

Распределение генотипов *CYP1A1(Ile462Val)*, *CYP2C9*2*, *CYP2B6*2*, *CYP2B6*6*, *CYP3A4*1B* среди жителей г.Ростова-на-Дону

Махарин О.А.

Существует множество примеров, демонстрирующих, что различия ответа (в том числе низкая эффективность либо частое развитие побочных эффектов) на лекарственную терапию могут быть обусловлены SNP-полиморфизмом генов, кодирующих ферменты биотрансформации лекарств (Сычев Д.А., 2010). Гены системы биотрансформации кодируют большую группу ферментов, участвующих в детоксикации ксенобиотиков. Процесс детоксикации условно разделяют на фазу активации ксенобиотиков с образованием промежуточных метаболитов; фазу детоксикации, когда происходит превращение промежуточных метаболитов в растворимые в воде нетоксичные продукты, и фазу выведения. Установлено, что в метаболизме большинства лекарственных средств, ключевую роль играют цитохромы первых трех семейств (Петров В.И. и соавт., 2010).

Важным свойством цитохромов является их высокая стереоселективность по отношению к субстратам. При этом известно, что в биотрансформации лекарственных препаратов может принимать участие как один, так и несколько цитохромов (Kazuma K. et al., 2012).

Целью нашей работы было изучение распространенности полиморфизмов *CYP1A1(Ile462Val)*, *CYP2C9*2*, *CYP2B6*2*, *CYP2B6*6*, *CYP3A4*1B* среди жителей г.Ростова-на-Дону.

Материалы и методы

В работу вошло 364 добровольца, мужчины и женщины кавказоидной популяции, жители г. Ростов-на-Дону.

ПЦР проводили на амплификаторе Corbat Reseach (Australia) с использованием комплекса реагентов для амплификации «SNP - экспресс» фирмы «Biosune Biotechnology Co. Ltd», Китай. Анализ основан на одновременном проведении двух реакций амплификации с двумя парами аллель-специфичных праймеров. Одна пара праймеров комплементарна нормальному аллелю, вторая комплементарна полиморфному аллелю. Данный анализ позволяет выявлять как гетерозиготное носительство полиморфных аллелей, так и гомозиготное состояние.

Результаты работы:

Цитохром *CYP1A1*. Ген *CYP1A1* локализован на 15 хромосоме, в локусе 15q22-q24 и кодирует фермент арилуглеводородкарбоксылазу, представляющий собой белок, состоящий из 512 аминокислотных остатков, имеющий массу 58 кДальтон (Кукес, 2008). Фермент обнаружен, в основном в легких, в меньшей степени - в лимфоцитах и плаценте. Арилуглеводородкарбоксылаза участвует в метаболизме эстрогенов - осуществляет гидроксилирование эстрадиола, что приводит к его активации. Полициклические ароматические углеводороды, в свою очередь, являются индукторами экспрессии гена *CYP1A1*. Проникнув в клетку и соединившись с Ah- рецептором, являющимся белком из класса регуляторов транскрипции, ПАУ образуют комплекс - ПАУ-Ah-рецептор. Этот комплекс проникает в ядро и индуцирует экспрессию гена *CYP1A1*, связываясь со специфическим "диоксин-чувствительным" сайтом гена (Кукес, 2008). Таким образом, у

курающих людей индукция CYP1A1 осуществляется наиболее интенсивно, что приводит к биоактивации канцерогенов.

На сегодняшний день идентифицируют 4 полиморфизма в гене CYP1A1. Один из них, представляет собой однонуклеотидную замену А-Г в экзоне 7 в положении 2455 последовательности гена и приводит к замене аминокислоты изолейцина (Ile) на валин (Val) в 462 положении аминокислотной последовательности белка. В результате продуцируется фермент, активность которого почти в 2 раза выше, чем в исходном белке, что ведет к увеличению концентрации недоокисленных промежуточных токсических метаболитов и накоплению свободных радикалов. Этот полиморфизм встречается почти у 7% представителей европеоидной расы и рассматривается как фактор риска возникновения рака легких. Данные о частоте генотипов и аллелей по полиморфизму *Ile462Val* гена *CYP1A1* представлены в таблице 1.

