© Коллектив авторов, 2014

УДК 575.191:576.8.095.52:615.355

DOI – <http://dx.doi.org/10.14300/mnnc.2014.09013>

ISSN – 2073-8137

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА CYP2C9 В ЭТНИЧЕСКИХ ГРУППАХ НАСЕЛЕНИЯ СТАВРОПОЛЬСКОГО КРАЯ

В. А. Батурин, А. А. Царукян, Е. В. Колодийчук

Ставропольский государственный медицинский университет

Генетический полиморфизм ферментов метаболизма лекарственных средств может существенно влиять на эффективность и безопасность фармакотерапии. Следовательно, выявление мутантных аллелей генов ферментов биотрансформации лекарственных средств (ЛС) позволит еще до их применения прогнозировать эффективность лечения и развитие нежелательных лекарственных реакций (НЛР). Изучение генетического полиморфизма позволит объяснить не только индивидуальные, но и межэтнические различия фармакологического ответа [6]. В полиэтнической стране в различных ее регионах могут наблюдаться различия в действии ЛС. При этом можно ожидать вариативности как эффектов лекарственных средств, так и риска осложнений фармакотерапии. Таким образом, изучение фармакогенетических особенностей различных этнических групп позволит разработать для каждой из них рекомендации по организации фармакотерапии.

Выраженным генетическим полиморфизмом обладает ген *CYP2C9*. Установлено замедление метаболизма *CYP2C9* в трех подсемействах *CYP* (1, 2 и 3), причем максимальное количество мутантных «медленных» вариантов зарегистрировано в подсемействе 2 [19].

Наиболее распространенными и хорошо изученными полиморфизмами *CYP2C9* являются аллельные варианты *CYP2C9*2* (R144C) и *CYP2C9*3* (I359L), ассоциированные с замедлением скорости метаболизма ЛС-субстратов [1, 9, 11, 16].

Носителей вариантов *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3* как в гомозиготном, так и в гетерозиготном состоянии считают «медленными» метаболизаторами: у них снижен метаболизм лекарственных средств, которые в больших концентрациях накапливаются в организме, что приводит к появлению НЛР, вплоть до интоксикаций. В связи с этим таким лицам следует назначать ЛС в дозе, которая меньше средней терапевтической [4, 5]. Необходимо подчеркнуть, что активность *CYP2C9* у носителей аллельного варианта *CYP2C9*2* составляет 18 % от нормальной, а у носителей аллельного варианта *CYP2C9*3* – 5 % [1, 5].

Полиморфизмы гена *CYP2C9* обуславливают достижение терапевтического эффекта и возникновение нежелательных эффектов большого числа НПВС, противодиабетических препаратов производных сульфонилмочевины и, что особо важно, непрямым антикоагулянтов [12, 14, 17].

На необходимость определения полиморфных вариантов *CYP2C9* при лечении варфарином указывают многие авторы [12, 13, 15]. Важно, что в настоящее время разработаны алгоритмы фармакогенетического тестирования в реальной клинической практике [15, 18, 20].

Частоты полиморфных вариантов *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3* проявляют существенные межэтнические различия и, вероятно, могут являться «маркерами» предрасположенности к риску развития нежелательных побочных реакций на эти лекарства в каждой отдельной популяции [3, 4, 5]. Следовательно, выявление генотипов *CYP2C9* важно для достижения эффективных результатов лекарственной терапии, прогнозирования и предотвращения развития нежелательных побочных реакций.

Целью работы явилось изучение частот аллелей и генотипов по «медленным» аллельным вариантам гена *CYP2C9* в ряде этнических групп населения Ставропольского края: у славян (русские и украинцы), армян, карачаевцев, туркмен.

