

УДК [615+577.21]:616-002.5:615.28

П. Б. Антоненко, канд. мед. наук, доц.

## ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНА ЦИТОХРОМУ P-450 2E1 У ЗДОРОВИХ ДОБРОВОЛЬЦІВ В ОДЕСЬКОМУ РЕГІОНІ

*Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна*

УДК [615+577.21]:616-002.5:615.28

П. Б. Антоненко

### ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНА ЦИТОХРОМУ P-450 2E1 У ЗДОРОВИХ ДОБРОВОЛЬЦІВ В ОДЕСЬКОМУ РЕГІОНІ

*Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна*

Значні міжетнічні відмінності щодо поліморфізму генів біотрансформації ліків мають значення для дії багатьох лікарських препаратів. Тому метою даної роботи було дослідження поліморфізму гена цитохрому P-450 2E1 (*CYP2E1*) серед здорових добровольців на прикладі Одеського регіону. Для цього визначали наявність мутації у 6-му інтроні *CYP2E1* за допомогою ферменту ендонуклеази *DraI* і полімеразної ланцюгової реакції.

Відповідно до генотипу *CYP2E1*, зі 112 здорових донорів 82,1 % індивідів були носіями гомозиготного дикого типу гена \*DD, решта 17,9 % мали генотип \*CD; носії генотипу \*CC були відсутні. Жодних суттєвих відмінностей щодо віку, статі, групи крові серед носіїв різних генотипів і алелів *CYP2E1* не спостерігалось. Поліморфізм генотипів і алелів *CYP2E1* на Півдні України був близьким до результатів досліджень у країнах Європи, включаючи Російську Федерацію і Туреччину, і суттєво відрізнявся від даних, отриманих у Південно-Східній Азії (Малайзія, Китай) і США.

**Ключові слова:** ген *CYP2E1*, поліморфізм, генотип.

UDC [615+577.21]:616-002.5:615.28

P. B. Antonenko

### POLYMORPHISM OF CYTOCHROME P-450 2E1 GENE IN ODESSA REGION HEALTHY VOLUNTEERS

*The Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine*

The significant inter-ethnic differences concerning polymorphism of biotransformation genes affect the activities of numerous medicines. That is why the aim of current research was an investigation of polymorphism of cytochrome P-450 2E1 (*CYP2E1*) in healthy volunteers in Odessa region. So, it was studied a presence of mutation in 6th intron *CYP2E1* with the help of *DraI* endonuclease and polymerase chain reaction. According to *CYP2E1* genotype out of 112 donors 82,1 % carried homozygote wild type of gene \*DD, others — 17,9 % had \*CD genotype; carriers of \*CC genotype were absent. There were no significant differences in *CYP2E1* genotype according to age, sex, blood group. The polymorphism of *CYP2E1* genotype on south of Ukraine was close with results from European countries, including Russia and Turkey and varied from data of South-East Asia (Malaysia, China) and USA.

**Key words:** *CYP2E1* gene, polymorphism, genotype.

### Вступ

Відомо, що ефективність лікування багатьох захворювань, їх перебіг та наслідки значною мірою залежать від генетичних особливостей людини, зокрема від поліморфізму генів детоксикації ксенобіотиків [1; 2]. Згідно з сучасними знаннями, ферменти родини цитохромів-450 (*CYP2*) відповідають за метаболізм більшості вживаних лікарських препаратів. Так, серед останніх є і ген цитохрому P-450 2E1 (*CYP2E1*) — один із ключових ферментів, що метаболізує алкоголь і активність якого індукується алкоголем. Також *CYP2E1* відповідає за метаболічну активацію канцерогенних N-нітрозамінів, поліциклічних ароматичних вуглеводів та інших низькомолекулярних сполук.

Крім того, *CYP2E1* бере участь у метаболізмі ліків, у тому числі найбільш ефективного протитуберкульозного препарату ізоніазиду [2; 3]. Також відомо про зв'язок між генотипом *CYP2E1*\*1A/\*1A з розвитком гепатотоксичності таких протитуберкульозних препаратів, як ізоніазид, рифам-

піцин, піразинамід [4]. Це стосується, головним чином, поліморфізму 5'-фланкуючого регіону, який вивчають за допомогою ендонуклеаз *PrtI* і *RsaI* (*CYP2E1*\*5). Водночас дуже мало інформації щодо поліморфізму та його значення в 6-му інтроні, який досліджують за допомогою ендонуклеази *DraI*.

