

УДК 548.33:575.113.1:576.38:314.1(477)
ЛЕВКОВИЧ Н.М.¹, ГОРОВЕНКО Н.Г.^{1,2}

¹ ДУ «Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН»
Україна, 04114, м. Київ, вул. Вишгородська, 67, e-mail: levkovich83@mail.ru

² Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика
Україна, 04112, м. Київ, вул. Дорогожицька, 9, e-mail: medgen2006@mail.ru

ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНЕТИЧНОЇ СТРУКТУРИ НАСЕЛЕННЯ УКРАЇНИ ЗА ПОЛІМОРФНИМИ ВАРІАНТАМИ ГЕНІВ СИСТЕМИ ДЕТОКСИКАЦІЇ КСЕНОБІОТИКІВ

На організм людини постійно впливають несприятливі фактори навколишнього середовища, в тому числі чужорідні сполуки – ксенобіотики. Природні та синтезовані хімічні речовини, що містяться в повітрі, воді, їжі, у лікарських засобах (ЛЗ) є потенційними мутагенами, канцерогенами та тератогенами [1]. В цілому, токсична дія ксенобіотиків на живі організми визначається їх здатністю порушувати процеси життєдіяльності, що може бути причиною розвитку різних захворювань. Провідну роль в захисті організму від дії ксенобіотиків відіграє система детоксикації ксенобіотиків (ДК) [2].

Система ДК здійснює ферментативне перетворення чужорідних речовин (екзотоксинів, ЛЗ, канцерогенів та ін.) в полярні водорозчинні метаболіти, що легко виводяться з організму. Система захисту організму від ксенобіотиків є трьохетапним процесом: I фаза – реакції біотрансформації здійснюються, головним чином, ізоферментами цитохрому Р-450, в процесі яких відбувається приєднання до ксенобіотиків нових або модифікація наявних функціональних груп (наприклад, -ОН, -NH₂, -SH), що робить ксенобіотики більш гідрофільними і забезпечує їх активацію; II фаза – синтетичні реакції: кон'югація (приєднання) ксенобіотиків та/або їх метаболітів з ендogenous речовинами, в результаті чого утворюються гідрофільні кон'югати; III фаза або фаза евакуації – активна секреція ксенобіотиків та/або їх метаболітів у сечу чи жовч (здійснюється за допомогою глікопротеїну-Р, транспортерів органічних аніонів (ОАТР-С, ОАТ-1, ОАТ-3) і катіонів (ОСТ-1)). Особливості роботи системи ДК визначаються унікальним для кожної людини поєднанням поліморфних варіантів генів відповідних ферментів, що призводить до різної адаптаційної здатності, тобто стійкості або чутливості індивідів до впливу пошкоджуючих зовнішніх чинників [3]. Наявність мутантних варіантів генів ферментів ДК та транспортерів ЛЗ може бути причиною несприятливих реакцій у відповіді організму

людини на дію ксенобіотиків та призводити до виникнення захворювань.

Частота тих чи інших поліморфних варіантів генів ДК в популяціях людини суттєво залежить від їх етнічної приналежності. Тому знання про етнічні/популяційні варіації поліморфних варіантів генів ДК може мати вирішальне значення для виявлення, в конкретних популяційних групах, ризику розвитку небажаних лікарських реакцій і патологічних станів, пов'язаних з порушенням роботи цієї системи.

Обрані нами, на основі попереднього аналізу літературних даних, поліморфні варіанти генів *CYP2C9*, *CYP2C19*, *CYP2D6* та *MDR1* є ключовими в процесах біотрансформації, метаболізму і транспорту основних груп ЛЗ, що широко застосовуються в практичній медицині. Частоти досліджуваних поліморфних варіантів цих генів у населення України раніше не вивчалися.

Ген *CYP2D6* (ОМІМ *124030) локалізований на хромосомі 22q13.1. В гені *CYP2D6* для населення Європи найбільш часто визначається алельний варіант *4 – однонуклеотидна заміна G1934A (rs3892097) на межі 3 інтрону та 4 екзону наявність якої приводить до некоректного сплайсингу мРНК, результатом чого є зміщення рамки зчитування, передчасне завершення трансляції та утворення дефектного білкового продукту позбавленого ферментативної активності [4].