Материал и методы. Проведено обследование 107 человек, постоянно проживающих на территории края, из них: 25, принадлежащих к этнической группе славян (русские и украинцы, средний возраст – 48±7 лет); 25 человек из этнической группы армян (возраст 53±9 лет); 25 человек из этнической группы карачаевцев

Батурин Владимир Александрович,
доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой
клинической фармакологии, аллергологии и иммунологии
с курсом ПДО Ставропольского государственного
медицинского университета;
тел.: (8652)713466; e-mail: v_baturin@mail.ru

Царукян Анна Акововна,
ассистент кафедры клинической фармакологии, аллергологии
и иммунологии с курсом ПДО Ставропольского государственного
медицинского университета;
тел.: (8652)713466, 89054901856; e-mail: a-tsarukyan@mail.ru

Колодийчук Елена Владимировна,
доктор медицинских наук, профессор кафедры клинической
фармакологии, аллергологии и иммунологии с курсом ПДО
Ставропольского государственного медицинского университета;
тел.: (8652)713466; e-mail: kolodichuk@mail.ru

(средний возраст 50 ± 6 лет); 32 человека, являющихся представителями туркменского этноса (возраст 47 ± 8 лет). Отношение к этническим группам устанавливалось со слов обследуемых при условии отсутствия смешанных межэтнических браков до третьего поколения предков. Лица, включенные в исследование, не состояли между собой в кровном родстве. Изучался состав аллелей гена *CYP2C9* по полиморфизму Ile357Leu методом ПЦР с использованием диагностических наборов для выявления полиморфизмов в геноме человека «SNP-экспресс» производства НПФ «ЛИТЕХ», Россия. Материалом для выделения ДНК являлась венозная кровь.

Достоверность различий значений частот аллелей в этнических выборках определяли по критерию Н Краскала – Уоллиса с помощью пакета статистических программ SPSS 16.0 for Windows. При $p < 0,05$ результаты считались статистически значимыми.

Результаты и обсуждение. Выявлены различия частот полиморфных аллелей и генотипов гена *CYP2C9* в этнических группах. Частота клинически значимого аллеля 359Leu (*3) достоверно чаще выявляется у армян по сравнению со славянской этнической группой (14 и 6 % соответственно, $p < 0,05$ (табл. 1). У карачаевцев и туркменов аллель 359Leu (*3) выявлялась соответственно в 10 и 12 % случаев, то есть эти группы занимали промежуточное положение по частоте встречаемости аллеля 359Leu (*3).

Таблица 1
Частоты аллелей и генотипов полиморфного маркера Ile359Leu гена *CYP2C9* в этнических группах Ставропольского края

Аллель	Славяне n=50	Армяне n=50	Кара- чаевцы n=50	Турк- мены n=64
359Ile	47 (0,94)	43 (0,86)	45 (0,90)	58 (0,91)
359Leu	3 (0,06)	7 (0,14)*	5 (0,10)	6 (0,09)
Генотип	Славяне n=25	Армяне n=25	Кара- чаевцы n=25	Турк- мены n=32
359IleIle	22 (0,88)	18 (0,72)	20 (0,80)	26 (0,81)
359IleLeu	3 (0,12)	7 (0,28)*	5 (0,20)	6 (0,19)
359LeuLeu	0	0	0	0

* $p < 0,05$ с группой славян.

Для полиморфного аллеля 144Cys (*2) также были выявлены достоверные различия. Среди карачаевцев носителей полиморфного маркера 144Cys было в 3 раза меньше, чем у славян (4 и 12 % соответственно, $p < 0,05$), а среди армян аллель 144Cys был выявлен уже в 14 % наблюдений ($p < 0,05$ по сравнению с группой славян) (табл. 2).

Таблица 2

Частоты аллелей и генотипов полиморфного маркера Arg144Cys гена *CYP2C9* в этнических группах Ставропольского края

Аллель	Славяне n=50	Армяне n=50	Кара- чаевцы n=50	Турк- мены n=64
144Arg	44 (0,88)	43 (0,86)	48 (0,96)	60 (0,94)
144Cys	6 (0,12)	7 (0,14)	2 (0,04)*(**)	4 (0,06)
Генотип	Славяне n=25	Армяне n=25	Кара- чаевцы n=25	Турк- мены n=32
144ArgArg	19 (0,76)	18 (0,72)	23 (0,92)	28 (0,875)
144ArgCys	6 (0,24)	7 (0,28)	2 (0,08)*(**)	4 (0,125)
144CysCys	0	0	0	0

* $p < 0,05$ с группой армян;

