

УДК [615+577.21]:616-002.5:615.28

©В. Й. Кресюн, П. Б. Антоненко

Одеський національний медичний університет

## ОСОБЛИВОСТІ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА ЦИТОХРОМУ-450 2С19 СЕРЕД ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ

ОСОБЛИВОСТІ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА ЦИТОХРОМУ-450 2С19 СЕРЕД ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ – Відомо, що цитохром-450 (СYP) 2С19 бере участь у метаболізмі омепразолу, клопидогрелю, теродоліну тощо, причому значні варіації метаболізму пов'язані з поліморфізмом гена *CYP2C19*. Разом з тим, літературі дані щодо поширеності поліморфізму гена *CYP2C19*, включаючи хворих на туберкульоз, в Україні відсутні. Тому метою даної роботи було дослідити поліморфізм генотипу *CYP2C19* на півдні України у хворих на туберкульоз і порівняти з аналогічними показниками контрольної групи на прикладі Одеського регіону. За допомогою полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛР) та ендонуклеазного аналізу було досліджено поліморфізм гена *CYP2C19*. Зразки крові було отримано у хворих на легеневий туберкульоз, що вперше діагностовано в Одеському обласному протитуберкульозному диспансері й здорових донорів у Одеській обласній станції переливання крові в 2010-2012 рр. Відповідно до генотипу *CYP2C19*, з 55 хворих на туберкульоз 70,9 % індивідів були носіями гомозиготного дикого типу гена *CYP2C19\*1/\*1*, 23,6 % – гетерозиготних генів *CYP2C19\*1/\*2*. Лише 5,5 % індивідів належали до носіїв генотипу повільних метаболізаторів – *CYP2C19\*2/\*2*. Загалом серед здорових донорів чоловічої статі в 1,2 раза частіше зустрічався дикий алель *CYP2C19\*1*, ніж в контрольній групі ( $p < 0,05$ ). У здорових донорів у віці понад 50 років 100 % складав немутований алель *CYP2C19\*1*, разом з тим, у відповідній віковій групі хворих на туберкульоз він зустрічався лише у 68,2 % ( $p < 0,05$ ). Надалі планується дослідити вплив поліморфізму *CYP2C19* на дію найефективніших протитуберкульозних препаратів.

ОСОБЕННОСТИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ЦИТОХРОМА-450 2С19 СРЕДИ БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ – Известно, что цитохром-450 (СYP) 2С19 принимает участие в метаболизме омепразола, клопидогреля, теродоліна и т.д., причем значительные вариации метаболизма связаны с полиморфизмом гена *CYP2C19*. В тоже время, литературные данные относительно распространенности полиморфизма гена *CYP2C19*, включая больных туберкулезом, в Украине отсутствуют. Поэтому целью данной работы было исследование полиморфизма генотипа *CYP2C19* на юге Украины у больных туберкулезом и сравнение с аналогичными показателями контрольной группы на примере Одесского региона. С помощью полимеразно-цепной реакции (ПЦР) и эндонуклеазного анализа был исследован полиморфизм *CYP2C19*. Образцы крови были получены от больных с впервые диагностированным туберкулезом легких на базе Одесского областного противотуберкулезного диспансера и здоровых доноров в Одесской областной станции переливания крови в 2010-2012 гг. Согласно генотипа *CYP2C19*, из 55 больных туберкулезом 70,9 % индивидов были носителями гомозиготного дикого типа гена *CYP2C19\*1/\*1*, 23,6 % – гетерозиготных генов *CYP2C19\*1/\*2*. Только 5,5 % индивидов относились к носителям генотипа медленных метаболитаторов – *CYP2C19\*2/\*2*. В общем среди здоровых доноров мужского пола в 1,2 раза чаще встречался дикий аллель *CYP2C19\*1*, чем в контрольной группе ( $p < 0,05$ ). У здоровых доноров в возрасте более 50 лет 100 % составлял немутированный аллель *CYP2C19\*1*, в тоже время, в соответствующей возрастной группе больных туберкулезом он встречался лишь в 68,2 % ( $p < 0,05$ ). В дальнейшем планируется исследовать влияние полиморфизма *CYP2C19* на действие наиболее эффективных противотуберкулезных препаратов.

