

В. Й. Кресюн¹, В. В. Філюк², П. Б. Антоненко¹,
Ю. М. Даниленко², Г. В. Мозолевич²

Поліморфізм генотипу цитохрому Р-450 2Е1 у хворих на туберкульоз

¹Одеський національний медичний університет

²Одеський обласний протитуберкульозний диспансер

Ключові слова: цитохрому Р-450 2Е1,
ген СYP2Е1, поліморфізм, генотип,
туберкульоз

Відомо, що ефективність лікування багатьох захворювань, їхній перебіг та наслідки значною мірою залежать від генетичних особливостей людини, зокрема, поліморфізму генів детоксикації ксенобіотиків [1, 2]. Серед останніх є ген цитохрому Р-450 2Е1 (СYP2Е1) – ферменту, який бере участь у метаболізмі найефективнішого протитуберкульозного препарату ізоніазиду [2].

Ген Р-450 2Е1 (СYP2Е1) складається з 9 екзонів і відповідає за кодування одного з ферментів великої родини Р450, що бере участь у метаболізмі ліків і асоціюється з ризиком раку печінки [3]. Як один з ключових ферментів, що метаболізує алкоголь й індукується алкоголем, СYP2Е1 відповідає за метаболічну активацію канцерогенних N-нітрозамінів, поліциклічних ароматичних вуглеводів та інших низькомолекулярних сполук. Також відомо про зв'язок між генотипом СYP2Е1*1А/*1А та розвитком гепатотоксичності таких протитуберкульозних препаратів, як ізоніазид, рифампіцин, піразинамід [4].

Це стосується, головним чином, поліморфізму 5'-фланкуючого регіону, який вивчають за допомогою ендонуклеаз PstI і RsaI (СYP2Е1*5) [5]. Водночас дуже мало інформації щодо поліморфізму в 6-му інтроні, який досліджують за допомогою ендонуклеази DraI.

Крім міжетнічних відмінностей щодо поліморфізму генів біотрансформації ліків, можуть мати місце особливості генетичного розмаїття в певних категорій хворих, зокрема, хворих на тубер-

кульоз, що в подальшому буде впливати на ефективність і безпечність лікування. Попередньо було показано, що є певні особливості в поліморфізмі гена іншого ферменту, що впливає на біотрансформацію протитуберкульозних препаратів – N-ацетилтрансферази 2 [6]. Водночас даних щодо поліморфізму СYP2Е1, зокрема, 6-го нітрону, у хворих на туберкульоз практично відсутні. *Мета дослідження* – вивчення поліморфізму СYP2Е1 у хворих на туберкульоз легень як основи для прогнозування ефективності та токсичності протитуберкульозних лікарських засобів.

Матеріали та методи. Було проведено аналіз статистичних даних 86 хворих на туберкульоз легень, що вперше діагностовано, на початку стаціонарного лікування в Одеському обласному протитуберкульозному диспансері в 2012 році, з яких 40 (46,5 %) становили жінки, 46 (53,5%) – чоловіки. Вік хворих становив від 18 до 73 років (середній вік – 35,9 років). Для контролю використовували зразки крові, що були отримані від 112 здорових донорів в Одеській обласній станції переливання крові в 2010–2011 роках, з яких 50 (44,6 %) становили жінки, 62 (55,4%) – чоловіки. Вік донорів становив від 17 до 62 років (середній вік – 33,8 років).

Генотип СYP2Е1 у хворих на туберкульоз і здорових донорів було визначено наступним чином. ДНК матеріал був екстрагований з крові з використанням набору ДНК-сорбБ (АмпліСенс, Російська Федерація). Визначення генотипу СYP2Е1 було проведено за допомогою полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛР) і ендонуклеазного аналізу [7,8]. Для цього визначали наявність мутації в 6-му інтроні і 5-му фланкуючому регіоні за

допомогою відповідних ендонуклеаз DraI and RsaI. Дослідження були проведені з дотриманням норм біоетики (Протокол засідання комісії біоетики ОНМедУ від 11.02.2011 р. № 188). Обрахунок статистичних даних проводили за допомогою Microsoft Excel і χ^2 -критерію, програми «Primer Biostatistica».