** $p < 0,05$ с группой славян.

В группе представителей туркменского этноса были выявлены достоверно более низкие значения частоты 144Cys по сравнению с армянами и славянами (6 % против 14 % у армян, $p < 0,05$; и 6 % против 12 % у славян, $p < 0,05$). Примечательно, что в популяции армян частоты полиморфных аллелей 359Leu и 144Cys были максимальными по сравнению с таковыми в других этнических группах ($p < 0,05$ по сравнению со славянами). У славян частота клинически значимого аллеля 359Leu, ответственного за проявление геморрагического синдрома, была минимальной. По частоте аллеля 359Leu представители туркменского (9 %) и карачаевского (10 %) этносов занимают промежуточное положение между славянами и армянами.

Выявленные этнические различия распределения полиморфных аллелей соответственно обуславливают и различия распределения генотипов по данному полиморфизму. При анализе генотипов проведенное исследование выявило «медленных» метаболитов *CYP2C9*, то есть лиц с низкой активностью гена (*CYP2C9**2, *CYP2C9**3). Подобный генотип был определен у 28 % карачаевцев, у 31,5 % туркменов, у 36 % представителей славянской этнической группы. Чаще всего «медленные» метаболиты встречались среди армян – 56 % случаев. Обнаруженные частоты аллелей и генотипов в группе славян были сопоставимы с таковыми в популяции русских и некоторых других европейских популяциях [7, 10, 16]. Исследования частот аллелей и генотипов *CYP2C9* у карачаевцев показали, что в сравнении с черкесами карачаевцы обладают генетически детерминированной чувствительностью к ЛС-субстратам *CYP2C9* (оральные антикоагулянты, НПВС, пероральные гипогликемические средства) и, как следствие, предрасположенностью к развитию НЛР при их применении [2].

Заключение. На основании полученных данных можно предположить, что армяне обладают

генетически детерминированной повышенной чувствительностью к ЛС-субстратам *CYP2C9* (непрямые антикоагулянты, НПВС, пероральные гипогликемические средства), а следовательно, и предрасположенностью к развитию НЛР при их назначении.

Высокая встречаемость аллельного варианта *CYP2C9*3* у армян может быть прогнозирующим фактором увеличенного риска кровотечений при назначении варфарина. С этой точки зрения можно рекомендовать применение у армян ЛС-субстратов *CYP2C9* начиная с минимальных доз. В частности, начальная доза варфарина у лиц носителей полиморфных аллелей и генотипов «медленных» метаболизаторов должна быть до 14 раз меньше, чем средняя терапевтическая

[8]. Это должно учитываться при разработке региональных стандартов фармакотерапии и формуляров лекарственных средств, что является перспективным с точки зрения повышения эффективности и безопасности фармакотерапии, а также может быть экономически оправданным за счет сокращения расходов на коррекцию НЛР.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РГНФ проекта «Изучение этнических особенностей результатов фармакотерапии у населения Ставропольского края: социально-экономические аспекты» (№ 13-06-18016) – проект экспедиций, полевых и социологических исследований, научно-реставрационных работ, необходимых для получения новых данных в области гуманитарных наук.

