

Г. В. Зайченко<sup>1</sup>, Є. О. Танцура<sup>2</sup>

## Частота поліморфізму гена цитохрому Р-450 3А4 серед дітей з фармакорезистентними формами епілепсії

<sup>1</sup>Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ<sup>2</sup>Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

*Ключові слова:* поліморфізм гена СУР3А4, діти, фармакорезистентні епілепсії

Сучасний період фармакологічної науки називають післягеномним, а її розділ – фармакогенетика – сьогодні набуває стрімкого розвитку. Вивчення фармакогенетичних особливостей закладає підґрунтя персоніфікованого підходу до діагностики й відповідно більш успішного та безпечного лікування захворювань.

У процесі вивчення геному людини з'ясувалося, що від індивідуальних генетично детермінованих особливостей організму залежать і ризик виникнення, і характер перебігу багатьох захворювань, ефективність і безпечність фармакотерапії, особливо якщо вона призначається на тривалий час і передбачає одночасне застосування декількох лікарських препаратів. Відомо, що залежно від швидкості біотрансформації одна й та сама лікарська речовина в терапевтичній дозі може по різному впливати на різних індивідуумів: від відсутності ефективності до вираженої токсичної дії [1]. Саме це стосується такого захворювання як епілепсія, а особливо її фармакорезистентних форм, у разі яких, зазвичай, призначають комбіновану фармакотерапію, а пацієнти вимушені тривалий час, а інколи пожиттєво приймати антиепілептичні препарати (АЕП) [2–3].

Одним з найважливіших для успіху фармакотерапії є стан системи цитохрому Р-450, зокрема СУР3А4, який біотрансформує близько 50–60 % від усіх лікарських препаратів [4], тому зусилля вчених багатьох країн спрямовані на вивчення гена СУР3А4, що кодує одиниць фермент, однак отримані

результати неоднозначні, залишається багато не вирішених питань. В опублікованих роботах питання фармакогенетики часто не були основними, а кількість проаналізованих зразків – недостатньою, досліджувався метаболізм одного АЕП, що не співпадає зі щоденною практикою епілептологів і неврологів, особливо у випадках призначення двох і більше лікарських засобів [5]. До останнього часу вважалося, що ген СУР3А4 зберігає стійкість до мутацій, не має вираженого поліморфізму, але дослідження останніх років виявляють нові алейні варіанти (на цей час відомо 23). Більшість з них пов'язують з впливом на активність ензимів, що беруть участь у першій фазі детоксикації ксенобіотиків, зниженням їхньої активності. Найважливіше значення має поліморфізм гена СУР3А4\*1В, він найвивченіший з точки зору впливу на функціональний стан ферментів системи цитохрому Р-450, впливу та представництва в різних расових та етнічних групах. Існуючі популяційні дослідження показали значні міжрасові генетичні відмінності, зокрема в поширеності генотипу СУР3А4\*1В, який сповільнює метаболізм більшості ксенобіотиків, у тому числі й багатьох АЕП. Такий алейний варіант зустрічається в 53 % афроамериканців, у 9 % кавказців і зовсім не зустрічається в азіатів [6].

Відомі ще щонайменше три ізоферменти цитохрому Р-450, які також беруть участь у біотрансформації АЕП – СУР2С9, СУР2С19, СУР2D6, однак участь та роль кожного з них у складних процесах метаболізму цих препаратів залишається до кінця не визначеною [7].

*Мета дослідження* – визначення частоти поліморфізму гена цитохрому

P-450 3A4 у дітей, які страждають на фармакорезистентні форми епілепсії в Україні.

**Матеріали та методи.** Нами були проаналізовані результати фармакогенетичного обстеження 68 пацієнтів (дітей та підлітків), з них хлопчиків – 42 (62,69 %), дівчаток – 26 (37,31 %), віком від 5 місяців до 18 років, середній вік був (9,60 ± 5,65) років. Усі діти страждають на тяжкі, рефрактерні до лікування форми епілепсії, коли незважаючи на застосування моно-, а потім і політерапії (прийом від 1 до 4 АЕП), довготривалий підбір АЕП, епілептичні напади продовжуються. Термін захворювання був від 1 місяця до 16 років. Усі обстежені пацієнти – мешканці України, слов'яни. Діти знаходяться під спостереженням фахівців ДУ «Інститут неврології, психіатрії та наркології НАМН України». Попередньо було отримано письмову згоду батьків на проведення даного дослідження. Дослідження було дозволене Комітетом з етики ДУ «Інститут неврології, психіатрії та наркології НАМН України».

