

Анализ носительства клинически значимых аллельных вариантов генов *TPMT* и *DPYD*, ассоциированных с ответом на лекарственную терапию в онкогематологической практике, среди 9 этнических групп Российской Федерации

К.Б. Мирзаев¹, Д.С. Федоринов¹, К.А. Акмалова¹, Ш.П. Абдуллаев¹, А.А. Качанова¹, Ж.А. Созаева¹, Е.А. Гришина¹, Г.Н. Шуев¹, Е.Ю. Китаева², В.В. Шпрах², С.Ш. Сулейманов³, Л.З. Болиева⁴, М.С.-Х. Созаева⁵, С.М. Жучкова⁶, Н.Е. Гималдинова⁷, Е.Э. Сидукова⁸, И.С. Бурашникова⁹, А.А. Шикалева⁹, К.Г. Забудская¹⁰, Д.А. Сычев¹

¹ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва, Россия;

²Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Иркутск, Россия;

³ООО «Саико», Хабаровск, Россия;

⁴ФГБОУ ВО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Минздрава России, Владикавказ, Россия;

⁵ГБУЗ «Республиканская клиническая больница» Минздрава Кабардино-Балкарской Республики, Нальчик, Россия;

⁶АУ «Республиканский клинический онкологический диспансер» Минздрава Чувашии, Чебоксары, Россия;

⁷ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова», Чебоксары, Россия;

⁸ГБУ РМЭ «Козьмодемьянская межрайонная больница», Козьмодемьянск, Россия;

⁹Казанская государственная медицинская академия – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Казань, Россия;

¹⁰ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

Резюме

Цель. Изучить особенности носительства клинически значимых аллельных вариантов генов *TPMT* и *DPYD*, ассоциированных с ответом на лекарственную терапию гемобластозов, среди 9 этнических групп Российской Федерации.

Материалы и методы. В исследование включены 1446 условно здоровых добровольцев 9 этнических групп. Носительство полиморфных маркеров генов *TPMT* и *DPYD* выявлялось методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

Результаты. Во всех этнических группах распределение генотипов и аллелей соответствовало равновесию Харди–Вайнберга. *TPMT*3A* (rs1800460) и *TPMT*3C* (rs1142345) наблюдались во всех исследуемых этнических группах в гетерозиготном состоянии. В группе кабардинцев ($n=204$) частота встречаемости минорного аллеля *TPMT*3A* (MAF, %) составила 2,94%; балкарцев ($n=200$) – 1,25%; осетин ($n=239$) – 1,67%; чувашей ($n=238$) – 1,89%; марийцев ($n=206$) – 1,21%; татар ($n=141$) – 1,77%; русских ($n=134$) – 4,85%. Частота встречаемости минорного аллеля *TPMT*3C* (MAF, %) в группе кабардинцев ($n=204$) составила 4,90%; балкарцев ($n=200$) – 1,75%; бурят ($n=114$) – 0,44%; осетин ($n=239$) – 1,88%; чувашей ($n=238$) – 1,68%; марийцев ($n=206$) – 1,21%; татар ($n=141$) – 1,42%; русских ($n=134$) – 4,48%. Результаты анализа полиморфизма *DPYD*2A* (rs3918290) продемонстрировали важные этнические особенности распределения. В гетерозиготном состоянии он выявлен лишь в группах кабардинцев ($n=204$, MAF 1,22%), балкарцев ($n=200$, MAF 2,00%), осетин ($n=239$, MAF 0,63%).

Заключение. Полученные в исследовании результаты будут полезны для разработки персонализированных алгоритмов противоопухолевой терапии в онкологической практике, в том числе направленных на повышение безопасности химиотерапевтического лечения гемобластозов.

Ключевые слова: фармакогенетика, химиотерапия, этнические группы, *TPMT*, *DPYD*.

Для цитирования: Мирзаев К.Б., Федоринов Д.С., Акмалова К.А. и др. Анализ носительства клинически значимых аллельных вариантов генов *TPMT* и *DPYD*, ассоциированных с ответом на лекарственную терапию в онкогематологической практике, среди 9 этнических групп Российской Федерации. *Терапевтический архив*. 2020; 92 (8): 43–51. DOI: 10.26442/00403660.2020.08.000719

Analysis of carrying clinically significant allelic variants of *TPMT* and *DPYD* genes associated with the response to drug therapy in cancer practice among 9 ethnic groups of the Russian Federation

K.B. Mirzaev¹, D.S. Fedorinov¹, K.A. Akmalova¹, Sh.P. Abdullaev¹, A.A. Kachanova¹, Zh.A. Sozaeva¹, E.A. Grishina¹, G.N. Shuev¹, E.Yu. Kitaeva², V.V. Shprakh², S.Sh. Suleymanov³, L.Z. Bolieva⁴, M.S.-H. Sozaeva⁵, S.M. Zhuchkova⁶, N.E. Gimaldinova⁷, E.E. Sidukova⁸, I.S. Burashnikova⁹, A.A. Shikaleva⁹, K.G. Zabudskaya¹⁰, D.A. Sychev¹

¹Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia;

²Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – branch of Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Irkutsk, Russia;

³Saiko Russian-Japanese Medical Center, Khabarovsk, Russia;

⁴North Ossetia State Medical Academy, Vladikavkaz, Russia;

⁵Republican Clinical Hospital, Nalchik, Russia;

⁶Republican Clinical Oncology Center, Cheboksary, Russia;

⁷Ulianov Chuvash State University, Cheboksary, Russia;

⁸Kozmodemyansk Interdistrict Hospital, Kozmodemyansk, Russia;

⁹Kazan State Medical Academy – branch of Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Kazan, Russia;

¹⁰Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russia

Aim. To study the peculiarities of carrying clinically significant allelic variants of *TPMT* and *DPYD* genes associated with the response to drug therapy in cancer practice among 9 ethnic groups of the Russian Federation.