Результати та їх обговорення. Відповідно до генотипу CYP2E1 з 86 пацієнтів 84 (97,7 %) не мали мутацій у 5-фланкуючому регіоні (генотип c1/c1), 2 (2,3 %) мали одну мутовану алель (генотип c1/c2). Стосовно інтрона 6 – більшість хворих, а саме 74 (86,0 %), не мали мутацій у цій ділянці (генотип DD), 11 хворих (12,8 %) мали одну мутовану алель (генотип CD), 1 хворий (1,2 %) мав обидві мутовані алелі (генотип CC). Обидва хворих з мутацією в 5-фланкуючому регіоні, також мали мутацію в 6-му інтроні. У подальшому для зручності ми виділили окремо групу хворих, які не мали мутацій у 6-му інтроні (генотип DD), і групу хворих, які мали мутації в указаному локусі (генотипи CD, CC). При завершенні стаціонарного лікування в двох хворих з генотипом CD, CC (16,7 %) було знято діагноз туберкульозу легень і встановлено діагноз раку легень. Серед хворих з генотипом DD не було встановлено жодного випадку раку легень, тобто генотип CD, CC частіше асоціювався з розвитком раку легень, ніж генотип DD ($P < 0,05$; $\chi^2 = 14,63$ при критичному значенні в даному випадку й далі 3,84). Також у одного хворого кожної з груп діагноз туберкульозу легень було замі-

нено на діагноз пневмонії. Отже, наприкінці стаціонарного лікування діагноз туберкульозу легень залишився в 73 хворих з генотипом DD і 9 хворих з генотипом CD, CC. Саме медичні карти цих хворих були залучені для подальшої статистичної обробки (табл. 1).

Серед 82 хворих, у яких у подальшому було підтверджено діагноз туберкульозу відповідно до генотипу CYP2E1, 89,0 % індивідів були носіями генотипу DD (табл. 1, 2). Також 9,8 % і 1,2 % хворих були носіями генотипів CD і CC.

Серед здорових донорів частіше зустрічалися носії гетерозиготного типу гену CYP2E1*C/*D – 17,9 %, водночас рідше зустрічалися носії генотипу CYP2E1*D/*D – 82,1 %, ніж у хворих на туберкульоз. Також у здорових донорів були відсутні носії генотипу CC. При порівнянні поширеності генотипу CYP2E1 серед здорових донорів і хворих на туберкульоз відзначали меншу частку носіїв генотипів, що відповідали за повільний тип метаболізму, серед хворих на туберкульоз (11,0 % проти 17,9 %).

Загалом, із досліджених 164 алелів CYP2E1 93,9 % складала алель D і 6,1 % – алель C. Серед здорових донорів 91,1 % складала алель D і 8,9 % – алель C. Отже, суттєвих відмінностей у поліморфізмі CYP2E1 між хворими на туберкульоз і здоровими донорами не було зафіксовано.

Згідно з даними літератури індивіди з генотипом CYP2E1*DD відрізняються більш швидкою біотрансформацією ксенобіотиків у печінці, ніж індивіди з

Таблиця 1

Генотип і алелі гена CYP2E1 у хворих на туберкульоз (кількість)

Генотип (n = 82)		
CD	CC	0,1841 ± 0,0091
8	1	0,2027 ± 0,0105
Алель (n = 164)		
CYP2E1*D		CYP2E1*C
154		10

Таблиця 2

Поширеність генотипів CYP2E1 у здорових донорів і хворих на туберкульоз (%)

Результати	Генотип CYP2E1		
	DD	CD	CC
Здорові донори	82,1	17,9	-
Хворі на туберкульоз	89,0	9,8	1,2

генотипами *CD і *CC [9]. Отже, генотипи CYP2E1*CD і *CC відзначалися найбільшим зниженням ферментної активності, тому умовно носіїв вищезгаданих генотипів можна віднести до повільних метаболізаторів.