Усім дітям були проведені генетичні дослідження в ДУ «Інститут геронтології НАМН України», лабораторії епігенетики (м. Київ), методом алейспецифічної полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Геномну ДНК з клінічного матеріалу (лейкоцитів цільної крові) виділяли за допомогою реагенту «ДНК-сорб-В» («ІнтерЛабСервіс», Росія). Алейльні варіанти гена CYP3A4 встановлювали з використанням діагностичних наборів «SNP-експрес» виробництва НВФ «Літех», Росія. Була застосована наступна програма ампліфікації: 93° – 1 хв; 93° – 10 с, 64° – 10 с, 72° – 20 с, 35 циклів; 72° – 1 хв. Розділення продуктів ампліфікації проводили методом горизонтального електрофорезу. У 3 % агарозний гель вносили по 15 мкл ампліфіката в послідовності, що відповідає нумерації проб. Напруга джерела складала 10–15 В/см гелю (для камери з відстанню між електродами 27 см і максимального напругою 150 В). Фрагменти ДНК проявляли під ультрафіолетовим випромінюванням за довжини хвилі 310 нм.

За допомогою алейспецифічних

праймерів визначали однонуклеотидний поліморфізм 392A > G гена CYP3A4\*1B (rs2740574).

Статистичну обробку результатів (встановлення достовірності відмінностей між групами) проводили з використанням критерію  $\chi$ -квадрат, різницю вважали достовірною в разі  $p < 0,05$ .

**Результати та їх обговорення.** У проведеному фармакогенетичному дослідженні з визначенням частоти, з якою фіксувалися генотипи CYP3A4 у групі дітей з фармакорезистентними епілепсіями, домінувала алей CYP3A4\*1A, вона зустрічалася в 61 пацієнта (89,71 %). Цей генотип характерний для більшості людей і відповідає за нормальний метаболізм лікарських засобів, у тому числі АЕП. Алей CYP3A4\*1B була присутня в 7 пацієнтів (10, 29 %) (хлопчики – 5, дівчатка – 2). Для неї характерним є повільний метаболізм лікарських засобів, у тому числі й АЕП.

У 3 дітей був тільки один поліморфізм гена – CYP3A4\*1B, а в 4 інших мало місце його поєднання з генотипами CYP2C9\*2 і CYP2C19\*2, які також кодуєть ензими «повільної» дії та додатково сповільнюють метаболізм АЕП. У таблиці 1 наведено поліморфізм CYP3A4\*1B і його поєднання з іншими генотипами в дітей з фармакорезистентними епілепсіями.

Не існує єдиної думки щодо переліку АЕП, які біотрансформуються за допомогою ферментів цитохрому P-450 – CYP3A4, а з появою нових досліджень їхня кількість весь час збільшується. У таблиці 2 наведено дослідження, що стосуються біотрансформації АЕП цитохромом 3A4.

Дотепер в Україні дослідження з визначення частоти поліморфізму генотипу CYP3A4 у загальній популяції в дорослих і дітей, хворих як на курабельні епілепсії, так і фармакорезистентні, не проводилися.

Результати популяційних фармакогенетичних досліджень, проведених у різних країнах, з визначенням частоти, з якою зустрічається «повільна» алей гена, що кодує ензим CYP3A4\*1B, наведено в таблиці 3.

В інших країнах проведені тільки поодинокі дослідження частоти алейного варіанту гена CYP3A4\*1B у

**Поліморфізм гена CYP3A4 та його поєднання з іншими генотипами в дітей з фармакорезистентними формами епілепсії**

№ п/п	Ініціали	Стать	Вік	Поліморфізм
1	С. Т.	Ч	1 рік 6 місяців	CYP3A4*1B
2	Б. С.	Ч	13 років 10 місяців	CYP3A4*1B
3	В. Д.	Ч	8 років 6 місяців	CYP3A4*1B
4	Г. А.	Ч	1 рік 3 місяці	CYP3A4*1B CYP2C9*2
5	М. Д.	Ч	7 років	CYP3A4*1B CYP2C9*2 CYP2C19*2
6	С. К.	Ж	10,5 місяців	CYP3A4*1B CYP2C9*2
7	Л. А.	Ж	4 роки	CYP3A4*1B CYP2C19*2