Materials and methods. The study included 1446 conditionally healthy volunteers from 9 ethnic groups. Carriage of polymorphic *TPMT* and *DPYD* gene markers was detected by the Real-Time PCR (polymerase chain reaction) method.

Results. In all ethnic groups, the distribution of genotypes and alleles matched the equilibrium of Hardy-Weinberg. *TPMT*3A* (rs1800460) and *TPMT*3C* (rs1142345) were observed in heterozygous state in all investigated ethnic groups. In the Kabardinian group ($n=204$) the frequency of the *TPMT*3A* minor allele (MAF, %) was 2.94%; Balkars ($n=200$) – 1.25%; Ossetians ($n=239$) – 1.67%; Chuvashes ($n=238$) – 1.89%; Mari ($n=206$) – 1.21%; Tatars ($n=141$) – 1.77%; Russians ($n=134$) – 4.85%. The frequency of the *TPMT*3C* minor allele (MAF, %) in the Kabardinian group ($n=204$) MAF was 4.90%; Balkars ($n=200$) – 1.75%; Buryats ($n=114$) – 0.44%; Ossetians ($n=239$) – 1.88%; Chuvashes ($n=238$) – 1.68%; Mari ($n=206$) – 1.21%; Tatars ($n=141$) – 1.42%; Russians ($n=134$) – 4.48%. The results of the analysis of *DPYD*2A* polymorphism (rs3918290) demonstrated ethnic peculiarities of distribution. In the heterozygous state it was found only in the groups of Kabardians ($n=204$, MAF 1.22%), Balkars ($n=200$, MAF 2.00%), and Ossetians ($n=239$, MAF 0.63%).

Conclusion. The results obtained in the study will be useful for developing personalized algorithms of antitumor therapy in cancer practice, including those aimed at increasing the safety of chemotherapy.

Keywords: pharmacogenetic, chemotherapy, ethnic groups, *TPMT*, *DPYD*.

For citation: Mirzaev K.B., Fedorinov D.S., Akmalova K.A., et al. Analysis of carrying clinically significant allelic variants of *TPMT* and *DPYD* genes associated with the response to drug therapy in cancer practice among 9 ethnic groups of the Russian Federation. *Therapeutic Archive*. 2020; 92 (8): 43–51. DOI: 10.26442/00403660.2020.08.000719

ДИ – доверительный интервал

ОШ – отношение шансов

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ADME (absorption, distribution, metabolism, and excretion) – абсорбция, распределение, метаболизм и экскреция

DPD (dihydropyrimidine dehydrogenase) – дигидропиримидиндегидрогеназа

GMAF (global minor allele frequency) – глобальная частота встречаемости минорного аллеля

MAF – частота встречаемости минорного аллеля

SNP (single nucleotide polymorphism) – однонуклеотидный полиморфизм

Введение

Согласно данным проекта «Атлас рака» (The Cancer Atlas) в 2018 г. зарегистрировано 18,1 млн случаев диагностики и 9,6 млн случаев смерти от онкологических заболеваний. У каждого 4-го мужчины и у каждой 5-й женщины развивается онкологическая патология, летальная для 1 из 8 мужчин и 1 из 11 женщин. Сохранение такой динамики увеличит глобальное бремя онкологических заболеваний до выявления 29,4 млн случаев ежегодно к 2040 г. [1].

Мультифакториальность процессов канцерогенеза определяет многообразие терапевтических стратегий и трудности прогнозирования результатов в онкологической практике. Особую сложность представляет генетическая гетерогенность опухоли, состоящая из двух основных компонентов: соматических мутаций непосредственно в опухолевой ткани, определяющих биологические особенности атипичных клеток, и индивидуальных полиморфных вариантов в генах-регуляторах гомеостаза организма [2]. На абсорбцию, распределение, метаболизм и экскрецию (absorption, distribution, metabolism, and excretion – ADME) лекарственных средств, применяемых при гемобластозах, оказывает влияние множество ферментов, трансмембранных транспортеров, рецепторов, активность которых обладает большой вариабельностью. Внутри популяции наблюдается полиморфизм генов, кодирующих компоненты ADME и определяющих особенности фармакологического ответа, в том числе и возникновение неблагоприятных побочных реакций [3].

Исследование таких полиморфных вариантов и вычленение конкретных генов-кандидатов является компетенцией фармакогенетики. В более широком смысле используют понятие фармакогеномики, описывающей взаимодействие между всей совокупностью генов организма (геномом) и реакцией на лекарственные средства [4].

В 1998 г. Рабочая группа по определению биомаркеров Национального института здравоохранения определила биомаркер как «характеристику, которая объективно измеряется и оценивается как показатель нормальных биологических процессов, патогенных процессов или фармакологических реакций на терапевтическое вмешательство» [5]. Фармакогенетический или фармакогеномный биомаркер определяется как

любой «генетический или геномный маркер (соответственно), связанный с реакцией на лекарственное средство» [6].