POLYMORPHISM PECULIARITIES OF CYTOCHROME-450 2С19 IN PATIENTS WITH TUBERCULOSIS – It is known that

cytochrome (CYP450) 2C19 takes part in the metabolism of omeprazol, clopidogrel, ritodilin, etc., while a large interindividual variability in metabolism is associated with genetic polymorphism of the *CYP2C19* gene. In the same time there is a lack of literature data concerning spreading of *CYP2C19* gene polymorphism in Ukraine including patients with tuberculosis. That is why the aim of present work was to investigate *CYP2C19* polymorphism in the south of Ukraine including TB-patients and comparing with the same data of control group on the base of Odesa region. Gene *CYP2C19* polymorphism was studied with the help of PCR (polymerase chain reaction) and endonuclease analysis. The blood samples were obtained from patients with new cases of pulmonary TB from Odesa Regional Antituberculous Dispensary and healthy donors in Odesa district station of blood transfusion in 2010-2012. According to the genotype of *CYP2C19* from 55 healthy donors 70,9 % persons were the carriers of homozygote wild gene *CYP2C19\*1/\*1*, around 23,6 % individuals represented heterozygote genes *CYP2C19\*1/\*2*. Only 5,5 % individuals belonged to carriers of mutant allele combinations - *CYP2C19\*2/\*2*. In general among male patients with tuberculosis in 1,2 time more often we observed wild allele *CYP2C19\*1*, than in control group ( $P < 0,05$ ). In healthy donors older than 50 years 100 % represent wild allele *CYP2C19\*1*, while in correspondent age group of patients with tuberculosis it was observed in 68,2 % ( $P < 0,05$ ). In prospective we are planning to study an influence of *CYP2C19* polymorphism on action of the most effective antituberculous agents.

**Ключові слова:** ген *CYP2C19*, поліморфізм, генотип, туберкульоз.

**Ключевые слова:** ген *CYP2C19*, полиморфизм, генотип, туберкулез.

**Key words:** *CYP2C19* gene, polymorphism, genotype, tuberculosis.

**ВСТУП** Відповідно до літературних даних, ферменти родини цитохромів-450 (СYP) 2 відповідають за метаболізм більшості прийнятих лікарських препаратів. Так, СYP2C19 бере участь в метаболізмі омепразолу, клопидогрелю, теродоліну, антибіотиків-макролідів, багатьох антидепресантів тощо [1]. З іншого боку, є низка препаратів, що можуть впливати на активність цитохрому СYP2C19, зокрема і протитуберкульозні препарати "Рифампіцин", "Ізоніазид" [2].

Різні етнічні групи можуть мати різну поширеність повільних і швидких метаболізаторів, і після отримання однакових доз певних лікарських препаратів, різний відсоток хворих у кожній популяції досягне терапевтичного рівня препарату в організмі. Тому загальна ефективність рекомендованих доз може відрізнятися між різними країнами. Таким чином, необхідно проводити дослідження поширеності різних типів метаболізаторів у кожній окремій популяції [3].

Водночас, у літературі майже відсутні дані щодо поширеності поліморфізму гена *CYP2C19* в Україні як серед здорових людей, так і серед хворих. Тому метою даної роботи було дослідити поліморфізм гена *CYP2C19* на півдні України на прикладі Одеського регіону серед хворих на туберкульоз і порівняти отримані дані з показниками здорових добровольців.

**МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ** Зразки крові було отримано від 55 хворих на туберкульоз легень, що вперше діагностовано в Одеському обласному протитуберкульозному диспансері у 2012 р., з яких було 27 (49,1 %) жінок, решту – 28 (50,9 %) склали чоловіки. Вік хворих становив від 19 до 73 років (середній вік – 37,6 року). Для контролю використовували зразки крові, які було отримано від 181 здорового донора в Одеській обласній станції переливання крові у 2010–2011 рр., з яких 81 (44,8 %) – жінка, решта – 100 (55,2%) – чоловіки. Вік донорів був від 17 до 62 років (середній вік – 33,8 року). ДНК-матеріал було екстраговано з крові донорів із використанням набору ДНК-сорбБ (АмпліСенс, Російська Федерація). Генотип *CYP2C19* за допомогою полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛР) та ендонуклеазного аналізу за методом J. A. Goldstein, J. Blaisdell (2004) [4]. Для ПЛР-ампліфікації *CYP2C19\*2* і *CYP2C19\*3* – дві пари відповідних специфічних праймерів. ПЛР-продукти *CYP2C19\*2* і *CYP2C19\*3* було піддано рестрикції за допомогою ферментів (рестриктаз) *SmaI* і *BamHI* відповідно. Оскільки місце рестрикції відсутнє в мутантних алелях, ПЛР-продукти уникали рестрикції відповідними ферментами. В *CYP2C19\*1* (немутованих) алелях рестрикційні ферменти *SmaI* і *BamHI* розділяли ДНК-фрагмент в 321 п.н. на 2 фрагменти – 212 і 109 п.н., а

також ДНК-фрагмент 271 п.н. на 2 фрагменти – 175 і 96 п.н. відповідно. Статистичний аналіз було проведено із залученням Microsoft Excel і  $\chi^2$ -критерію.