дітей, хворих на резистентні до лікування епілепсії. Так, мексиканськими фахівцями було проведено дослідження з визначенням частоти генетичного поліморфізму CYP3A4\*1B у 23 дітей з фармакорезистентними епілепсіями та в 7 дітей з епілепсіями, які добре піддаються лікуванню. Показано достовірну різницю – geno-

тип CYP3A4\*1B був зафіксований у 78,3 % дітей з фармакорезистентними епілепсіями й у 14,3 % дітей з контрольної групи. На основі отриманих результатів автори роблять припущення про важливу роль алейного варіанту CYP 3A4\*1B у перебігу епілепсії, вважають, що його присутність є фактором ризику розвитку резистентності до лікування.

Згідно з отриманими нами даними, де частота генотипу CYP3A4\*1B у дітей з фармакорезистентними епілепсіями складає 10,29 %, не має достовірної різниці ( $p > 0,05$ ) і майже співпадає з результатами популяційних досліджень серед кавказців, в яких частота алейного варіанту CYP3A4\*1B складає 9,00 % [12].

У 4 (57,13 %) дітей з 7 спостерігали небажані побічні реакції на лікарські засоби та погіршення перебігу захворювання, пов'язані з лікуванням АЕП. Небажаними побічними реакціями були алергічні прояви та патологічні зміни з боку нервової системи.

#### Висновки

1. Серед дітей з фармакорезистентними формами епілепсії генотип цитохрому Р-450 3A4\*1B зустрічається в 10,29 % і достовірно не відрізняється ( $p > 0,05$ ) від показника, який

Таблиця 2

**Антиепілептичні препарати, які метаболізуються за допомогою CYP3A4**

Антиепілептичний препарат	Література
Карбамазепін Тіагабін Фелбамат	U. Zander et. al., 2008 [8]
Карбамазепін Етосуксимід Тіагабін Зонізамід	E. Perussa, 2006 [9]
Карбамазепін Клобазам Клоназепам Етосуксимід Фелбамат Тіагабін Зонізамід Топірамат	S. I. Johannessen, C. Landmark, 2010 [10]

## Дані популяційних досліджень щодо частоти поліморфізму гена CYP3A4

Країна, раса, етнічна група	Кількість досліджених, n	CYP3A4*1B, %	Література
Боснія та Герцоговина	140	5,1	[11]
Мексика	69	11,0	[12]
США, білі американці	273	3,6	[13]
США, афроамериканці	186	54,6	[13]
США, американці іспанського походження	188	9,3	[13]
США, американці японського походження	77	0,0	[13]
США, американці китайського походження	78	0,0	[13]

фіксується в загальній популяції кавказців – 9,00 %.

2. У більшості випадків (57,13 %) було зафіксовано поєднання алейного варіанту CYP3A4\*1B з іншими генотипами (CYP2C9\*2 і CYP2C19\*2), які контролюють відповідні ензими та сповільнюють метаболізм АЕП.

3. Фармакогенетичне тестування може стати важливим інструментом персоналізованого лікування педіатричних пацієнтів з фармакорезистентними формами епілепсії та знизити ризики ускладнень медикаментозної терапії.