Определение генетических вариаций в ходе фармакогенетического тестирования с использованием панели, включающей ключевые фармакокинетические и фармакодинамические гены, позволяет учесть индивидуальные особенности метаболизма низкомолекулярных веществ. Широкое внедрение методов фармакогенетики в клиническую практику зависит от наличия информации о генетической структуре конкретной популяции. Предлагаемые на настоящий момент рекомендации сформированы на основании данных анализа европейской и североамериканской популяции, что затрудняет экстраполяцию результатов на популяцию в других частях света.

Территориальная изменчивость частоты различных ДНК-полиморфизмов формирует генетическую гетерогенность в различных популяциях и этнических группах Российской Федерации. С целью определения потенциальной значимости фармакогенетических маркеров среди этнических групп России проведен анализ территориальной гетерогенности клинически значимых полиморфных вариантов, двух генов из списка Very Important Pharmacogenes, ассоциированных с ответом на лекарственную терапию гемобластозов.

Материалы и методы

Исследование проводили в соответствии с Этическим кодексом Всемирной медицинской ассоциации (Хельсинкская декларация), оно одобрено локальным комитетом по этике Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования, Москва. От всех участников исследования получено письменное информированное согласие перед включением в исследование. Согласно условиям информированного согласия все результаты исследования могут быть использованы в научных целях без раскрытия персональных данных.

Исследуемая популяция

В исследование включены 1446 условно здоровых добровольцев:

- 200 балкарцев, средний возраст $46,6 \pm 18,7$ года, из них 93 (46,5%) мужчины и 107 (53,5%) женщин;

- 204 кабардинца, средний возраст $47,3 \pm 17,8$ года, из них 88 (43,1%) мужчин и 116 (56,9%) женщин;
- 114 бурят, средний возраст $42,8 \pm 15,4$ года, из них 34 (29,8%) мужчины и 80 (70,2%) женщин;
- 206 марийцев, средний возраст $43,8 \pm 14,8$ года, из них 35 (17,0%) мужчин и 171 (83,0%) женщины;
- 238 чувашей, средний возраст $39,5 \pm 12,3$ года, из них 34 (14,3%) мужчины и 204 (85,7%) женщины;
- 70 нанайцев, средний возраст $43,5 \pm 12,7$ года, из них 14 (20,0%) мужчин и 56 (80,0%) женщин;
- 141 татарин, средний возраст $47,9 \pm 13,9$ года, из них 29 (20,6%) мужчин и 112 (79,4%) женщин;
- 239 осетин, средний возраст $28,0 \pm 11,7$ года, из них 66 (27,6%) мужчин и 173 (72,4%) женщины;
- 134 русских, средний возраст $42,2 \pm 12,0$ года, из них 26 (19,4%) мужчин и 108 (80,6%) женщин.

Сведения об авторах:

Федоринов Денис Сергеевич – ординатор каф. онкологии и паллиативной медицины ФГБОУ ДПО РМАНПО. ORCID: 0000-0001-5516-7367
Акмалова Кристина Анатольевна – м.н.с. отд. молекулярной медицины НИИ молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО РМАНПО. ORCID: 0000-0003-3505-8520

Абдуллаев Шерзод Пардабоевич – м.н.с. отд. молекулярной медицины НИИ молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО РМАНПО. ORCID: 0000-0001-9001-1499

Качанова Анастасия Алексеевна – м.н.с. отд. молекулярной медицины НИИ молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО РМАНПО. ORCID: 0000-0003-3194-4410

Созаева Жаннет Алимовна – м.н.с. отд. молекулярной медицины НИИ молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО РМАНПО. ORCID: 0000-0001-5166-7903

Гришина Елена Анатольевна – д.б.н., в.н.с. отд. молекулярной медицины НИИ молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО РМАНПО. ORCID: 0000-0002-5621-8266

Шуев Григорий Николаевич – аспирант каф. клинической фармакологии и терапии им. акад. Б.Е. Вотчала ФГБОУ ДПО РМАНПО. ORCID: 0000-0002-5031-0088

Китаева Елена Юрьевна – ассистент каф. геронтологии, гериатрии и клинической фармакологии ИГМАПО – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО. ORCID: 0000-0001-9498-4503

Шпрах Владимир Викторович – дир. ИГМАПО – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО. ORCID: 0000-0003-1650-1275

Сулейманов Салават Шейхович – д.м.н., проф., ген. дир. ООО «Саико». ORCID: 0000-0002-9236-7525

Болиева Лаура Зелмхановна – д.м.н., проф., зав. каф. фармакологии с клинической фармакологией ФГБОУ ВО СОГМА. ORCID: 0000-0002-1820-7726

Созаева Мариям Султан-Хамитовна – зав. КДЛ ГБУЗ РКБ. ORCID: 0000-0002-5616-8836

Жучкова Светлана Михайловна – к.м.н., клин. фармаколог АУ РКВД. ORCID: 0000-0002-2503-1271

Гималдинова Наталья Евгеньевна – к.м.н., ассистент каф. общей и клинической морфологии и судебной медицины ФГБОУ ВО «ЧГУ им. И.Н. Ульянова». ORCID: 0000-0001-8488-308X

Сидукова Елена Эдуардовна – зам. глав. врача ГБУ РМЭ «Козьмодемьянская МБ». ORCID: 0000-0002-5083-6223