Ген *CYP2C19* (ОМІМ *124020) локалізований на хромосомі 10q24.-q24.3. Алельний варіант *2 гена *CYP2C19* (rs4244285), характерний лише для європейців, утворюється заміною гуаніну (G) на аденін (A) в позиції 681 п'ятого екзону «дикого» типу (G681) і утворює аберантний сайт сплайсингу [5]. Ця однонуклеотидна заміна приводить до зсуву рамки зчитування мРНК починаючи з 215 амінокислотного залишку та передчасно створює стоп-кодон на 20 амінокислотних залишки раніше, результатом чого є усичений, нефункціональний білок.

Ген *CYP2C9* (ОМІМ *601130) локалізований на хромосомі 10q24 та кодує протеїн (ензим) *CYP2C9*. Відомо два алельні варіанти значимі для білого населення Європи: *2 і 3. Алель *1 є «диким» типом і кодує нормальний протеїн. Алель *2 містить заміну С430Т, що приводить до заміни аргініну на цистеїн в положенні 144 амінокислотної послідовності (R144C, rs1799853). Алель *3 визначається нуклеотидною заміною А1075С, що приводить до заміни лейцину на ізолейцин в положенні 359 амінокислотної послідовності (I359L, rs1057910). Обидва варіанти асоційовані з достовірним зниженням ферментативної активності [6].

Ген *MDR1*, який локалізований на хромосомі7 (7q21.1), кодує глікопротеїн Р (P-gp) – активний транспортер. Р-глікопротеїн експресується головним чином в тих органах і тканинах, на які впливають токсичні або потенційно токсичні для організму речовини та їх продукти: наднирниках, кишковнику, печінці, нирках, мозку, клітинах крові [7] та приймає участь в активному транспорті широкого кола ЛЗ. Доведено, що поліморфізм С3435Т (rs1045642) в 26 екзоні впливає на експресію Р-gp [8].

Визначення частот генотипів за найбільш поширеними поліморфними варіантами генів системи ДК (*CYP2C9*, *CYP2C19*, *CYP2D6* та *MDR1*) у населення України є необхідним підґрунтям для практичного впровадження індивідуалізації застосування ЛЗ, які метаболізуються ферментами, що кодуються цими генами, та при розрахунку ризику розвитку мультифакторних захворювань.

Матеріали і методи

Для визначення частоти поліморфних варіантів генів *CYP2C9*, *CYP2C19*, *CYP2D6* у населення України було сформовано групу дослідження, що представлена 918 особами української національності обох статей, віком від 0 до 98 років (середній вік – 48,43 ± 0,62 років).

Генотипування за поліморфними варіантами С430Т, А1075С, G681А, G1934А та С3435Т генів *CYP2C9*, *CYP2C19*, *CYP2D6*, *MDR1* проводили методами алель-специфічної полімеразної ланцюгової реакції (*CYP2C9*) та поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів (*CYP2C19*, *CYP2D6* та *MDR1*). Детекцію продуктів алель-специфічної ампліфікації та ПДРФ проводили методом горизонтального електрофорезу в 2 % агарозному гелі. Статистичну обробку отриманих результатів

проводили з використанням пакету прикладних програм Statistica 10.0 фірми StatSoft Inc. (США) і MS Excel. Для оцінки відповідності розподілу генотипів очікуваним значенням при рівновазі Харді-Вайнберга в вибірці та порівняння з частотами алелів і генотипів різних груп використовували критерій χ^2 Пірсона. У випадках, коли об'єм вибірки не перевищував 10, застосовували критерій χ^2 з поправкою Йетса. Для всіх видів аналізу різницю вважали статистично достовірною при $p < 0,05$.

Результати та обговорення

В результаті проведеного дослідження визначено частоти генотипів та алелів за поліморфними варіантами зазначених генів у населення України та їх порівняльному аналізу з частотами різних популяцій, в яких проводились подібні дослідження.