Серед хворих на туберкульоз як чоловічої, так і жіночої статі більшість, а саме 88,9 %, складала носії гомозиготного типу дикої гена CYP2E1*DD (рис. 1). Носії мутантних алелей з генотипами CD і CC складала 11,1 % незалежно від статі. Серед здорових донорів як чоловічої, так і жіночої статі носії генотипу DD складала більшість, а саме 83,9 % і 70,0 % відповідно, 16,1 % і 30,0 % – складала носії генотипу CD. Таким чином, вірогідної різниці між хворими на туберкульоз і здоровими донорами щодо поліморфізму CYP2E1 за гендерною ознакою не виявлено. Отже, відзначалася більша поширеність генотипів, що відповідають за повільний тип метаболізму (генотип CD), серед хворих і здорових донорів жіночої статі ($p > 0,05$) (рис. 1). Серед здорових донорів найчастіше мутовану алель С спостерігали у представників жіночої статі (15,4 %) і дещо менше – чоловічої статі (8,1 %). Серед хворих на туберкульоз чоловічої та жіночої статі мутовану алель С спостерігали в 6,7 % і 5,6 % відповідно. У решті випадків здорові донори та хворі на туберкульоз були носіями дикої алелі D.

При дослідженні поширеності різних генотипів CYP2E1 з урахуванням вікових відмінностей було встановлено наступне. Серед хворих на туберкульоз з генотипом DD найбільша кількість

(38,4 %) – у віці 21–30 років, найнижча (8,2 %) – у віці до 20 років (рис. 2). До інших вікових груп належало близько 16–19 % хворих. У групі хворих з генотипами CD і CC значну більшість, а саме 88,9 %, становили пацієнти віком 21–30 років, решта (1,1 %) – пацієнти 31–40 років. Тобто, хворі на туберкульоз з генотипами CD і CC у 2,3 разу частіше належали до вікової групи 21–30 років, ніж носії генотипу DD ($P < 0,05$; $\chi^2 = 8,31$). При розподілі хворих на дві групи – до 30 років і після 30 років було встановлено: у першій віковій групі хворі з генотипами CD і CC склали 23,5 %, у другій – 2,5 % (рис. 3). Тобто пацієнти з вищезказаним генотипом майже в 9,4 разу частіше мали вік до 30 років, ніж після 30 років ($P < 0,05$; $\chi^2 = 5,74$). При вивченні групи хворих з генотипом DD встановлено, що більшість пацієнтів жіночої статі були віком до 30 років (62,5 %), водночас більшість чоловіків – віком понад 30 років (67,5 %). Отже, хворі з генотипом DD чоловічої статі в 1,8 разу частіше належали до вікової групи понад 30 років, ніж хворі жіночої статі ($P < 0,05$; $\chi^2 = 6,44$).

Серед хворих на туберкульоз до 30 років була більша кількість носіїв мутантної алелі С, ніж серед хворих віком після 30 років (11,0 % проти 1,3 %, $P < 0,05$; $\chi^2 = 6,61$) (рис. 3). Водночас у контрольній групі це співвідношення складало 10,2 % проти 7,9 %. Отже, як у здорових донорів, так і у хворих на ТБ після 30 років спостерігали певне зменшення пошире-