Бурашикова Ирина Сергеевна – к.м.н., ассистент каф. клинической фармакологии и фармакотерапии КГМА – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО. ORCID: 0000-0002-8511-5696

Шикалева Анастасия Алексеевна – председатель Совета обучающихся и молодых ученых КГМА – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО. ORCID: 0000-0003-1798-0490

Забудская Ксения Геннадьевна – ординатор по специальности «Генетика» ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». ORCID: 0000-0003-1290-574X

Сычев Дмитрий Алексеевич – чл.-кор. РАН, проф. РАН, д.м.н., проф., проректор по развитию и инновациям ФГБОУ ДПО РМАНПО. ORCID: 0000-0002-4496-3680

Этническую принадлежность участников исследования устанавливали с помощью метода самоопределения. Критерием включения являлось самоопределение не менее чем в двух поколениях: участник и оба родителя являлись представителями одной этнической группы. Как показано в ранее проведенных исследованиях, отмечается высокая корреляция между примененным методом самоидентификации и определением микросателлитных маркеров этнической принадлежности [7]. В исследование не включали потомков межэтнических браков.

Генотипирование

В пробирки с этилендиаминтетрауксусной кислотой собирали 4 мл венозной крови пациентов. Выделение ДНК из лейкоцитов цельной крови осуществляли с помощью набора лабораторных реагентов для выделения ДНК из цельной крови «ДНК-ЭКСТРАН-1» (ЗАО «Синтол», Россия). Носительство полиморфных маркеров генов выявлялось методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с помощью наборов реагентов «SNP-Скрин» (ЗАО «Синтол», Москва, Россия) на амплификаторе Real-Time CFX96 Touch (Bio-Rad Laboratories, Inc., США) и наборов TaqMan® SNP Genotyping Assays и TaqMan Universal Master Mix II, без UNG Applied Biosystems (Foster City, Калифорния, США). ПЦР проводили в реакционном объеме 10 мкл, содержащем геномную ДНК 15 нг, олигонуклеотидные праймеры 0,5 пМ, 1 мкл 10 ПЦР-буфера, дезоксинуклеотиды (дНТФ) 250 мкМ, хлорид магния 3 мМ и ДНК-полимеразу 0,25 U. Программа амплификации состояла из предварительной денатурации при 95°C в течение 10 мин с последующими 30 циклами денатурации при 95°C в течение 30 с, отжига при 60°C в течение 60 с и элонгации при 72°C в течение 60 с с последующей окончательной элонгацией при 72°C в течение 7 мин. Каждый шаг сопровождался регистрацией флуоресцентного сигнала по соответствующему каналу: FAM, HEX или FAM и HEX, а по части маркерам FAM и VIC. В данной работе нуклеотидные замены указаны в соответствии с инструкцией производителя и Human Genome Variation Society.

Статистический анализ

Для установления различий в носительстве минорных аллельных вариантов между этническими группами и проверки соблюдения равновесия Харди–Вайнберга применяли точный критерий Фишера (2-Tailed P). Дополнительно проводилась поправка на множественные сравнения Бонферрони. Средние показатели представлены как $M \pm SD$, где M – среднее, SD – стандартное отклонение. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Оценка результатов проводилась в программе GraphPad InStat.

Результаты

Во всех этнических группах распределение изучаемых генотипов и аллелей соответствовало равновесию Харди–Вайнберга (табл. 1).

Результаты множественного сравнения частоты носительства TPMT*3A (rs1800460), TPMT*3C (rs1142345) и

Контактная информация:

Мирзаев Карин Бадаиевич – к.м.н., с.н.с., зав. отд. персонализированной медицины НИИ молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО РМАНПО. Тел.: +7(963)782-74-42; e-mail: karin05doc@yandex.ru; ORCID: 0000-0002-9307-4994

Таблица 1. Оценка соблюдения равновесия Харди-Вайнберга по исследуемым генам среди 9 этнических групп