Було встановлено наступні частоти генотипів за поліморфним варіантом G1934А гена *CYP2D6*: 1934GG – 64,93 %, 1934GA – 31,26 %, 1934AA – 3,81 %. Частота алелів становила $p_G = 0,81$ та $q_A = 0,19$. Розраховано спостережувану ($H_o = 0,3126$) та очікувану ($H_e = 0,3137$) гетерозиготність за досліджуваним поліморфним варіантом, які достовірно не відрізнялись.

Визначена нами частота алелів за поліморфним варіантом G1934А гена *CYP2D6* була близькою до частот встановлених для представників Росії, Башкортостану та Португалії ($p > 0,05$), є достовірно нижчою за таку в популяціях Польщі ($p < 0,01$) і Данії ($p < 0,02$) та достовірно вищою, ніж у представників населення азіатських країн ($p < 0,0000001$).

При генотипуванні за поліморфним варіантом G681А гена *CYP2C19* нами було отримано частоти генотипів: 681GG – 76,91 %, 681GA – 21,13 %, 681AA – 1,96 %. Було розраховано, що частота алелів становила $p_G = 0,8747$ та $q_A = 0,1253$. Величини спостережуваної та очікуваної гетерозиготності $H_o = 0,2113$ та $H_e = 0,2189$ достовірно не відрізнялись ($p > 0,05$). Виявлено достовірні гендерні відмінності в частоті генотипів за поліморфним варіантом G681А гена *CYP2C19*, так генотип 681GG достовірно частіше зустрічається у осіб чоловічої статі [$\chi^2 = 4,59$, $p = 0,03$], а генотип 681AA – у осіб жіночої статі [$\chi^2 = 3,95$, $p = 0,04$]. Подальший аналіз виявив, що у чоловіків достовірно частіше зустрічається алель 681G, ніж у жінок [$\chi^2 = 6,34$, $p = 0,01$].

При порівняльному аналізі частоти алелів 681G та 681А гена *CYP2C19* у населення України та представників інших популяційних

груп було визначено, що частота поширення алелю 681А гена *CYP2C19* у населення України близька за значенням, характерним для представників країн Європи, Канади та Єгипту ($p > 0,05$), достовірно вища від таких в популяціях Саудівської Аравії ($p < 0,00001$), Колумбії ($p < 0,003$) і Гани ($p < 0,0005$), та достовірно нижча від показників, характерних для населення Індії ($p < 0,00001$), Китаю ($p < 0,00001$) та Австралії ($p < 0,00001$).

При генотипуванні за поліморфним варіантом С430Т гена *CYP2C9* отримано наступні частоти генотипів: 430СС – 84,86 %, 430СТ – 13,18 %, 430ТТ – 1,96 %. Для поліморфного варіанту А1075С гена *CYP2C9*, частоти генотипів були такими: 1075АА – 85,51 %, 1075АС – 14,05 %, 1075СС – 0,44 %. 11 (1,2 %) обстежених були ідентифіковані як компаундні гетерозиготи і мали генотип 430СТ/1075АС. Частота алелів становила $p_{430C} = 0,9145$ і $q_{430T} = 0,0855$ та $p_{1075A} = 0,9254$ і $q_{1075C} = 0,0746$. При співставленні теоретично очікуваних частот генотипів з фактично одержаними було виявлено статистично достовірну різницю для генотипу 430ТТ [$\chi^2 = 4,06$, $p = 0,02$]. Для поліморфного варіанту С430Т гена *CYP2C9* спостережувана і очікувана гетерозиготність складала 0,1318 та 0,1557 відповідно, а для поліморфного варіанту А1075С гена *CYP2C9* – $H_o = 0,1405$, а $H_e = 0,1383$.