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ** Відповідно до генотипу *CYP2C19*, з 55 хворих на туберкульоз 70,9 % індивідів були носіями гомозиготного дикого типу гена *CYP2C19\*1/\*1* (табл. 1, 2). Також 23,6 % хворих були носіями гетерозиготного гена *CYP2C19\*1/\*2*. Носіями гомозиготного мутантного гена *CYP2C19\*2/\*2* було 5,5 %, разом з тим, хворих з гомозиготним мутантним геном *CYP2C19\*3/\*3* або гетерозиготним мутантним геном *CYP2C19\*2/\*3* не було зафіксовано.

Серед здорових донорів дещо частіше зустрічались носії гомозиготного дикого типу гена *CYP2C19\*1/\*1* – 79,5 %, водночас, рідше зустрічались носії варіантного генотипу *CYP2C19\*2/\*2* – 0,8 % проти 5,5 % у хворих на туберкульоз [5].

Разом з тим, порівнюючи поширеність генотипу *CYP2C19* з урахуванням гендерних відмінностей, відзначали більшу поширеність генотипу *CYP2C19\*1/\*1* серед здорових добровольців, особливо жіночої статі, а також більшу поширеність генотипів, що відповідають за повільний тип метаболізму серед хворих на туберкульоз, особливо чоловічої статі (рис. 1). Серед хворих на туберкульоз чоловічої статі частіше

Таблиця 1. Генотип і алелі гена *CYP2C19* серед хворих на туберкульоз (кількість)

Генотип <i>CYP2C19</i> (n=55)					
<i>*1/*1</i>	<i>*1/*2</i>	<i>*1/*3</i>	<i>*2/*2</i>	<i>*2/*3</i>	<i>*3/*3</i>
39	13	0	3	0	0
Алеель (n=120)					
<i>*1</i>		<i>*2</i>		<i>*3</i>	
91		19		0	

Таблиця 2. Поширеність генотипів *CYP2C19* серед хворих на туберкульоз і здорових донорів (%)

Результат	Генотип (n=113)					
	<i>*1/*1</i>	<i>*1/*2</i>	<i>*1/*3</i>	<i>*2/*2</i>	<i>*2/*3</i>	<i>*3/*3</i>
Хворі на туберкульоз	70,9	23,6	0	5,5	0	0
Здорові донори	79,5	18,9	0,8	0,8	0	0

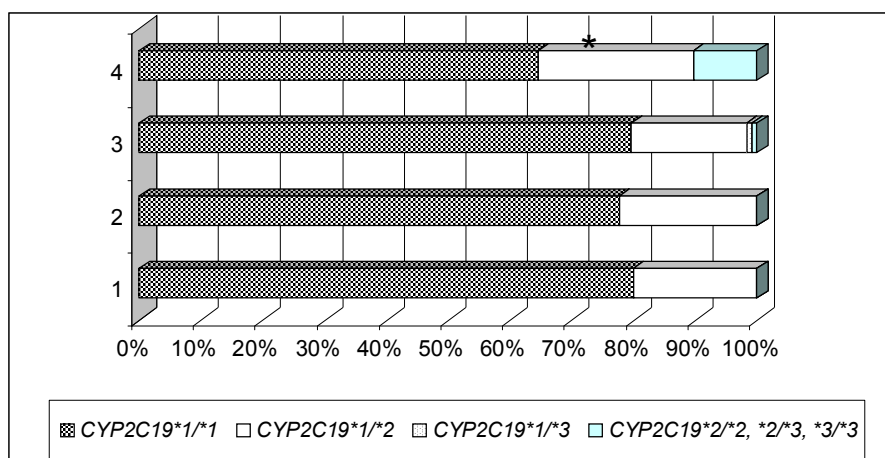


Рис. 1. Поширення генетичного поліморфізму гена *CYP2C19* серед здорових донорів жіночої (1) або чоловічої статі (3) та хворих на туберкульоз жіночої (2) або чоловічої статі (4).

Примітка. \* –  $p < 0,05$  (відносно відповідної контрольної групи).

спостерігали носіїв генотипу *CYP2C19\*2/\*2*, що асоціюється з повільним метаболізмом, ніж серед здорових донорів чоловічої статі ( $p < 0,05$ ) (рис. 1). У 10,2 % хворих на туберкульоз чоловічої статі було зафіксовано генотип *CYP2C19\*2/\*2*, водночас, серед жінок генотипу повільного метаболізму взагалі не було виявлено.