Этническая группа	n	Генотип TRMT*3A (rs1800460), n (%)			Соответствие закону Харди-Вайнберга		Генотип TRMT*3C (rs1142345), n (%)			Соответствие закону Харди-Вайнберга		Генотип DRUD*2A (rs3918290), n (%)			Соответствие закону Харди-Вайнберга	
		СС	СТ	ТТ	p	Минорный аллель, Вайнберга %	ТТ	ТС	СС	p	Минорный аллель, Вайнберга %	СС	СТ	ТТ	p	Минорный аллель, Вайнберга %
Кабардинцы	204	192 (94,1)	12 (5,9)	0	2,94	p>0,05	184 (90,2)	20 (9,8)	0	4,90	p>0,05	200 (98,0)	3 (1,5)	1 (0,5)	1,23	p>0,05
Ожидаемая частота, %		94,2	5,7	0,09			90,4	9,3	0,2			97,5	2,4	0,02		
Балкарцы	200	195 (97,5)	5 (2,5)	0	1,25	p>0,05	193 (98,5)	7 (1,5)	0	1,75	p>0,05	192 (96,0)	8 (4,0)	0	2,00	p>0,05
Ожидаемая частота, %		97,4	2,5	0,02			96,5	3,4	0,03			96,0	3,9	0,04		
Осетины	239	231 (96,7)	8 (3,3)	0	1,67	p>0,05	230 (96,2)	9 (3,8)	0	1,88	p>0,05	236 (98,3)	3 (1,7)	0	0,63	p>0,05
Ожидаемая частота, %		96,7	3,2	0,03			96,3	3,6	0,04			98,7	1,3	0		
Буряты	114	114 (100)	0	0	0	p>0,05	113 (99,2)	1 (0,8)	0	0,44	p>0,05	114 (100)	0	0	0	p>0,05
Ожидаемая частота, %		99,9	0,01	0			99,1	0,09	0			99,9	0,01	0		
Чуваши	238	229 (96,2)	9 (3,8)	0	1,89	p>0,05	230 (96,6)	8 (3,4)	0	1,68	p>0,05	238 (100)	0	0	0	p>0,05
Ожидаемая частота, %		97,2	3,7	0,004			96,6	3,3	0,03			99,2	0,08	0		
Нанайцы	70	70 (100)	0	0	0	p>0,05	69 (98,6)	1 (1,4)	0	0,71	p>0,05	70 (100)	0	0	0	p>0,05
Ожидаемая частота, %		99,1	0,09	0			98,5	1,4	0,01			99,1	0,09	0		
Марийцы	206	201 (97,6)	5 (2,4)	0	1,21	p>0,05	201 (97,6)	5 (2,4)	0	1,2	p>0,05	206 (100)	0	0	0	p>0,05
Ожидаемая частота, %		97,6	2,3	0,01			97,6	2,3	0,01			99,2	0,08	0		
Татары	141	136 (96,5)	5 (3,5)	0	1,77	p>0,05	137 (97,2)	4 (2,8)	0	1,42	p>0,05	141 (100)	0	0	0	p>0,05
Ожидаемая частота, %		96,4	3,5	0,03			97,1	2,8	0,02			99,1	0,09	0		
Русские	134	121 (90,3)	13 (9,7)	0	4,85	p>0,05	122 (91,0)	12 (9,0)	0	4,48	p>0,05	134 (100)	0	0	0	p>0,05
Ожидаемая частота, %		90,5	9,4	0,03			91,2	8,6	0,02			99,1	0,09	0		

Таблица 2. Сравнение частоты носительства клинически значимых аллельных вариантов генов TRMT и DPYD среди 9 этнических групп

SNP	Этническая группа	Общее количество (n/аллель)	MAF, %	Кабардинцы	Балкарцы	Осетины	Буряты	Чуваши	Нанайцы	Марийцы	Татары
TRMT*3A (rs1800460)	Кабардинцы	12/408	2,94	-	p=0,1396; ОШ 2,394; 95% ДИ 0,8354-6,860	p=0,2578; ОШ 1,78; 95% ДИ 0,7204-4,4	p=0,0055; ОШ 14,407; 95% ДИ 0,8484-244,65	p=0,3773; ОШ 1,572; 95% ДИ 0,6556-3,771	p=0,0429; ОШ 8,859; 95% ДИ 0,5207-150,71	p=0,0915; ОШ 2,467; 95% ДИ 0,8609- 7,068	p=0,4553; ОШ 1,679; 95% ДИ 0,5847-4,82
	Балкарцы	5/400	1,25	-	-	p=0,7809; ОШ 0,7437; 95% ДИ 0,2413-2,292	p=0,1648; ОШ 0,1574; 95% ДИ 0,0087-2,861	p=0,5914; ОШ 1,522; 95% ДИ 0,5059-4,581	p=0,3341; ОШ 0,2559; 95% ДИ 0,014-4,661	p=1; ОШ 0,9705; 95% ДИ 0,2787-3,379	p=0,7483; ОШ 0,7013; 95% ДИ 0,201-2,446
	Осетины	8/478	1,67	-	-	-	p=0,0595; ОШ 0,1211; 95% ДИ 0,006956-2,109	p=0,8126; ОШ 1,132; 95% ДИ 0,433-2,961	p=0,2089; ОШ 0,197; 95% ДИ 0,01129-3,437	p=0,7807; ОШ 0,7217; 95% ДИ 0,2342-2,224	p=1; ОШ 0,943; 95% ДИ 0,3054-2,912
	Буряты	0/228	0	-	-	-	p=0,0354; ОШ 9,287; 95% ДИ 0,5378-160,37	-	-	p=0,1665; ОШ 6,168; 95% ДИ 0,3393- 112,13	p=0,0683; ОШ 0,1104; 95% ДИ 0,006068-2,009
	Чуваши	9/476	1,89	-	-	-	-	-	p=0,2209; ОШ 0,1751; 95% ДИ 0,0101-3,03	p=0,5908; ОШ 0,6375; 95% ДИ 0,2119-1,918	p=1; ОШ 1,068; 95% ДИ 0,3541-3,219
	Нанайцы	0/140	0	-	-	-	-	-	-	p=0,3366; ОШ 3,793; 95% ДИ 0,2082- 69,74	p=0,1752; ОШ 0,1796; 95% ДИ 0,009851-3,273
	Марийцы	5/412	1,21	-	-	-	-	-	-	-	p=0,5377; ОШ 0,6806; 95% ДИ 0,1951-2,374
	Татары	5/282	1,77	-	-	-	-	-	-	-	-
	Русские	13/268	4,85	p=0,2155; ОШ 1,682; 95% ДИ 0,7556-3,746	p=0,0065; ОШ 0,2483; 95% ДИ 0,08745-0,705	p=0,0189; ОШ 0,3339; 95% ДИ 0,1366-0,8163	p=0,0003; ОШ 0,04141; 95% ДИ 0,002446-0,7011	p=0,0396; ОШ 0,378; 95% ДИ 0,1594-0,8967	p=0,0056; ОШ 0,6735; 95% ДИ 0,003971-1,142	p=0,0058; ОШ 0,241; 95% ДИ 0,08488- 0,6841	p=0,0544; ОШ 0,3541; 95% ДИ 0,1244-1,007
	Кабардинцы	20/408	4,90	-	p=0,0135; ОШ 2,686; 95% ДИ 0,1444-0,8267	p=0,0018; ОШ 0,08546; 95% ДИ 0,01139-0,6414	p=0,0135; ОШ 2,686; 95% ДИ 1,209-5,968	p=0,0069; ОШ 0,3316; 95% ДИ 0,1444-0,7613	p=0,0219; ОШ 0,1396; 95% ДИ 0,01855-1,05	p=0,0021; ОШ 0,2383; 95% ДИ 0,08855-0,6414	p=0,0183; ОШ 3,582; 95% ДИ 1,211-10,6
	Балкарцы	7/400	1,75	-	p=1; ОШ 0,9282; 95% ДИ 0,3425-2,516	p=0,2693; ОШ 0,2473; 95% ДИ 0,03022-2,024	p=1; ОШ 0,9597; 95% ДИ 0,3449-2,671	p=1; ОШ 0,6868; 95% ДИ 0,04923-3,314	p=0,5731; ОШ 0,6897; 95% ДИ 0,217- 2,192	p=1; ОШ 1,238; 95% ДИ 0,3588-4,271	