Таблица 1. - Частоты генотипов (абс., %) и аллелей по полиморфизму *Ile462Val* гена *CYP1A1* среди жителей Ростова-на-Дону

Генотип, аллель	Мужчины	Женщины	χ^2 (P)	Всего
<i>Ile/Ile</i>	110 (89,4)	210 (87,1)	0,4 (0,82)	320 (87,9)
<i>Ile/Val</i>	13 (10,6)	31 (12,9)		44 (12,1)
<i>Аллель 462Val</i>	0,052	0,064	0,38 (0,54)	0,06
Соответствие равновесию Харди- Вайнберга (P)	0,54	0,29		0,22

CYP2B6 это белок, с молекулярной массой 56 кДальтон, состоящий из 491 остатка аминокислот. Ген *CYP2B6* расположен в 19-й хромосоме, локусе 19q13.2. Синтез данного фермента происходит, главным образом, в печени. Он принимает участие в метаболизме следующих лекарственных средств: циклофосфамида, тамоксифена, кетамина, пропофола, метадона, бупропиона, эфавиренца (Кукес В.Г. 2008). Активность *CYP2B6* регулируется посредством андростанового рецептора (CAR/NR), который, в свою очередь, взаимодействуя с лигандом может активировать экспрессию *CYP2B6*. Также в регуляции активности *CYP2B6* принимают участие глюкокортикоидные рецепторы. Субстратами для *CYP2B6* являются высоколипофильные нейтральные или слабощелочные молекулы.

Таблица 2. - Частоты генотипов (абс., %) гена *CYP2B6*2* среди жителей Ростова-на-Дону

Генотип	Мужчины	Женщины	χ^2 (P)	Всего
CC	121 (98,4)	238 (98,8)	0,09 (0,96)	359 (98,6)
CT	2 (1,6)	3 (1,2)		5 (1,4)
<i>Аллель G</i>	0,008	0,006	0,09 (0,77)	0,007
Соответствие равновесию Харди- Вайнберга (P)	0,93	0,92		0,9

Таблица 3. - Частоты генотипов (абс., %) гена *CYP2B6*6* среди жителей Ростова-на-Дону

Генотип, аллель	Мужчины	Женщины	χ^2 (P)	Всего
516G/G	98 (79,7)	195 (80,1)	0,01 (0,99)	283(77,7)
516G/T	24 (19,5)	44 (19)		68(18,7)
516T/T	1 (0,8)	2 (0,9)		3 (0,8)
Аллель T	0,11	0,10	0,03 (0,86)	0,1
Соответствие равновесию Харди-Вайнберга (P)	0,13(0,72)	0,12(0,73)		0,66

Семейство *CYP3A* у человека играет ведущую роль в метаболизме лекарственных средств. Наибольшая доля в метаболизме ксенобиотиков принадлежит *CYP3A4* и *CYP3A5*, которые встречаются в печени и тонком кишечнике. Они принимают участие как в системном метаболизме препаратов, так и в метаболизме препаратов при первичном прохождении через печень. Считается, что *CYP3A4* метаболизирует около 60% всех известных лекарственных средств, *CYP3A4* представляет собой белок, состоящий из 502 аминокислотных остатков, с молекулярной массой 57 кДальтон. Ген *CYP3A4* находится в локусе 7q22.1 7-й хромосоме. Индукция данного изофермента происходит через “прегнан-Х-рецептор” (белок из класса регуляторов транскрипции) (Nem D., et al., 2012), а его активность зависит от целого ряда факторов, таких как состояние гомеостаза, заболевания печени, курение, прием лекарств, диета, генетические мутации. В отличие от других цитохромов (*CYP2D6*, *CYP2C19*) т.н. “нулевая” аллель для *CYP3A4* не установлена. Известно более 30 вариантов SNP-мутаций *CYP3A4* (Maekawa K., 2010). Носительницы данных мутаций, как правило, являются гетерозиготами, в результате чего фармакодинамика лекарственных средств, метаболизируемых при участии данных ферментов, практически не изменяется в отсутствии индукторов или ингибиторов. Установлено, что люди с дефектными аллельными вариантами *CYP3A4* чаще болеют раком простаты, некоторыми формами лейкоза, у них чаще наблюдается раннее половое созревание. Маркерными субстратами для определения активности *CYP3A4* являются дапсон, эритромицин, нифедипин, лидокаин, тестостерон, кортизол. Индукторами *CYP3A4* являются глюкокортикоиды, барбитураты и многие другие лекарственные вещества, к ингибиторам относятся макролидные антибиотики, а также грейпфрутовый и томатный соки (Maekawa K., 2010).