Литература

1. Кукес, В. Г. Метаболизм лекарственных средств: научные основы персонализированной медицины / В. Г. Кукес, С. В. Грачев, Д. А. Сычев, Г. В. Раменская. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 304 с.
2. Ромодановский, Д. П. Частоты «медленных» аллельных вариантов генов, кодирующих изоферменты цитохрома P450 CYP2D6, CYP2C19, CYP2C9 у карачаевцев и черкесов / Д. П. Ромодановский, Б. А. Хапаев, И. В. Игнатьев, В. Г. Кукес, В. Н. Каркищенко // Биомедицина. – 2010. – № 2. – С. 33–37.
3. Середенин, С. Б. Лекции по фармакогенетике / С. Б. Середенин. – М.: МИА, 2004. – 303 с.
4. Сычев, Д. А. Клиническая фармакогенетика изофермента цитохрома P-450 2C9 / Д. А. Сычев, Е. В. Стасяк, И. В. Игнатьев, Ю. М. Булытова, Г. В. Раменская, В. Г. Кукес // Клиническая фармакология и терапия. – 2005. – Т. 14, № 4. – С. 60–63.
5. Сычев, Д. А. Клиническая фармакогенетика непрямых антикоагулянтов / Д. А. Сычев, Г. В. Раменская, И. В. Игнатьев, В. Г. Кукес // Клиническая фармакогенетика: учебное пособие / под ред. В. Г. Кукуца, Н. П. Бочкова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – С. 118–130.
6. Хохлов, А. Л. Клинико-генетические ассоциации у больных артериальной гипертензией / А. Л. Хохлов, А. М. Сироткина, Е. А. Воронина, Е. Г. Лилеева, Ю. В. Рыбачкова, И. С. Могутова, Ю. Е. Мельникова, М. С. Могутов, И. В. Дряженкова, О. А. Лимонова // Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И. И. Мечникова. – 2012. – Т. 4, № 2. – С. 80–86.
7. Царукян, А. А. Значение генетических факторов для терапии непрямых антикоагулянтами в этнических группах Ставрополя / А. А. Царукян, В. А. Батурин // Ученые записки Орловского государственного университета. – 2013. – Т. 6, № 56. – С. 279–283.
8. Becquemont, L. Practical recommendations for pharmacogenomics-based prescription: 2010 ESF-UB Conference on Pharmacogenetics and Pharmacogenomics / L. Becquemont, A. Alfirevic, U. Mstutz, H. Brauch, E. Jacqz-Aigrain, P. Laurent-Puig, M. A. [et al.] // Pharmacogenomics. – 2010. – Vol. 12, № 1. – P. 113–124.
9. Blaisdell, J. Discovery of new potentially defective alleles of human CYP2C9 / J. Blaisdell, L. F. Jorge-Nebert, S. Coulter, S. S. Ferguson, S. J. Lee, B. Chanas, T. Xi, H. Mohrenweiser, B. Ghanayem, J. A. Goldstein // Pharmacogenetics. – 2004. – Vol. 14, № 8. – P. 527–537.
10. Gaikovitch, E. A. Polymorphisms of drug-metabolizing enzymes CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP1A1, NAT2 and of P-glycoprotein in a Russian population /
- E. A. Gaikovitch, I. Cascorbi, P. M. Mrozkiewicz, J. Brockmoller, R. Frotschl, K. Kopke, T. Gerloff, J. N. Chernov, I. Roots // Eur. J. Clin. Pharmacol. – 2003. – Vol. 59, № 4. – P. 303–312.
11. Kidd, R. S. Identification of a null allele of CYP2C9 in an African-American exhibiting toxicity to phenytoin / R. S. Kidd, T. B. Curry, S. Gallagher, T. Edeki, J. Blaisdell, J. A. Goldstein // Pharmacogenetics. – 2001. – Vol. 11, № 9. – P. 803–808.
12. Kirchheiner, J. Clinical consequences of cytochrome P450 2C9 polymorphisms / J. Kirchheiner, J. Brockmoller // Clin. Pharmacol. Ther. – 2005. – Vol. 77, № 1. – P. 1–16.
13. Loebstein, R. A coding VKORC1 Asp36Tyr polymorphism predisposes to warfarin resistance / R. Loebstein, I. Dvoskin, H. Halkin, M. Vecsler, A. Lubetsky, G. Rechavi, N. Amariglio, Y. Cohen, G. Ken-Dror, S. Almong, E. Gak / Blood. – 2007. – Vol. 109, № 6. – P. 2477–2480.
14. Martin, J. H. Is cytochrome P450 2C9 genotype associated with NSAID gastric ulceration? / J. H. Martin, E. J. Begg, M. A. Kennedy, R. Roberts, M. L. Barclay // British journal of clinical pharmacology. – 2001. – Vol. 51, № 6. – P. 627–630.
15. Momary, K. M. Factors influencing warfarin dose requirements in African Americans / K. M. Momary, N. L. Shapiro, M. A. Viana, E. A. Nutescu, C. M. Helgason, L. H. Cavallari // Pharmacogenomics. – 2007. – Vol. 8, № 11. – P. 1535–1544.
16. Rosemary, J. The Pharmacogenetics of CYP2C9 and CYP2C19: Ethnic Variation and Clinical Significance / J. Rosemary, C. Adithan // Current Clinical Pharmacology. – 2007. – Vol. 2. – P. 93–109.
17. Rost, S. Site-directed mutagenesis of coumarin-type anticoagulant-sensitive VKORC1: evidence that highly conserved amino acids define structural requirements for enzymatic activity and inhibition by warfarin / S. Rost, A. Fregin, M. Flunerberg, C. G. Bevens, C. R. Muller // J. Oldenburg Thromb. Haemost. – 2005. – Vol. 94, № 4. – P. 780–786.
18. Sconce, E. A. APOE genotype makes a small contribution to warfarin dose requirements / E. A. Sconce, A. K. Daly, T. I. Khan, H. A. Wynne, F. Kamali // Pharmacogenetics and genomics. – 2006. – Vol. 16, № 8. – P. 609–611.
19. Solus, J. F. Genetic variation in eleven phase I drug metabolism genes in an ethnically diverse population / J. F. Solus, B. J. Arietta, J. R. Harris, D. P. Sexton, J. Q. Steward, C. Mc. Munn, P. Ihrie, J. M. Mehall, T. L. Edwards, E. P. Dawson // Pharmacogenomics. – 2004. – Vol. 5, № 7. – P. 895–931.
20. Zhu, Y. Estimation of warfarin maintenance dose based on VKORC1 (-1639 G>A) and CYP2C9 genotypes / Y. Zhu, M. Shennan, K. K. Reynolds, N. A. Johnson, M. R. Herrnberger, R. Valdes, M. W. Linder // Clin. Chem. – 2007. – Vol. 53, № 7. – P. 1199–1205.