Аналіз частоти алелів за досліджуваними поліморфними варіантами гена *CYP2C9* дозволив встановити, що алель «дикого типу» переважав у представників всіх груп порівняння. Алель 430Т був відсутній у азіатів. У представників Іспанії ($p < 0,0009$), Єгипту ($p < 0,02$) та Ірану ($p < 0,00001$) зустрічався достовірно частіше, а у афро-американців ($p < 0,003$) і канадських індіанців ($p < 0,006$) – достовірно рідше ніж у нашому дослідженні. Алель 1075С достовірно частіше, в порівнянні з українцями, зустрічався лише у населення Туреччини ($p < 0,01$), в той час як для населення азіатських країн ($p < 0,00001$), Ірану ($p < 0,00001$) та афро-американців ($p < 0,0002$) частота алелю 1075С була достовірно нижчою, ніж у нашому дослідженні. Для населення України частота алелів за поліморфними варіантами С430Т і А1075С гена *CYP2C9* достовірно не відрізнялась від даних, отриманих дослідниками для населення інших європейських країн ($p > 0,05$), таких як Росія, Британія, Італія та Швеція.

За результатами генотипування за поліморфним варіантом С3435Т гена *MDR1*

було отримано наступні частоти генотипів: 3435СС – 22,55 %, 3435СТ – 50,65 %, 3435ТТ – 26,80 %. Частота алелів становила $p_C = 0,4787$ та $q_T = 0,5212$. Рівні спостережуваної і очікуваної гетерозиготності склали 0,5056 та 0,4989 відповідно.

Проведена порівняльна оцінка частоти алелів за поліморфним варіантом С3435Т гена *MDR1* між населенням України та іншими популяційними групами показала, що частота алелю 3435Т в нашому дослідженні подібна до частоти у турків, португальців та білого населення Англії й Німеччини ($p > 0,05$) і є достовірно вищою, ніж у жителів південно-західної Азії ($p < 0,0001$), та достовірно нижчою, ніж у афро-американців ($p < 0,0001$), населення центральної Польщі ($p < 0,001$) та Японії ($p < 0,0001$).

Таким чином, відмінності в розподілі частот алелів та генотипів в залежності від статі було виявлено лише для поліморфного варіанту G681А гена *CYP2C19*. У всіх вікових підгрупах дослідження не спостерігалось достовірної різниці в розподілі частот генотипів та алелів ($p > 0,05$). Теоретичне число генотипів за всіма поліморфними варіантами, окрім С430Т гена *CYP2C9* достовірно не відрізнялось ($p > 0,05$) від фактично отриманих частот згідно рівняння Харді-Вайнберга.

Було проведено аналіз комбінацій генотипів п'яти досліджуваних поліморфних варіантів, який показав, що у населення України виявлено лише 68 комбінацій з 243 можливих. Серед них найчастішою була комбінація: *CYP2D6*1934GG / *MDR1*3435СТ / *CYP2C9*430СС / *CYP2C9*1075АА / *CYP2C19*681GG, яка спостерігалась у 159 (17,32 %) осіб групи дослідження. Виявлено, що 5 сполучень не зустрічаються у осіб жіночої статі, а 23 – у осіб чоловічої статі. Комбінації генотипів *CYP2D6*1934GG / *MDR1*3435СТ / *CYP2C9*430СС / *CYP2C9*1075АА / *CYP2C19*681GA [$\chi^2 = 4,77$, $p = 0,02$] та *CYP2D6*1934GG / *MDR1*3435СТ / *CYP2C9*430ТТ / *CYP2C9*1075АА / *CYP2C19*681GG достовірно частіше зустрічались у осіб чоловічої статі [$\chi^2 = 3,91$, $p = 0,04$].

Висновки

Нами здійснено визначення частоти генотипів за найбільш поширеними поліморфними варіантами генів системи ДК та транспортера Р-глікопротеїна у населення України. Отримані дані ще раз підтверджують доцільність використання перерахованих поліморфних варіантів для дослідження в якості

прогностичних фармакогенетичних маркерів при індивідуалізації терапії певними ЛЗ. Зважаючи на те, що досліджувані гени можуть

змінювати ризик мультифакторних захворювань можна проводити їх аналіз при розрахунку ризику розвитку патологічних станів.