Таблица 2. Сравнение частоты носительства клинически значимых аллельных вариантов генов *TRMT* и *DRYD* среди 9 этнических групп (Продолжение)

SNP	Этническая группа	Общее количество личностей (n/аллель)	MAF, %	Кабардинцы	Балкарцы	Осетины	Буряты	Чуваши	Нанайцы	Марийцы	Татары
TRMT*3C (rs1142345)	Буряты	1/228	0,44	-	-	-	$p=0,1801$; ОШ 0,2296; 95% ДИ 0,02889–1,824	$p=0,2844$; ОШ 3,88; 95% ДИ 0,4822–31,228	$p=1$; ОШ 1,633; 95% ДИ 0,1013–26,338	$p=0,4296$; ОШ 2,789; 95% ДИ 0,3236–24,029	$p=0,3866$; ОШ 0,3062; 95% ДИ 0,03396–2,76
	Осетины	9/478	1,88	-	-	-	-	$p=1$; ОШ 0,8908; 95% ДИ 0,3407–2,329	$p=0,4693$; ОШ 0,3749; 95% ДИ 0,04706–2,986	$p=0,5909$; ОШ 1,334; 95% ДИ 0,2128–1,926	$p=0,7764$; ОШ 1,334; 95% ДИ 0,4068–4,373
	Чуваши	8/476	1,68	-	-	-	-	$p=1$; ОШ 0,4209; 95% ДИ 0,05216–3,396	$p=0,6919$; ОШ 0,7187; 95% ДИ 0,2332–2,215	$p=1$; ОШ 1,188; 95% ДИ 0,3544– 3,983	$p=1$; ОШ 1,188; 95% ДИ 0,3544– 3,983
	Нанайцы	1/140	0,71	-	-	-	-	-	-	$p=1$; ОШ 1,708; 95% ДИ 0,1977–14,751	$p=1$; ОШ 0,5; 95% ДИ 0,05533–4,518
	Марийцы	5/412	1,21	-	-	-	-	-	-	-	$p=1$; ОШ 0,8538; 95% ДИ 0,2272–3,209
	Татары	4/282	1,42	-	-	-	-	-	-	-	-
	Русские	12/268	4,48	$p=0,855$; ОШ 1,1; 95% ДИ 0,5283–2,289	$p=0,055$; ОШ 0,38; 95% ДИ 0,1476–0,9782	$p=0,0042$; ОШ 0,09398; 95% ДИ 0,01212–0,7288	$p=0,062$; ОШ 0,4094; 95% ДИ 0,1702–0,9848	$p=0,0321$; ОШ 0,3647; 95% ДИ 0,1471–0,9039	$p=0,0408$; ОШ 0,1535; 95% ДИ 0,01974–1,193	$p=0,0107$; ОШ 0,2621; 95% ДИ 0,09124–0,7528	$p=0,0415$; ОШ 0,307; 95% ДИ 0,09773–0,9641
	Кабардинцы	5/408	1,22	-	$p=0,416$; ОШ 1,645; 95% ДИ 0,5334–5,073	$p=0,4814$; ОШ 0,5091; 95% ДИ 0,1209–2,144	$p=0,1659$; ОШ 0,1605; 95% ДИ 0,00883–2,918	$p=0,0207$; ОШ 0,07698; 95% ДИ 0,004241–1,397	$p=0,3357$; ОШ 0,2611; 95% ДИ 0,01433–4,755	$p=0,0301$; ОШ 0,08893; 95% ДИ 0,004898–1,615	$p=0,0827$; ОШ 0,1298; 95% ДИ 0,007146–2,359
	Балкарцы	8/400	2,00	-	-	$p=0,124$; ОШ 0,3095; 95% ДИ 0,08153–1,175	$p=0,0561$; ОШ 0,101; 95% ДИ 0,005801–1,76	$p=0,0018$; ОШ 0,04845; ДИ 0,002786– 0,8427	$p=0,1198$; ОШ 0,1643; 95% ДИ 0,009417–2,868	$p=0,003$; ОШ 0,05597; 95% ДИ 0,003218–0,9737	$p=0,0238$; ОШ 0,08173; 95% ДИ 0,004695–1,423
	Осетины	3/478	0,63	-	-	-	$p=0,5549$; ОШ 0,2973; 95% ДИ 0,01528–5,784	$p=0,2492$; ОШ 7,015; 95% ДИ 0,3611–136,27	$p=0,2492$; ОШ 0,1426; 95% ДИ 0,007338–2,769	$p=1$; ОШ 0,4835; 95% ДИ 0,02481–9,423	$p=0,299$; ОШ 0,2405; 95% ДИ 0,01237–4,676