References

1. Kukes V. G., Grachev S. V., Sychev D. A., Ramenskaya G. V. Metabolizm lekarstvennykh sredstv: nauchnye osnovy personalizirovannoy meditsiny. M.: GEOTAR-Media; 2008. 304 p.
2. Romodanovsky D. P., Khapayev B. A., Ignatyev I. V., Kukes V. G., Karkishchenko V. N. *Biomeditsina*. – *Biomedicine*. 2010;2:33-37.
3. Seredenin S. B. Lektsii po farmakogenetike. M.: MIA; 2004. 303 p.
4. Sychev D. A., Stasyak Ye. V., Ignatyev I. V., Bulytova Yu. M., Ramenskaya G. V., Kukes V. G. *Klinicheskaya farmakologiya i terapiya*. – *Clinical pharmacology and therapeutics*. 2005;14(4):60-63.
5. Sychev D. A., Ramenskaya G. V., Ignatyev I. V., Kukes V. G. *Klinicheskaya farmakogenetika: uchebnoye posobiye*. M.: GEOTAR-Media; 2007. 248 p.
6. Khokhlov A. L., Sirotkina A. M., Voronina Ye. A., Lileeva Ye. G., Rybachkova Yu. V., Mogutova I. S., Melnikova Yu. Ye., Mogutov M. S., Dryazhenkova I. V., Limonova O. A. *Vestnik Severo-Zapadnogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta imeni I. I. Mechnikova*. – North-West State Medical University named after I. I. Mechnikov. 2012;4(2):80-86.
7. Tsarukyan, A. A., Baturin V. A. *Uchenye zapiski Orlovskogo gosudarstvennogo universiteta*. – Scientific Notes Of Orel State University. 2013;6(56):279-283.
8. Becquemont L., Alfrevire A., Amstutz U., Brauch H., Jacqz-Aigrain E., Laurent-Puig P., Molina M. A., Niemi M., Schwab M., Somogyi A. A., Thervet E., Maitland – van der Zee A. H., van Kuilenburg A. B., van Schaik R. H., Verstuyft C., Wadelius M., Daly A. K. *Pharmacogenomics*. 2010;12(1):113-124.
9. Blaisdell J., Jorge-Nebert L. F., Coulter S., Ferguson S. S., Lee S. J., Chanas B., Xi T., Mohrenweiser H., Ghanayem B., Goldstein J. A. *Pharmacogenetics*. 2004;14(8):527-537.
10. Gaikovitch E. A., Cascorbi I., Mrozikiewicz P. M., Brockmoller J., Frottschl R., Kopke K., Gerloff T., Chernov J. N., Roots I. *European Journal Of Clinical Pharmacology*. 2003;59(4):303-312.
11. Kidd R. S., Curry T. V., Gallagher S., Edeki T., Blaisdell J., Goldstein J. A. *Pharmacogenetics*. 2001;11(9):803-808.
12. Kirchheiner J., Brockmoller J. *Clinical Pharmacology & Therapy*. 2005;77(1):1-16.
13. Loebstein R., Dvoskin I., Halkin H., Vecsler M., Lubetsky A., Rechavi G., Amariglio N., Cohen Y., Ken-Dror G., Almong S., Gak E. *Blood*. 2007;109(6):2477-2480.
14. Martin J. H., Begg E. J., Kennedy M. A., Roberts R., Barclay M. L. *British journal of clinical pharmacology*. 2001;51(6):627-630.
15. Momary K. M., Shapiro N. L., Viana M. A., Nutescu E. A., Helgason S. M., Cavallari L. H. *Pharmacogenomics*. 2007;8(11):1535-1544.
16. Rosemary J., Adithan C. *Current Clinical Pharmacology*. 2007;2:93-109.
17. Rost S., Fregin A., Flunerberg M., Bevans S. G., Muller C. R., Oldenburg J. *Thrombosis and Haemostasis*. 2005;94(4):780-786.
18. Sconce E. A., Daly A. K., Khan T. I., Wynne H. A., Kamali F. *Pharmacogenetics and genomics*. 2006;16(8):609-611.
19. Solus J. F., Arietta B. J., Harris J. R., Sexton D. P., Steward J. Q., McMunn C., Ihrle P., Mehall J. M., Edwards T. L., Dawson E. P. *Pharmacogenomics*. 2004;5(7):895-931.
20. Zhu Y., Shennan M., Reynolds K. K., Johnson N. A., Herrnberger M. R., Valdes R., Linder M. W. *Clinical Chemistry*. 2007;53(7):1199-1205.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА CYP2C9 В ЭТНИЧЕСКИХ ГРУППАХ НАСЕЛЕНИЯ СТАВРОПОЛЬСКОГО КРАЯ В. А. БАТУРИН, А. А. ЦАРУКЯН, Е. В. КОЛОДИЙЧУК