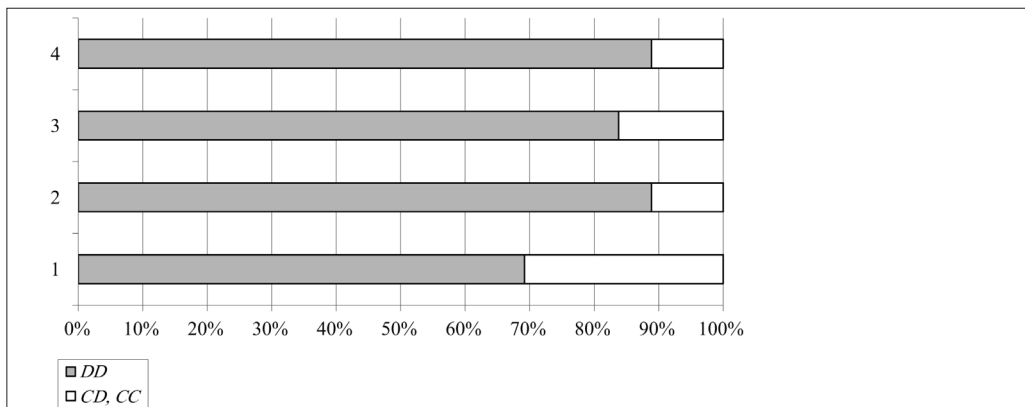
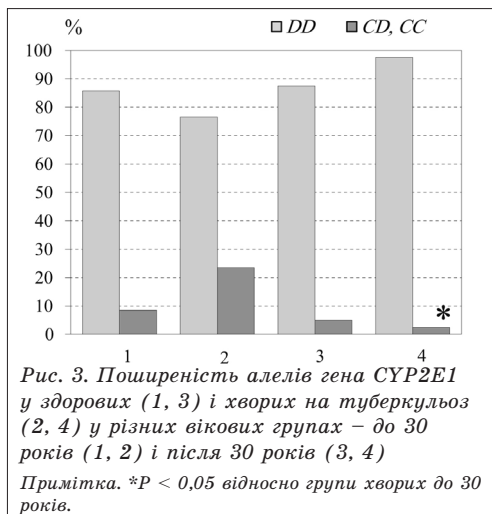
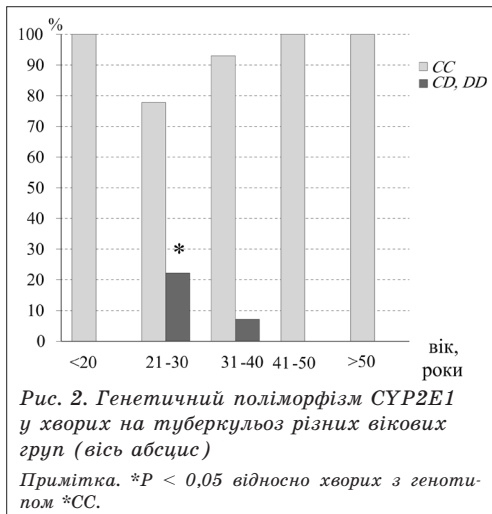


Рис. 1. Поширення генетичного поліморфізму гена CYP2E1 у здорових донорів жіночої (1) або чоловічої статі (3) та хворих на туберкульоз жіночої (2) або чоловічої статі (4)



ності мутантної алелі С, причому у хворих після 30 років мутантну алель спостерігали в 6,3 рази рідше, ніж у здорових донорів тієї самої вікової групи ($P < 0,05$; $\chi^2 = 4,33$).

Проведений аналіз засвідчив, що здорові донори частіше були носіями мутантних алелей і генотипу гетерозигот, рідше – носіями дикої алелі та генотипу DD, ніж хворі на туберкульоз легень. Повільні метаболізатори частіше спостерігалися серед здорових жінок, ніж чоловіків тієї самої групи. Також відзначали певне зростання кількості носіїв генотипу CYP2E1*DD у хворих на туберкульоз і здорових донорів зі збільшенням віку. Зокрема, паці-

єнти з генотипами CD і CC майже в 9,4 рази частіше мали вік до 30 років, ніж після 30 років. Серед здорових донорів відмінностей у поліморфізмі CYP2E1 серед різних вікових груп не відзначали.

Отже, можна зробити висновок, що в дослідженій групі хворих на туберкульоз віком понад 30 років більш поширений генотип DD, що може асоціюватися з більшою гепатотоксичністю протитуберкульозних препаратів у цієї категорії хворих. Отримані результати свідчать про доцільність визначення генотипу CYP2E1 у хворих на туберкульоз з метою підбору більш безпечних режимів застосування протитуберкульозних препаратів.