Загалом, з досліджених 110 алелів *CYP2C19* 82,7 % складав дикий або немутований алель *CYP2C9\*1*, в 17,3 % зустрічався варіантний або мутантний алель *CYP2C19\*2*. Разом з тим, серед здорових донорів 89,3 % складав дикий алель *CYP2C19\*1*, по 10,2 і 0,4 % становили мутовані алелі *CYP2C19\*2* і *CYP2C19\*3*. Важливо, що серед здорових донорів чоловічої статі в 1,2 раза частіше зустрічався дикий алель *\*1* і в 2,3 раза рідше мутований алель *\*2*, ніж серед хворих на туберкульоз тієї ж статі ( $p < 0,05$ ) (табл. 3).

Серед хворих на туберкульоз різних вікових груп кількість носіїв генотипу *CYP2C19\*1/\*1* коливалась від 54,5 % (понад 50 років) до 90,0 % (41–50 років). У

контрольній групі поширеність вищевказаного генотипу коливалась від 75,0 % (41–50 років) до 100 % (понад 50 років). Тобто у найбільшій віковій групі здорових донорів відзначали найбільшу кількість носіїв генотипу *CYP2C19\*1/\*1*, що відповідає за швидкий метаболізм, водночас, у хворих на туберкульоз відзначали оборотний процес – найменша кількість носіїв генотипу *CYP2C19\*1/\*1* серед найбільшої вікової групи (100 % проти 54,5 %,  $p < 0,05$ ). Таку ж закономірність відзначали відносно поширеності немутованого алеля *CYP2C19\*1*, який серед здорових донорів був найбільш поширений у найстаршій віковій групі, разом з тим, у відповідній віковій групі хворих на туберкульоз він зустрічався, навпаки, найрідше – 100 % проти 68,2 % ( $p < 0,05$ ). При розподілі здорових донорів і хворих на туберкульоз на вікові категорії до і після 30 років було відзначено наступне (рис. 2): серед здорових донорів поширеність дикого алеля складала 89,3 % (<30 років) і 89,4 % (>30 років), серед хворих на туберкульоз – 82,6 і 82,8 % відповідно.

Таблиця 3. Поширеність алелів *CYP2C19* серед хворих на туберкульоз і здорових донорів (%)

Результат	Генотип (n=113)		
	*1	*2	*3
Хворі на туберкульоз (n=110)			
Чоловіки	76,8*	23,2*	0
Жінки	88,9	11,1	0
Здорові донори (n=244)			
Чоловіки	89,3	10,3	0,5
Жінки	90,0	10,0	0

Примітка. \* –  $p < 0,05$  (відносно відповідної групи здорових донорів).

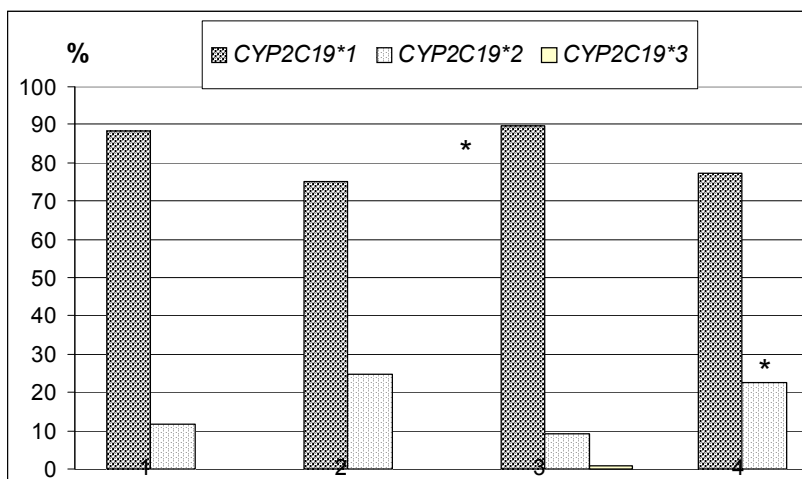


Рис. 2. Поширеність алелів гена *CYP2C19* серед здорових (1, 3) і хворих на туберкульоз (2, 4) чоловічої статі в різних вікових групах – до 30 років (1, 2) і після 30 років (3, 4).

**ВИСНОВКИ** Проведений аналіз засвідчив, що у хворих на туберкульоз легень дещо частіше зустрічались носії мутантних алелів і рідше – носії дикого алеля, ніж серед здорових добровольців. Швидкі метаболізатори частіше спостерігали серед жінок, ніж серед чоловіків, причому як здорових, так і хворих на туберкульоз. Мутантний алель *CYP2C19\*2* зустрічали у хворих на туберкульоз чоловічої статі в 2,3 раза частіше, ніж серед здорових добровольців тієї ж статі.