Таблица 2. Сравнение частоты носительства клинически значимых аллельных вариантов генов *TPMT* и *DPYD* среди 9 этнических групп (Окончание)

SNP	Этническая группа	Общее количество (n/аллель)	MAF, %	Кабардинцы	Балкарцы	Осетины	Буряты	Чуваши	Нанайцы	Марийцы	Татары
DPYD*2A (rs3918290)	Буряты	0/228	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	Чуваши	0/476	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	Нанайцы	0/140	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	Марийцы	0/412	0	-	-	-	-	-	-	-	-
	Татары	0/282	0	-	-	-	-	-	-	-	-
Русские	0/268	0	$p=0,1629$; ОШ 0,1366; 95% ДИ 0,007518–2,483	$p=0,0244$; ОШ 0,08599; 95% ДИ 0,004939–1,497	$p=0,5567$; ОШ 0,253; 95% ДИ 0,01301–4,92	-	-	-	-	-	

DPYD*2A (rs3918290) представлены в табл. 2. С учетом поправки на множественные сравнения Бонферрони значимыми следует считать различия при $p < 0,00312$.

Статистически значимые различия по изучаемым маркерам выявлены между несколькими этническими группам европеоидной и монголоидной рас: по *TPMT**3A (rs1800460) – частота среди русских выше, чем среди бурят (не встречались носители); по *TPMT**3C (rs1142345) – частота среди кабардинцев выше, чем среди бурят и марийцев; по *DPYD**2A (rs3918290) – не встречалось носительство среди бурят, нанайцев, татар, чувашей и марийцев.

Обсуждение

Размер фармакологически значимых генетических aberrаций зачастую весьма небольшой и представлен однонуклеотидными полиморфизмами (single nucleotide polymorphism – SNP) [8]. На настоящий момент в ходе масштабного исследования более чем 60 тыс. экзотов обнаружено около 61 тыс. небольших полиморфных вариантов в 806 генах, вовлеченных в формирование ответа на лекарственные средства [9].

Одним из наиболее известных фармакогенетических маркеров является тиопурин-S-метилтрансфераза (thiopurine S-methyltransferase – *TPMT*). Этот ген кодирует одноименный белок – цитоплазматический фермент, катализирующий в основном S-метилирование ароматических и гетероциклических сульфгидрильных соединений (6-меркаптопурин, 6-тиогуанин и азатиоприн). Аллельные варианты гена *TPMT* rs1800460 (локализация на хромосоме, включающая все затронутые в изменение нуклеотиды – chr6: 18138997 (GRCh38.p12)) и rs1142345 (локализация – chr6: 18130687 (GRCh38.p12)) ассоциированы со снижением каталитической активности тиопурин-S-метилтрансферазы [10].

6-меркаптопурин – химиотерапевтическое средство из группы антиметаболитов, активно применяется в онкогематологии: при остром лейкозе, индукции ремиссии при остром лимфобластном и нелимфобластном лейкозе, хроническом миелолейкозе. Молекула 6-меркаптопурин является пролекарством. Активные метаболиты – тиогуаниновые основания – блокируют синтез ДНК и в меньшей степени РНК в пролиферирующих клетках. Тиопурин-S-метилтрансфераза катализирует S-метилирование препарата с образованием неактивного продукта метил-6-меркаптопурина, который препятствует избыточному синтезу тиогуаниновых оснований. При недостаточной активности фермента введение стандартных доз 6-меркаптопурина приводит к накоплению тиогуаниновых нуклеотидов в большом количестве, обуславливая такие нежелательные эффекты, как миелосупрессия [4]. И, соответственно, у гетерозиготных носителей аллелей со сниженной активностью фермента в сравнении с носителями «дикого» типа может встречаться более высокая частота гематотоксических осложнений. Генотипирование по *TPMT* позволяет определить индивидуальную активность фермента у пациента и корректировать дозы тиопуриновых химиопрепаратов 6-меркаптопурина и 6-тиогуанина [4, 5].

В европейской популяции частота выявления аллельного варианта rs1800460 составляет от 1,30% (база данных 1000 Genomes Project phase3 release V3+) до 3,70% (полноэкзомное исследование The genome Aggregation Database – gnomAD); в Азии – от 0,40% (данные The Exome Aggregation Consortium и gnomAD) до 2,80% (база данных 1000 Genomes Project phase3 release V3+). Глобальная частота встречаемости минорного аллеля (global minor allele frequency – GMAF) составляет 1,70%.