1. Клиническая фармакогенетика: учебное пособие; под редакцией В. Г. Кукеса, Н. П. Бочкова / Д. А. Сычев, Г. В. Раменская, И. В. Игнатъев, В. Г. Кукес. – Москва : ГЕОТАР-Медиа, 2007. – 248 с.
2. Kwan P. Combination therapy in epilepsy: When and what to use / P. Kwan, M. J. Brodie // *Drugs*. – 2006. – № 66. – P. 1817–1829.
3. Louis E. K. Truly «rational» polytherapy: Maximizing efficacy and minimizing drug interactions, drug load, and adverse effects / E. K. Louis // *Curr Neuropharmacol*. – 2009. – № 7. – P. 96–105.
4. Cohen N. Pharmacogenomics and Personalized Medicine / N. Cohen. – Humana Press, 2010. – 528 p.
5. Полуненко Т. О. Фармакогенетичні аспекти сучасної медикаментозної терапії / Т. О. Полуненко, П. Б. Антоненко, В. И. Кресюн // *Досягнення біохімії та медицини*. – 2016. – № 2 (28). – С. 61–67.
6. Genetic Polymorphisms of the CYP3A4 Enzyme and Potential Influence on Drug Efficacy and/or Safety / Evidence – based medicine consult. Editor-in-Chief, A. J. Busti, 2015.
7. Anderson G. D. Pharmacokinetic, pharmacodynamic, and pharmacogenetic targeted therapy of antiepileptic drugs / G. D. Anderson // *Ther. Drug Monit*. – 2008. – V. 30. – P. 173–180.
8. Functional pharmacogenetic/genomic of human cytochromic P450 involved in drug biotransformation. Anal / U. Zander, M. Turprin, K. Klein, M. Schwab // *Bioanal Chem*. – 2008. – № 392. – P. 1093–1108.
9. Perucca E. Clinically relevant drug interaction with antiepileptic drugs / E. Perucca // *British Journal of Clinical Pharmacology*. – 2006. – № 61 (3). – P. 246–256.
10. Johannessen S. I. Antiepileptic Drug Interaction – Principles and Clinical Implication / S. I. Johannessen, C. Landmark // *Current Neuropharmacology*. – 2010. – № 8 (3). – P. 254–267.
11. Analysis of CYP3A4\*1B and CYP3A5\*3 polymorphisms in population of Bosnia and Herzegovina / S. Semiz, T. Dujc, B. Ostanec [et al.] // *Med Glas (Zenica)*. – 2011. – № 8 (1). – P. 84–89.
12. Population distribution and effects on drug metabolism of a genetic variant in the 5 promoter region of CYP3A4 / S. E. Ball, J. Scatina, J. Kao [et al.] // *Clin Pharmacol Ther*. – 1999. – № 66 (3). – P. 288–94.
13. Influence of genetic variants of CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 and CYP3A4 on antiepileptic drug metabolism in pediatric patients with refractory epilepsy / M. A. López-García, I. A. Feria-Romero, H. Serrano [et al.] // *Pharmacol Rep*. – 2017. – № 69 (3). – P. 504–511.

---

**Г. В. Зайченко , Є. О. Танцура**

### **Частота поліморфізму гена цитохрому P-450 3A4 серед дітей з фармакорезистентними формами епілепсії**

Проведено фармакогенетичне дослідження з визначенням поліморфізму гена CYP3A4 у 68 дітей (хлопчики – 62,69 %, дівчатка – 37,31 %) віком від 5 місяців до 18 років, які страждають на тяжкі, рефрактерні до лікування форми епілепсії. Термін захворювання був від 1 місяця до 16 років. Усі обстежені пацієнти – мешканці України, слов'яни. Генетичні дослідження проведені методом алель-специфічної полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛР) з подальшою візуалізацією продуктів ампліфікації в агарозному гелі. За допомогою алельспецифічних праймерів визначали однонуклеотидний поліморфізм 392A > G гена CYP3A4\*1B (rs2740574).

У 61 (89,71 %) дитини домінувала алель CYP3A4\*1A. Цей генотип характерний для більшості людей і відповідає за нормальний метаболізм. Алель CYP3A4\*1B була присутня у 7 (10,29 %) пацієнтів (хлопчики – 5, дівчатка – 2). Для неї характерним є повільний метаболізм лікарських засобів, у тому числі й антиепілептичних препаратів (АЕП). Частота поліморфізму CYP3A4\*1B – 10,29 %, достовірно не відрізняється ( $p > 0,05$ ) від показників у загальній популяції кавказців, де вона становить 9,00 %. У більшості випадків (57,13 %) було зафіксовано поєднання алельного варіанту CYP3A4\*1B, з іншими генотипами (CYP2C9\*2 і CYP2C19\*2), які контролюють відповідні ензими та додатково сповільнюють метаболізм АЕП. У 4 (57,13 %) дітей з 7 спостерігали небажані побічні реакції на лікарські засоби та погіршення перебігу захворювання, пов'язані з лікуванням АЕП. Небажаними побічними реакціями були алергічні прояви та патологічні зміни з боку нервової системи.

Фармакогенетичне тестування може стати важливим інструментом персоналізованого лікування педіатричних пацієнтів з фармакорезистентними формами епілепсії та знизити ризики ускладнень медикаментозної терапії.