Також відзначали максимальне зростання кількості носіїв дикого алеля *CYP2C19\*1* серед здорових добровольців з підвищенням віку. Водночас, серед хворих на туберкульоз відзначали збільшення кількості носіїв мутантного алеля *CYP2C19\*2* зі збільшенням віку порівняно з контрольною групою. Отже, можна зробити висновок, що приналежність до чоловічої статі, наявність туберкульозної інфекції і старший вік є чинниками, що пов'язані з більшою поширеністю мутант-

них алелів гена CYP2C19. Тому в цих категоріях можна очікувати уповільнення метаболізму різних ксенобіотиків і збільшення їх токсичності.

Важливо враховувати, що носії повільного типу метаболізму згідно з поліморфізмом гена CYP2C19 мають уповільнений метаболізм антиагреганту клопидогрелю, антиаритмічного засобу терадоліну, інгібітора протонної помпи омепразолу тощо, що сприяє підвищенню їх токсичності (терадоліну) або зменшенню терапевтичної дії (клопидогрелю) [6–8]. CYP2C19 значною мірою експресований у гладеньких м'язах, ендотелії артерій, міокардіоцитах. Також цікаво, що CYP2C19 бере участь у метаболізмі арахідонової кислоти з утворенням епоксистероїдних кислот, що впливають на тонус кровеносних судин, реабсорбцію натрію і води в нирках тощо [9]. Згідно з літературними даними, наявність мутованого алеля *CYP2C19\*3* асоціюється зі зменшенням ризику артеріальної гіпертензії, разом з тим, наявність іншого мутованого алеля *CYP2C19\*2* асоціюється зі збільшенням ризику атеросклерозу кровеносних судин і розвитку серцево-судинних захворювань [9]. Також можливо, що зазначаючи вплив найефективніших протитуберкульозних препаратів (ізоніазид, рифампіцин), поліморфізм CYP2C19, у свою чергу, може визначати концентрацію і дію вищевказаних протитуберкульозних препаратів.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Кресюн В. И. Фармакогенетические основы взаимодействия организма и лекарств / В. И. Кресюн, Ю. И. Бажора. – Одесса : Одес. гос. мед. ун-т, 2007. – 164 с.
2. Chen Y. The transcriptional regulation of the human CYP2C genes / Y. Chen, J. A. Goldstein // *Curr. Drug Metab.* – 2009. – Vol. 10, № 6. – P. 567–578.
3. Cytochrome P450 and NAT2 polymorphisms and drug metabolism in DOTS / Mde J. Castillejos-Lopez, M. C. Garcia-Sancho, F. Quinones-Falconi, J. R. Perez-Padilla // *Rev. Invest. Clin.* – 2008. – Vol. 60, № 1. – P. 47–57.
4. Goldstein J. A. Genetic tests which identify the principal defects in CYP2C19 responsible for the polymorphism in mephenytoin metabolism / J. A. Goldstein, J. Blaisdell // *Methods Enzymol.* – 1996. – Vol. 272. – P. 210–218.
5. Антоненко П. Б. Поліморфізм гена цитохрому -450 2C19 на Південному заході України / П. Б. Антоненко, В. Й. Кресюн // *Запорожский медицинский журнал.* – 2011. – Т. 13, № 6. – С. 36–38.
6. Genetic determinants of platelet response to clopidogrel / Aldona Kubica, Marek Kozinski, Grzegorz Grzesk, Tomasz Fabiszak [et al.] // *J. Thromb. Thrombolysis.* – 2011. – Vol. 32, N 4. – P. 459–466.
7. Lee Jun-Beom Cytochrome P450 2C19 polymorphism is associated with reduced clopidogrel response in cerebrovascular disease / Jun-Beom Lee, Kyung-A Lee, Kyung-Yul Lee // *Yonsei Med. J.* – 2011. – Vol. 52, № 5. – P. 734–738.
8. Ford G. A. CYP2D6 and CYP2C19 genotypes of patients with terodiline cardiotoxicity identified through the yellow card system / G. A. Ford, S. M. Wood, A.K. Daly // *Br J Clin Pharmacol.* – 2000. – Vol. 50, № 1. – P. 77–80.
9. Association of CYP2C19\*2 and \*3 Genetic Variants with Essential Hypertension in Koreans / Dong-Jik Shin, Jisun Kwon, Ah-Ram Park, Yousun Bae [et al.] // *Yonsei Med. J.* – 2012. – Vol. 53, № 6. – P. 1113–1119.

Отримано 22.01.13