Значні міжетнічні відмінності щодо поліморфізму генів біотрансформації ліків мають значення для ефективності та токсичності багатьох лікарських препаратів. Раніше повідомлялося, що є певні особливості у поліморфізмі генів *CYP2C9*, *CYP2C19* на південному заході України [5; 6]. Водночас дані щодо поліморфізму *CYP2E1*, зокрема 6-го нітрону, на південному заході України практично відсутні. **Мета** даної роботи — дослідження поліморфізму гена *CYP2E1* серед здорових добровольців на прикладі Одеського регіону.

### Матеріали та методи дослідження

Зразки крові були отримані від 112 здорових донорів у Одеській обласній станції переливання

крові протягом 2010–2011 рр., з яких 50 (44,6 %) становили жінки, решта 62 (55,4 %) — чоловіки. Вік донорів становив від 17 до 62 років (середній вік — 33,8 року). ДНК-матеріал екстрагований з крові донорів з використанням набору ДНК-сорбБ (АмпліСенс, Російська Федерація). Визначення генотипу *CYP2E1* проведено за допомогою полімеразної ланцюгової реакції й ендонуклеазного аналізу [7]. Для цього визначали наявність мутації в 6-му інтроні за допомогою ферменту ендонуклеази *DraI*. Дослідження проводили згідно з вимогами комісії біоетики ОНМедУ (протокол № 188 від 11 лютого 2011 р.). Обробку статистичних даних проводили із залученням Microsoft Excel і  $\chi^2$ -критерію, програми “Primer Biostatistica”.

### Результати дослідження та їх обговорення

Відповідно до генотипу *CYP2E1*, зі 112 здорових донорів 82,1 % були носіями гомозиготного дикого типу гена *CYP2E1\*DD* (табл. 1). Решта 17,9 % добровольців були носіями гетерозиготних генів *CYP2E1\*CD*. Носіїв генотипу *\*CC* серед дослідженої групи не виявлено. Загалом із досліджених 112 пар генів *CYP2E1* 91,1 % становив алель *CYP2E1\*D*, 8,9 % — алель *CYP2E1\*C*.

Згідно з формулою Харді — Вайнберга (Hardy–Weinberg), що відображає розподіл генотипів і фенотипів у популяції за певних умов, було розраховано очікувану поширеність генотипів *CYP2E1*. Отримані результати істотно не відрізнялися від розрахованих за формулою (табл. 2).

Серед здорових добровольців як чоловічої, так і жіночої статі носії генотипу *DD* становили

Таблиця 1

Генотип і алелі гена *CYP2E1\*6* серед здорових донорів, абс.

Генотип/алель	абс.
Генотип <i>CYP2E1</i> , n=112	
<i>DD</i>	92
<i>*CD</i>	20
<i>*CC</i>	—
Алель, n=224	
<i>*D</i>	204
<i>*C</i>	20

Таблиця 2

Поширеність генотипів *CYP2E1* серед здорових донорів фактичний і розрахований за формулою Харді — Вайнберга, %

Результати	Генотип, n=112		
	<i>*DD</i>	<i>*CD</i>	<i>*CC</i>
Фактичні	82,1	17,9	—
Розраховані	82,9	16,3	0,8

більшість, а саме 83,9 і 70,0 % відповідно. Решта 16,1 і 30,0 % — це носії генотипу *CD*. Таким чином, вірогідної різниці серед носіїв різних генотипів *CYP2E1* за гендерною ознакою не спостерігалось ( $p < 0,05$ ).

У 92 індивідів, які були носіями гомозиготного дикого типу гена *CYP2E1\*1*, відповідно до системи АВО, переважали носії А (II) групи крові — 35,9 %, рідше траплялися носії 0 (I) групи крові — в 32,6 % індивідів, і В (III) групи крові — 25,0 % добровольців, решта 6,5 % мали АВ (IV) групу крові (рис. 1). Майже так само розподілилися носії генотипу *CYP2E1\*CD*, з яких по 30,0 % мали А (II) і 0 (I) групи крові, чверть — В (III) групи крові, решта 15,0 % — АВ (IV) групу крові. Отже, носії гомозиготних і гетерозиготних генотипів однаково часто виявлялися серед добровольців з різними групами крові за системою АВО.