1. Ramachandran Geetha Role of pharmacogenomics in the treatment of tuberculosis: a review / Geetha Ramachandran, Soumya Swaminathan // Pharmacogenomics and Personalized Medicine. – 2012. – № 5. – P. 89–98.
2. Cytochrome P450 and NAT2 polymorphisms and drug metabolism in DOTS / Mde J. Castillejos-López, M. C. García-Sancho, F. Quiñones-Falconi, J. R. Pérez-Padilla. – Rev. Invest. Clin. – 2008. – V. 60, № 1. – P. 47–57.
3. CYP2E1 RsaI/PstI polymorphism and liver cancer risk among East Asians: a huge review and meta-analysis (review) / Zhong Tian, Yi-Ling Li, Lin Zhao, Chen-Liang Zhang // Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. – 2012. – V. 13, № 10. – P. 4915–4921.
4. Huang Y. S. Recent progress in genetic variation and risk of antituberculosis drug-induced liver injury (review) / Y. S. Huang // J. Chin. Med. Assoc. – 2014. – V. 77, № 4. – P. 169–173.
5. CYP2E1 RsaI/PstI polymorphism and risk of anti-tuberculosis drug-induced liver injury: a meta-analysis / R. Deng, T. Yang, Y. Wang, N. Tang // Int. J. Tuberc. Lung. Dis. – 2012. – V. 16 (12). – P. 1574–81.
6. Антоненко П. Б. Поліморфізм генотипу N-ацетилтрансферази 2 серед хворих на туберкульоз / В. Й. Кресюн, П. Б. Антоненко // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2013. – Т. 17, № 1. – С. 51–55.
7. Susceptibility to esophageal cancer and genetic polymorphisms in glutathione-S-transferases T1, P1 and cytochrome P450 2E1 / Dong-Xin Lin, Yong-Ming Tang, Qiong Peng [et al.] // Cancer epidemiology, biomarkers and prevention. – 1998. – V. 7. – P. 1013–1018.
8. Cytochrome P4502E1 genetic polymorphisms, racial variation, and lung cancer risk / Shunji Kato, Peter G. Shields, Neil E. Caporaso [et al.] // Cancer research. – 1992. – V. 52. – P. 6712–6715.
9. Кресюн В. И. Фармакогенетические основы взаимодействия организма и лекарств / В. И. Кресюн, Ю. И. Бажора. – Одесса: Одес. гос. мед. ун-т, 2007. – 164 с.

В. Й. Кресюн, В. В. Філюк, П. Б. Антоненко, Ю. М. Даниленко, Г. В. Мозолевич
Поліморфізм генотипу цитохрому P-450 2E1 у хворих на туберкульоз

Відомо, що ефективність лікування багатьох захворювань, у тому числі туберкульозу, залежить від генетичних особливостей людини, зокрема, від поліморфізму генів детоксикації ксенобіотиків.

Мета дослідження – вивчення поліморфізму гена P-450 2E1 (CYP2E1) у хворих на туберкульоз легень як основи для прогнозування ефективності та токсичності протитуберкульозних лікарських засобів. Для цього визначали наявність мутації в 6-му інтроні CYP2E1 за допомогою ферменту ендонуклеази DraI і полімеразно ланцюгової реакції в 112 здорових донорів і 82 хворих на туберкульоз легень, що вперше діагностовано. Серед хворих 89,0 % індивідів були носіями генотипу DD; 9,8 % і 1,2 % хворих – носіями генотипів CD і CC. Серед здорових донорів носії генотипу *CD склали 17,9 %, генотипу *DD – 82,1 %. Серед хворих на туберкульоз, як чоловічої, так і жіночої статі, 88,9 % склали носії типу дикого гена *DD; серед здорових донорів, як чоловічої, так і жіночої статі, носії генотипу DD склали 83,9 % і 70,0 % відповідно. Серед хворих до 30 років носії з генотипами CD і CC склали 23,5 %, після 30 років – 2,5 %, тобто пацієнти з генотипами CD і CC майже в 9,4 разу частіше мали вік до 30 років, ніж після 30 років ($P < 0,05$). Серед здорових донорів після 30 років також спостерігали зменшення поширеності мутантної алелі C, причому у хворих після 30 років мутантну алель спостерігали в 6,3 разу рідше, ніж у здорових донорів ($P < 0,05$).

Отже, у хворих на туберкульоз в віком понад 30 років більш поширений генотип DD, що може асоціюватися з більшою гепатотоксичністю протитуберкульозних препаратів у цієї категорії хворих.