*Ключові слова: поліморфізм гена CYP3A4, діти, фармакорезистентні епілепсії*

**А. В. Зайченко , Е. А. Танцура**

### **Частота полиморфизма гена цитохрома P-450 3A4 среди детей с фармакорезистентными формами эпилепсии**

Проведено фармакогенетическое исследование с определением полиморфизма гена CYP3A4 у 68 детей (мальчики – 62,69 %, девочки P-450 37,31 %) в возрасте от 5 месяцев до 18 лет с тяжелыми, рефрактерными к лечению формами эпилепсии. Длительность заболевания была от 1 месяца до 16 лет. Все обследованные пациенты – жители Украины, славяне. Генетические исследования проведены методом аллельспецифической полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующей визуализацией продуктов амплификации в агарозном геле. С помощью аллельспецифических праймеров определяли однонуклеотидный полиморфизм 392A > G гена CYP3A4\*1B (rs2740574).

У 61 (89,71 %) ребенка доминировала аллель CYP3A4\*1A. Этот генотип характерен для большинства людей и отвечает за нормальный метаболізм. Аллель CYP3A4\*1B присутствует у 7 (10,29 %) пациентов (мальчики – 5, девочки – 2). Для нее характерен медленный метаболізм лекарственных средств, в том числе и антиэпилептических препаратов (АЭП).

Частота полиморфизма CYP3A4\*1B – 10,29 %, достоверно не отличается ( $p > 0,05$ ) от показателей, фиксирующихся в общей популяции кавказцев, где она составляет 9,00 %. В большинстве случаев (57,13 %) было зафиксировано сочетание аллельного варианта CYP3A4\*1B, с другими генотипами (CYP2C9\*2 и CYP2C19\*2), которые контролируют соответствующие энзимы и замедляют метаболізм АЭП. У 4 (57,13 %) детей из 7 наблюдали нежелательные побочные реакции на лекарственные средства и ухудшение течения заболевания, связанные с приемом АЭП. Нежелательными побочными реакциями были аллергические проявления и патологические изменения со стороны нервной системы.

Фармакогенетическое тестирование может стать важным инструментом персонализированного лечения педиатрических пациентов с фармакорезистентными формами эпилепсии и снизить риски осложнений медикаментозной терапии.

*Ключевые слова: полиморфизм гена CYP3A4, дети, фармакорезистентные эпилепсии*

**G. V. Zaychenko, Y. O. Tantsura**

### **Frequency of gene polymorphism of cytochrome P-450 3A4 in children with pharmacoresistent forms of epilepsy**

We conducted a pharmacogenetic study to determine the polymorphism of the CYP3A4 gene in 68 children (boys – 62,69 %, girls – 37,31 %), aged from 5 months to 18 years, suffering from severe, refractory to the treatment form of epilepsy. The period of the disease was from 1 month to 16 years. All patients that were examined are Ukrainians, Slavs. Genetic studies were carried out using the allelic-specific polymerase chain reaction (PCR) method followed by the visualization of agarose gel amplification products. Due to the allelic-specific primers we identified a single-nucleotide polymorphism of the 392A > G of gene CYP3A4\*1B (rs2740574).

---

---

In 61 children (89,71 %), the allele CYP3A4\*1A was dominated, this genotype is typical for most people and is responsible for normal metabolism. Allele CYP3A4\*1B was present in 7 (10,29 %) patients (boys – 5, girls – 2). This allele is characterized by a slow metabolism of drugs, including antiepileptic drugs (AED).

The rate of polymorphism CYP3A4\*1B – 10,29 %, does not significantly differ ( $p > 0,05$ ) from the indicator which is recorded in the general population among the Caucasians, where it is 9,00 %. In most cases (57,13 %) was recorded a combination of allelic variants of CYP3A4\*1B and other genotypes (CYP2C9\*2 and CYP2C19\*2) that control enzymes and slow down the metabolism of AED. In 4 (57,13 %) of 7 children, we identified undesirable side-effects on drug and worsening of the disease associated with AED treatment. Undesirable side effects occurred in the form of allergic manifestations and pathological changes of the nervous system.

Pharmacogenetic testing can become an important tool for personalized treatment of pediatric patients with pharmacoresistant forms of epilepsy and reduce the risks of complications of drug therapy.

*Key words: CYP3A4 gene polymorphism, children, pharmaco-resistant epilepsy*

---

*Надійшла: 30 серпня 2018 р.*

**Контактна особа:** Танцура Євген Олександрович, асистент, кафедра загальної сімейної медицини, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, буд. 4, майдан Свободи, м. Харків. 61022. Тел.: + 38 0 50 598 40 70. Електронна пошта: [\\_tantsura@ukr.net](mailto:_tantsura@ukr.net)