Серед 92 носіїв гомозиготного дикого типу гена *CYP2E1\*DD* домінували донори віком від 31 до 40 років і від 21 до 30 років — 34,8 і 31,5 % відповідно, рідше траплялися донори віком 41–50 років, до 20 років або після 51 року — 13,0; 10,9 і 9,8 % відповідно (рис. 2). Носії гетерозиготних генів *CYP2E1\*CD* найчастіше були віком від 21 до 30 років — 35,0 %, рідше належали до вікових категорій 31–40 років, до 20 і 41–50 років — 25,0; 15,0 і 15,0 % відповідно. Однак вікова різниця між носіями різних генотипів *CYP2E1* була не вірогідною.

Проведений аналіз поліморфізму генотипу *CYP2E1* засвідчив, що більшість, або 82,1 % донорів не мали мутованих алелів, тобто їх можна зарахувати до швидких метаболізаторів. Водночас 20 (17,9 %) індивідів були носіями одного

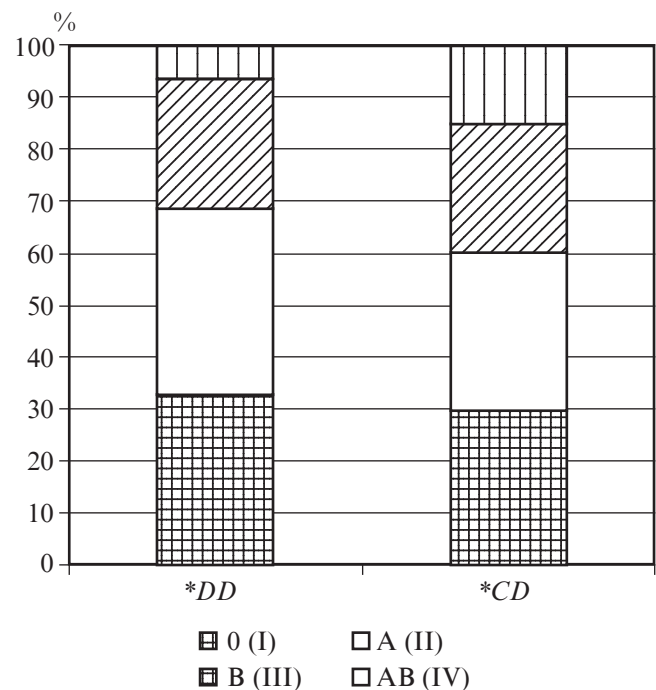


Рис. 1. Належність носіїв генотипів *CYP2E1\*DD* (1) і *\*CD* (2) до різних груп крові за системою АВО

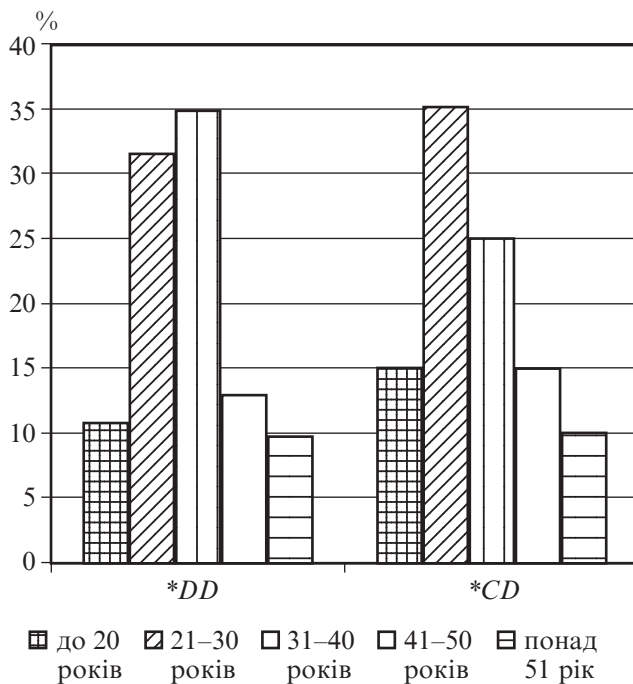


Рис. 2. Поширеність поліморфізму *CYP2E1* серед здорових донорів у різних вікових групах

поліморфного алеля і можуть бути зараховані до помірних метаболізаторів [8]. Жодних суттєвих відмінностей щодо віку, статті, групи крові серед носіїв різних генотипів і алелів *CYP2E1* не спостерігалось.