Ключові слова: цитохром P-450 2E1, ген CYP2E1, поліморфізм, генотип, туберкульоз

В. Й. Кресюн, В. В. Філюк, П. Б. Антоненко, Ю. Н. Даниленко, Г. В. Мозолевич
Поліморфізм генотипа цитохрому P-450 2E1 у больних туберкулезом

Известно, что эффективность лечения многих заболеваний, в том числе и туберкулеза, зависит от генетических особенностей человека, в частности, от полиморфизма генов детоксикации ксенобиотиков.

Цель исследования – изучение полиморфизма гена P-450 2E1 (CYP2E1) у больных туберкулезом легких, как основы для прогнозирования эффективности и токсичности противотуберкулезных лекарственных средств.

Для этого определяли наличие мутации в 6-м интроне CYP2E1 с помощью фермента эндонуклеазы DraI и полимеразно-цепной реакции у 112 здоровых доноров и 82 больных с впервые диагностированным туберкулезом легких. Среди больных 89,0 % индивидов были носителями генотипа DD; 9,8 % и 1,2 % – генотипов CD и CC. Среди здоровых доноров носители генотипа *CD составляли 17,9 %, генотипа *DD – 82,1 %. Среди больных туберкулезом обоих полов 88,9 % составляли носители дикого типа гена *DD. Среди здоровых доноров мужского и женского пола носители генотипа DD составили 83,9 % и 70,0 % соответственно. Среди больных до 30 лет носители с генотипами CD и CC составили 23,5 %, после 30 лет – 2,5 %, то есть пациенты с генотипами CD и CC почти в 9,4 раза чаще были до 30 лет, чем после 30 лет ($P < 0,05$). Среди здоровых доноров старше 30 лет также отмечали снижение распространенности мутантной аллели C, причем у больных старше 30 лет мутантную аллель наблюдали в 6,3 раза реже, чем у здоровых доноров ($P < 0,05$).

Таким образом, у больных туберкулезом старше 30 лет более распространен генотип DD, что может ассоциироваться с большей гепатотоксичностью противотуберкулезных препаратов у этой категории больных.

Ключевые слова: цитохром P-450 2E1, ген CYP2E1, полиморфизм, генотип, туберкулез

V. I. Kresyun, V. V. Filuk, P. B. Antonenko, Yu. M. Danilenko, G. V. Mozolevich
Polymorphism of cytochrome P-450 2E1 genotype in patients with tuberculosis

It is known that effectiveness of the diseases treatment, including tuberculosis (TB), depends on genetic peculiarities of human, for instance from polymorphism of xenobiotics detoxification. That is why the aim of current research was an investigation of polymorphism of cytochrome P-450 2E1 (CYP2E1) in patients with TB as the base for forecasting of effectiveness and toxicity of antituberculosis agents. So, it was studied a presence of mutation in 6th intron CYP2E1 with the help of DraI endonuclease and polymerase chain reaction in 112 healthy donors and 82 patients with primary pulmonary TB. 89,0 % of patients carried DD genotype; 9,8 % and 1,2 % patients had CD and CC genotypes. 17,9 % of healthy donors carried *CD genotype, others – 82,1 % – had *DD genotype. Among TB-patients of male and female gender 88,9 % individuals carried wild type gene *DD; among healthy donors of male and female gender around 83,9 % and 70,0 % carried DD genotype correspondently. Among patients under 30 years 23,5 % of individuals had CD and CC genotype, after 30 years – 2,5 %, thus patients with CD and CC genotype almost 9,4 times more often were under 30 years, than after 30 years ($P < 0,05$). Among healthy donors older than 30 years one could see dropping of mutant allele C spreading, thus in patients above 30 years a mutated allele were in 6,3 times less common than in healthy donors ($P < 0,05$). Thus in TB patients especially after 30 years a genotype DD, which is associated with higher risk of hepatotoxicity of antituberculosis drugs, is more often.

Key words: cytochrome P-450 2E1, CYP2E1 gene, polymorphism, genotype, tuberculosis

Надійшла: 10.06.2014 р.

Контактна особа: Антоненко Петро Борисович, кандидат медичних наук, доцент, кафедра загальної та клінічної фармакології, Одеський національний медичний університет, буд. 2, Валіховський пр., м. Одеса, 65082. Тел.: + 38 0 48 71 23 103.
Електронна пошта: peterantonenko@yandex.ua