Таблица 4. - Частоты генотипов (абс., %) гена *CYP3A4*1B* среди жителей Ростова-на-Дону

Генотип	Мужчины	Женщины	χ^2 (P)	Всего
AA	118 (95,9)	224 (92,9)	1,28 (0,53)	342 (94)
AG	5 (4,1)	17 (7,1)		22 (6)
Аллель G	0,02	0,035	1,24 (0,27)	0,03
Соответствие равновесию Харди-Вайнберга (P)	0,82	0,57		0,55

CYP2C9 представляет собой белок, с молекулярной массой 55 кДальтон, состоящий из 490 аминокислотных остатков. Ген данного фермента находится в локусе 10q24.1.24.3 10-й хромосоме. Цитохром *CYP2C9* синтезируется в клетках печени и участвует в биотрансформации многих НПВС, в т.ч. селективных ингибиторов циклооксигеназы-2, блокаторов рецепторов ангиотензина, пероральных сахароснижающих средств, бензодиазепинов и др. Клиническое значение имеют такие аллельные варианты этого гена, как *CYP2C9*2*, *CYP2C9*3*, *CYP2C9*13* (Кукес В.Г. и соавт., 2008). Результаты генотипирования представлены в таблице 5.

Таблица 5. - Частота генотипов по полиморфизму гена *CYP2C9*2* (Arg144Cys) в среди мужчин и женщин в г.Ростове-на-Дону

Генотип, аллель	Мужчины	Женщины	χ^2 (P)	Всего
<i>Arg/Arg</i>	101 (82,1)	208 (86)	0,54 (0,76)	309 (84,9)
<i>Arg/Cys</i>	16 (13)	28 (11,9)		44 (12,1)
<i>Cys/Cys</i>	6 (4,9)	5(2,1)		11(3)
<i>Аллель144 Cys</i>	0,11	0,08	2,42 (0,12)	0,1
Соответствие равновесию Харди-Вайнберга (P)	0,3	0,003		4.0E-7

Заключение. Как видно из выполненного исследования *CYP2B6*2*, *CYP3A4*1B* имеют низкую частоту распространения среди жителей г. Ростова-на-Дону, в то время как *CYP1A1*(Ile462Val), *CYP2B6*6*, *CYP2C9*2*. Характер распределения частот генотипов и аллелей по данным полиморфизмам среди жителей Ростова-на-Дону соответствует равновесию Харди-Вайнберга за исключением *CYP2C9*2*.

Список литературы

1. Кукес, В.Г., Грачев С.В., Сычев Д.А., Раменская Г.В.. Метаболизм лекарственных средств, научные основы персонализированной медицины / М.: ГЕОТАР-Медиа, 2008. – 293 с.
2. Петров В.И., Рогова Н.В., Ледаев Я.М., Сердюкова Д.М. Изучение влияния длительной терапии производными сульфонилмочевины на емкость ферментной системы биотрансформации лекарственных средств в печени (изофермент *CYP2C9*) у больных сахарным диабетом типа 2 в Волгограде /Вестник ВолГМУ. – 2010. – № 2. – С. 14-18.
3. Сычев Д.А., Сулейманов С.Ш., Кукес В.Г. Персонализированная медицина как путь к рациональному применению лекарственных средств: предпосылки, реалии, проблемы и перспективы для отечественной системы здравоохранения / Здравоохранение Дальнего Востока. – 2010. – № 1. – С. 2-7.
4. Kazuma K., Nishigaki M., Tokunaga-Nakawatase Y. Randomized controlled trial of the effectiveness of genetic counseling and a distance, computer-based, lifestyle intervention program for adult offspring of patients with type 2 diabetes: background, study protocol, and baseline patient characteristics / J. Nutr. and Metabol. – 2012. – Vol. 2012. – Article ID 831735. – 13 p.

5. Maekawa K., Harakawa N., Sugiyama E. Substrate-dependent functional alterations of seven CYP2C9 variants found in Japanese subjects / Drug Metab. Dispos. – 2009. – Vol. 37, N 9. – P. 1895-1903.
6. Nem D., Baranyai D., Qiu H. Pregnane X receptor and yin yang 1 contribute to the differential tissue expression and induction of CYP3A5 and CYP3A4 / PLoS One. – 2012. – Vol. 7, N 1. – e30895. –doi:10.1371/journal.pone.0030895.