дальнейших исследований с изучением экспрессии CYP2C9 на большем количестве больных.

Литература

1. Биотрансформация лекарственных препаратов / Под ред. академика РМН, проф. В. Г. Кукуеса.— М.: Палея-М, 2001.— 133 с.
2. Лисица А. В. База знаний о цитохроме P-450: разработка и применение: автореф. дис. ... докт. биол. наук.— М., 2007.— 44 с.
3. Кукуес В. Г. Клиническая фармакология.— М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009.— 964 с.
4. Lundblom M. S. Interindividual reaction in drug metabolism with focus on polymorphic cytochrome 450 2C9.— Stockholm: Repro Print AB, 2005.— 126 p.
5. Метаболизм лекарственных средств. Научные основы персонализированной медицины: руководство для врачей / В. Г. Кукуес, С. В. Грачев, Д. А. Сычев, Г. В. Раменская.— М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008.— 304 с.
6. Immunoreactivity to various human cytochrome P450 proteins of sera from patients with autoimmune hepatitis chronic hepatitis B and chronic hepatitis C / H. Miyakawa, E. Kitazawa, K. Kikuchi et al. // Autoimmunity.— 2000.— Vol. 33 (1).— P. 23–32.
7. Frequency of Cytochrome P450 2C9 (CYP2C9) Alleles in Three Ethnic Groups in Malaysia / K. C. Seng, G. G. Gin, J. V. Sangkar, M. E. Phipps // Asia Pacific J. of Mol. Biol. and Biotech.— 2003.— Vol 1.— P. 83–91.
8. Frequency of cytochrome P450 CYP2C9 variants in a Turkish population and functional relevance for phenytoin / A. S. Aynacioglu, J. Brockmoller, S. Bauer et al. // Br. J. Clin. Pharmacol.— 1999.— Vol. 483.— P. 409–415.
9. Allele and genotype frequencies of CYP2C9 in a Korean population / J.- W. Bae, H.- K. Kim, J.- H. Kim et al. // Br. J. Clin. Pharmacol.— 2005.— Vol. 60.— P. 418–422.
10. Genetic polymorphism of cytochrome P450s, CYP2C19 and CYP2C9 in a Japanese population / K. Miyuki, I. Johiro, M. Koshuke et al. // Ther. Drug Monit.— 1998.— Vol. 20.— P. 243–247.
11. Validation of methods for CYP2C9 genotyping: frequencies of mutant alleles in a Swedish population / U. Yasar, E. Eliasson, M. L. Dahl et al. // Biochem. Biophys. Res. Commun.— 1999.— Vol. 254.— P. 628–631.
12. Weber W. Populations and genetic polymorphisms // Mol. Diagn.— 1999.— Vol. 4, № 4.— P. 299–307.
13. Effect of polymorphisms in the cytochrome P450 CYP2C9 gene on warfarin anticoagulation / D. M. Adcock, C. Koftan, D. Crisan, F. L. Kiechle // Arch. Pathol. Lab. Med.— 2004.— Vol. 128.— P. 1360–1363.
14. Sanderson S., Emery J., Higgins J. CYP2C9 gene variants, drug dose and bleeding risk in warfarin treated patients: a HuGenet systematic review and meta analysis / Genet. Med.— 2005.— Vol. 7.— P. 97–104.
15. Аллельные варианты CYP2C9*2 и CYP2C9*3 гена цитохрома CYP2C9 в популяции Санкт-Петербурга и их клиническое значение при антикоагулянтной терапии варфарином / О. В. Сироткина, А. С. Улитина, А. Е. Тараскина и др. // Рос. кардиол. журн.— 2004.— № 6.— С. 47–51.
16. Полиморфизм CYP2C9: новый фактор риска развития желудочно-кишечных осложнений при применении нестероидных противовоспалительных препаратов / А. Ю. Обжерина, Д. А. Сычев, Ю. В. Муравьев и др. // Клин. фармакол. и фармакоэкономика.— 2009.— Т. 2. № 5.— С. 20–25.
17. Полиморфизм гена цитохрома P4502C9 (CYP2C9) и безопасность терапии варфарином / Ю. А. Михеева, Е. С. Кропачева, И. В. Игнатьев и др. // Кардиология.— 2008.— № 48.— С. 52–57.

АНАЛІЗ ГЕНОТИПОВИХ ВАРІАНТІВ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНУ CYP2C9 В УЗБЕЦЬКІЙ ПОПУЛЯЦІЇ

Х. Я. КАРИМОВ, С. Б. АЗИМОВА, К. Т. БОБОЄВ

Проведено аналіз генотипових комбінацій поліморфних варіантів 430C > T і 1075A > C гену цитохрому P450 CYP2C9 у хворих на хронічний гепатит В і умовно здорових осіб узбецької популяції. Показано, що поліморфні варіанти 430C > T (Arg144Cys) і 1075A > C (Leu359Leu) гену CYP2C9

в Узбекистане имеют популяционные особенности. За частотою поширеності отримані нами дані ближчі до даних азіатської популяції, достовірно відрізняючись при цьому від даних європейської популяції.

Ключові слова: хронічний гепатит, поліморфізм гену CYP2C9.

THE ANALYSIS OF GENOTYPIC VARIANTS OF CYP2C9 GENE POLYMORPHISM IN UZBEK POPULATION

Kh. Ya. KARIMOV, S. B. AZIMOVA, K. T. BOBOYEV

Genotypic combinations of polymorphic variants of 430C > T and 1075A > C gene cytochrome P450 CYP2C9 was analyzed in patients with chronic hepatitis B and in conventionally healthy persons of Uzbek population. It is shown that polymorphic variants 430C > T (Arg144Cys) and 1075A > C (Ile359Leu) of gene CYP2C9 in Uzbekistan have populational peculiarities. By prevalence, the obtained data are closer to those of Asian population, significantly differing from those of European population.

Key words: chronic hepatitis, CYP2C9 gene polymorphism.

Поступила 02.08.2012