Література

1. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины / Под ред. В. С. Баранова. – СПб.: Изд-во Н-Л, 2009. – 528 с.
2. Бочков Н.П. Наследственные болезни. Национальное руководство / Н.П. Бочков. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 936 с.
3. Zienolddiny S., Skaug V. Single nucleotide polymorphisms as susceptibility, prognostic, and therapeutic markers of nonsmall cell lung cancer // *Lung Cancer: Targets and Therapy*. – 2012. – 3. – P. 1–4.
4. Sachse N., Brockmoller J., Bauer S., Roots I. Cytochrome P450 2D6 variants in a Caucasian population: allele frequencies and phenotypic consequences // *Am. J. Hum. Genet.* – 1997. – 60, N 2. – P. 284–295.
5. S.M. de Morais, Wilkinson G.R., Blaisdell J. et al. The major genetic defect responsible for polymorphism of S-mephenytoin metabolism in humans // *J. Biol. Chem.* – 1994. – 269 (22). – P. 15419–15422.
6. Funk M., Endler G., Freitag R. et. al CYP2C9*2 and CYP2C9*3 Alleles Confer Lower Risk for Myocardial Infarction // *Clinical Chemistry*. – 2004. – 50 (12). – P. 2395–2398.
7. Сычев Д.А., Игнатъев И.В., Раменская Г.В., Колхир С.В., Кукес В.Г. Значение полиморфизма гена MDR1, кодирующего гликопротеин-P для индивидуализации фармакотерапии // *Клиническая фармакология и терапия*. – 2005. – N 14 (1). – С. 1–5.
8. Hoffmeyer S., Burk O., O. von Richter, Arnold H.P., Brockmoller J., Johne A., Cascorbi I., Gerloff T., Roots I., Eichelbaum M., Brinkmann U. Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity *in vivo* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2000. – 97 – P. 3473–3478.

LEVKOVICH N.M.¹, GOROVENKO N.G.²

¹ State Institute of Genetic and Regenerative Medicine NAMS of Ukraine, Ukraine, 04114, Kyiv, Vyshhorodska str., 67, e-mail: levkovich83@mail.ru

² Shupyk National Medical Academy Of Postgraduate Education, Ukraine, 03112, Kyiv, Dorogozhytska str., 9, e-mail: medgen2006@mail.ru

GENETIC STRUCTURE CHARACTERISTICS OF POLYMORPHIC VARIANTS XENOBIOTICS DETOXIFICATION SYSTEM GENE IN UKRAINIAN POPULATION

Aims. Determine the genotype frequencies for the most prevalent polymorphic variants of xenobiotic detoxification genes (*CYP2C9*, *CYP2C19*, *CYP2D6* and *MDR1*) in the Ukrainian population for the practical implementation of drugs individualizing use and in the calculation of the multifactorial diseases risk.

Methods. 918 Ukrainian were genotyped for major polymorphic variants of xenobiotic detoxification genes. Genotyping was performed using of allele-specific polymerase chain reaction (PCR) and restriction fragment length polymorphism (RFLP) methods. **Results.** Provided data characterizing the genotypes frequency of the studied polymorphic variants of *CYP2C9*, *CYP2C19*, *CYP2D6* and *MDR1* genes in the Ukrainian population. It's proved the absence of significant differences in the distribution of received genotype frequency compared with other Europeans. **Conclusions.** Obtained data justify the use of listed polymorphic variants for study as prognostic pharmacogenetic markers in individualizing drugs therapy.

Key words: gene polymorphism, detoxification.

УДК 575:572:152.9

ЛУЧКО Е.Н.

Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, Украина, 61022, г. Харьков, пл. Свободы, 4, e-mail: ekaterina_luchko@mail.ru

ПОЛОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ В ПРОЯВЛЕНИИ АГРЕССИВНОСТИ И ЭМПАТИИ У ЖИТЕЛЕЙ УКРАИНСКОГО МЕГАПОЛИСА

Агрессивность является одной из центральных характеристик личности, которая возникла в эволюции для успешной борьбы за ограниченные ресурсы, гарантируя, таким