Було порівняно поширеність різних генотипів і алельної частоти *CYP2E1*, отриманих у даній роботі, з аналогічними показниками в інших країнах (табл. 3). Згідно з даними табл. 3, поширеність алеля *CYP2E1\*D* на південному заході України (91,1 %) була близькою до показників в інших європейських країнах, а також у Російській Федерації (Томськ) і Туреччині — 90,0–92,0 %, і значно більшою за аналогічний показник у дослідженнях, проведених у Південно-Східній Азії (Китай, Малайзія) і США — 78,0–81,1 % [9–16]. Поширеність поліморфного алеля на південному заході України *CYP2E1\*C* стано-

вила 8,9 %, що також було близьким до аналогічного показника в європейських країнах (Франція, Великобританія, Російська Федерація) — 8,0–10,0 %, і значно нижчим, ніж результати досліджень, проведених у Малайзії, Китаї, США — 18,9–22,0 %. За результатами генотипування *CYP2E1* та розподілом за генотипом *CYP2E1* на швидких (\**DD*), помірних (\**CD*) і повільних метаболізаторів (\**CC*) [8], 82,1 % індивідів були швидкими метаболізаторами, 17,9 % — помірними; повільні метаболізатори відсутні. Дослідження в інших європейських країнах (Великобританія, Франція, Російська Федерація, Туреччина) виявили близький рівень швидких метаболізаторів — від 81,0 до 84,9 % і значно нижчий рівень — у країнах Південно-Східної Азії і США — від 62,3 до 67,7 %. Поширеність генотипу помірних метаболізаторів становила 17,9 %, що було близьким до результатів досліджень у Франції — 14,3 %, Туреччині — 15,5 %, Росії — 17,9 %, Великобританії — 18,0 % і значно меншим, ніж у США (26,8 %), Малайзії і Китаї (по 31,4 %). За поширеністю повільних метаболізаторів країни можна розмістити у такому порядку: Україна (0 %) < Туреччина (0,5 %) < Франція (0,8 %) < Російська Федерація, Великобританія (1,0 %) < Малайзія (5,2 %) < США (5,5 %) < Китай (6,3 %). Отримані результати засвідчили генетичну спорідненість південного заходу України за поліморфізмом *CYP2E1* з європейськими країнами (включаючи Російську Федерацію), а також значну розбіжність з країнами Тихоокеанського регіону (США, Малайзія, Китай). Дані, отримані в Індії, вельми відрізняються від результатів інших досліджень значним поширенням генотипу швидких метаболізаторів (98,4 %).

Отримані дані щодо поліморфізму гена *CYP2E1* можуть мати значення для детоксикації багатьох ксенобіотиків, включаючи протитуберкульозні препарати, що, у свою чергу, зумовлює ефективність і небажані ефекти цих препаратів. Це буде предметом наших подальших досліджень.

Таблиця 3

Поширеність генотипу і алелів гена *CYP2E1\*6* у різних країнах, %

Генотип/алель	Дане дослідження, n=112	Індія, n=124	Франція, n=206	Туреччина, n=206	Російська Федерація (Томськ), n=125	Великобританія, n=375	США, n=452	Малайзія, n=175	Китай, n=510
Генотип <i>CYP2E1</i>									
<i>CYP2E1*DD</i>	82,1	98,4	84,9	84,0	81,1	81,0	67,7	63,4	62,3
<i>CYP2E1*CD</i>	17,9	1,6	14,3	15,5	17,9	18,0	26,8	31,4	31,4
<i>CYP2E1*CC</i>	0	0	0,8	0,5	1,0	1,0	5,5	5,2	6,3
Алель									
<i>CYP2E1*D</i>	91,1	99,2	92,0	91,7	90,0	90,0	81,1	79,1	78,0
<i>CYP2E1*C</i>	8,9	0,8	8,0	8,3	10,0	10,0	18,9	20,9	22,0
Джерело	—	[15]	[16]	[9]	[13]	[10]	[12]	[11]	[14]

## Висновки

1. Зі 112 досліджених здорових донорів — мешканців Одеської області — 82,1 % індивідів були носіями гомозиготного дикого типу гена *CYP2E1\*DD*, решта 17,9 % мали генотип *CYP2E1\*CD*; носії генотипу *CYP2E1\*CC* були відсутні.