Проведено исследование частот встречаемости *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3* в этнических группах жителей Ставропольского края: славян, армян, карачаевцев и туркмен. При анализе генотипов выявлена значимая суммарная доля «медленных» метаболитаторов среди представителей изучаемых этносов. Данная величина варьирует от 28 % у карачаевцев и 31,5 % у туркмен до 36 % у славян и максимальна в популяции армян (56 %). Высокая встречаемость аллельного варианта *CYP2C9*3* у армян может быть прогнозирующим фактором увеличенного риска кровотечений при приеме варфарина. Можно предположить, что армяне более чувствительны к лекарственным средствам-субстратам *CYP2C9* (непрямые антикоагулянты, пероральные гипогликемические средства, НПВС).

Ключевые слова: фармакогенетика, биотрансформация, цитохром P-450, *CYP2C9*, этнические особенности, генетический полиморфизм

STUDY OF CYP2C9 GENE POLYMORPHISM IN ETHNIC GROUPS OF THE POPULATION OF STAVROPOL REGION BATURIN V. A., TSARUKYAN A. A., KOLODIJCHUK E. V.

Study of *CYP2C9*2* and *CYP2C9*3* prevalence in ethnic groups of Stavropol territory (Slavs, Armenians, Karachai and Turkmen) was carried out. The genotypes analysis allowed to reveal significant total share of «slow» metabolizers among representatives of studied ethnic groups. This amount varies from 28 % in Karachai and 31,5 % in Turkmen to 36 % in Slavs and 56 % in Armenian population. The high occurrence of allelic *CYP2C9*3* polymorphism can serve as the predicting marker of the increased risk of bleedings in Armenians treated by warfarin. Perhaps, Armenians are more sensitive to drugs – substrates for *CYP2C9* (oral anticoagulants, oral hypoglycemic agents, NSAID).

Key words: biotransformation, cytochrome P-450, *CYP2C9*, ethnic features, gene polymorphism