2. Суттєвих відмінностей за ознакою віку, статі, групи крові системи АВО серед носіїв різних генотипів і алелів *CYP2E1* не спостерігалося. Поліморфізм генотипів і алелів *CYP2E1* на Півдні України був близьким до результатів досліджень у країнах Європи і суттєво відрізнявся від результатів обстеження етнічних груп Південно-Східній Азії і США.

## ЛІТЕРАТУРА

1. *Ramachandran Geetha*. Role of pharmacogenomics in the treatment of tuberculosis: a review / Geetha Ramachandran, Soumya Swaminathan // *Pharmacogenomics and Personalized Medicine*. – 2012. – N 5. – P. 89–98.
2. *Cytochrome P450 and NAT2 polymorphisms and drug metabolism in DOTS* / Mde J. Castillejos-Lopez, M. C. Garcha-Sancho, F. Quicones-Falconi, J. R. Pérez-Padilla. – *Rev. Invest. Clin.* – 2008. – Vol. 60, N 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. – Vol. 13, N 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. – Vol. 77, N 4. – P. 169–173.
5. *Антоненко П. Б.* Поліморфізм генотипу цитохрому-450 2C9 в Одеському регіоні / П. Б. Антоненко, В. Й. Кресюн // *Актуальні проблеми сучасної медицини : Вісник Української медичної стоматологічної академії*. – 2011. – Т. 11, вип. 4. – Ч. II. – С. 51–55.
6. *Кресюн В. Й.* Поліморфізм гена цитохрому-450 2C19 на Південному заході України / В. Й. Кресюн, П. Б. Антоненко // *Запорожский медицинский журнал*. – 2011. – Т. 13, № 6. – С. 36–38.
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. – Vol. 7. – P. 1013–1018.
8. *Кресюн В. Й.* Фармакогенетические основы взаимодействия организма и лекарств / В. Й. Кресюн, Ю. И. Бажора. – Одесса : Одес. гос. мед. ун-т, 2007. – 164 с.
9. *Ulusoy Gulen*. Genotype and allele frequencies of polymorphic CYP2E1 in the Turkish population / Gulen Ulusoy, Emel Arinç, Orhan Adali // *Arch. Toxicol.* – 2007. – Vol. 81. – P. 711–718.
10. *Genetic polymorphisms of cytochrome P4502E1 and susceptibility to alcoholic liver disease and hepatocellular carcinoma in a white population: a study and literature review, including meta-analysis* / NACS Wong, F. Rae, K. J. Simpson [et al.] // *J. Clin. Pathol. Mol. Pathol.* – 2000. – Vol. 53. – P. 88–93.
11. *RsaI but not DraI polymorphism in CYP2E1 gene increases the risk of gastrointestinal cancer in Malaysians: a case-control study* / Eric Tzyy Jiann Chong, Chong Cin Lee, Kek Heng Chua [et al.] // *BMJ Open*. – 2014. – N 4 : e004109.doi:10.1136/bmjopen-2013-004109
12. *Association of CYP1A1, GSTM1 and CYP2E1 polymorphisms with lung cancer suggest cell type specificities to tobacco carcinogens* / L. Le Marchand, L. Sivaraman, L. Pierce [et al.] // *Cancer Res.* – 1998. – Vol. 58. – P. 4858–4863.
13. *Association analysis of gene polymorphism in alcohol metabolizing enzymes with risk for coronary atherosclerosis* / A. V. Marusin, V. A. Stepanov, M. G. Spiridonova [et al.] // *Genetika*. – 2007. – Vol. 43, N 3. – P. 409–416.
14. *Functional PstI/RsaI polymorphism in CYP2E1 is associated with the development, progression and poor outcome of gastric cancer* / Jin Feng, Xiaolin Pan, Junbo Yu [et al.] – 2012. – Vol. 7, N 9. – P. 1–8.
15. *Role of CYP2E1 gene polymorphisms association with hepatitis risk in Northeast India* / Manab Deka, Moumita Bose, Bharati Baruah, Purabi Deka Bose // *World J. Gastroenterol.* – 2010. – Vol. 16 (38). – P. 4800–4808.
16. *Cytochromes P4502E1 and P4501E1 genotypes and susceptibility to cirrhosis or upper aerodigestive tract cancer in alcoholic Caucasians* / D. Lucas, C. Menez, F. Floch [et al.] // *Alcoholism: Clin. Exp. Res.* — 1996. – Vol. 20. – P. 1033–1037.