Аллельный вариант rs1142345 обнаруживается у 2,90–4,10% населения Европы и у 0,80–4,00% азиатского населения (GMAF 4,59%) [11]. Частота аллелей полиморфизма *TPMT**3A (rs1800460) обнаруживалась в пределах указанных

интервалов лишь в гетерозиготном состоянии. В группе кабардинцев ($n=204$) частота встречаемости минорного аллеля (minor allele frequency – MAF, %) составила 2,94%, балкарцев ($n=200$) – 1,25%; осетин ($n=239$) – 1,67%; чувашей ($n=238$) – 1,89%; марийцев ($n=206$) – 1,21%; татар ($n=141$) – 1,77%; русских ($n=134$) – 4,85%. Полиморфизм $TPMT^*3C$ (rs1142345) встречался во всех исследуемых этнических группах только в гетерозиготном состоянии. В группе кабардинцев ($n=204$) MAF составила 4,90%; балкарцев ($n=200$) – 1,75%; бурятов ($n=114$) – 0,44%; осетин ($n=239$) – 1,88%; чувашей ($n=238$) – 1,68%; марийцев ($n=206$) – 1,21%; татар ($n=141$) – 1,42%; русских ($n=134$) – 4,48%. В южно- и североамериканской популяциях наиболее масштабным исследованием стал проект Population Architecture using Genomics and Epidemiology, summary data (PAGE-summary, PAGE II, 2013–2019). По его результатам средняя MAF составила 0,01%, наиболее высокая MAF обнаруживалась у представителей южноазиатской этнической группы – 1,00% [12]. Данные аллельные варианты изучались и в ранее проведенных в РФ исследованиях. В исследовании Е. Samochatova и соавт. у детей с гемобластозами частота $TPMT^*3A$ и $TPMT^*3C$ составила 4,5 и 0,8% соответственно [13]. В исследовании А.А. Карнюшка среди аналогичной категории пациентов, но в другом регионе частота $TPMT^*3A$ и $TPMT^*3C$ составила 7,8 и 3,9% соответственно [14]. В более крупном исследовании Т. Nasedkina и соавт. на смешанной (пациенты, здоровые добровольцы) популяции частота $TPMT^*3A$ и $TPMT^*3C$ составила 2,6 и 0,36% соответственно [15].

Фермент дигидропиримидиндегидрогеназа (dihydropyrimidine dehydrogenase – DPD) участвует в метаболизме химиотерапевтических агентов из группы фторпиримидинов: 5-фторурацила, широко применяющегося в онкологической практике, и перорального препарата капецитабина. Изменения нуклеотидной последовательности в гене $DPYD$, кодирующем DPD, аналогично с $TPMT$ приводят к недостаточной активности этого фермента [16]. Наиболее распространенным аллельным вариантом является мутация в участке сплайсинга $DPYD^*2A$ (rs3918290), что вызывает сдвиг рамки считывания и пропуск всего экзона 14 (фрагмент кодирующей последовательности) [17]. Фенотипически увеличивается

риск тяжелой токсичности, индуцированной фторпиримидинами [18, 19]. Генетический скрининг пациентов перед проведением фторпиримидинсодержащей терапии позволит оптимально модифицировать дозу в зависимости от аллельного варианта [20]. GMAF существенно ниже обоих аллельных вариантов гена $TPMT$ и составляет 0,28%. Результаты анализа полиморфизма $DPYD^*2A$ (rs3918290) продемонстрировали этнические особенности распределения. В гетерозиготном состоянии он выявлен лишь в группах кабардинцев ($n=204$, MAF 1,22%), балкарцев ($n=200$, MAF 2,00%), осетин ($n=239$, MAF 0,63%). Данные величины несколько превышают результаты, полученные в европейской – от 0,1% (данные gnomAD) до 0,5% (1000 Genomes), африканской (0,1%), южноазиатской популяциях (0,1%) [21]. Данный аллельный вариант гена $DPYD$ изучался в нескольких ранее проведенных в РФ исследованиях. В исследовании D. Mitrofanov и соавт. среди жителей Новосибирского региона частота $DPYD^*2A$ составила 4,5% [22]. В исследовании Н.Н. Тимошкиной и соавт. у пациентов с колоректальным раком аллельный вариант $*2A$ не обнаружен [23].

Заключение

Полученные в исследовании результаты будут полезны для разработки персонализированных алгоритмов противоопухолевой терапии в онкологической практике, в том числе направленных на повышение безопасности химиотерапевтического лечения гемобластозов.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, грант №18-75-00112 «Генетические детерминанты чувствительности к лекарственным средствам у коренных народов Северного Кавказа, Республики Крым, Поволжья и Сибири».

Работа выполнена в НИИ молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Available from: <http://canceratlas.cancer.org/the-burden/the-burden-of-cancer/>
2. Wei M. Identification of pharmacogenetic markers in cancer supportive care. *J Clin Oncol*. 2018;36:34(Suppl.):109. doi: 10.1200/JCO.2018.36.34_suppl.109
3. Ingelman-Sundberg M, Oscarson M, McLellan RA. Polymorphic human cytochrome P450 enzymes: an opportunity for individualized drug treatment. *Trends Pharmacol Sci*. 1999;20(8):342-9. doi: 10.1016/s0165-6147(99)01363-2
4. Monte AA, Heard KJ, Vasiliou V. Prediction of drug response and safety in clinical practice. *J Med Toxicol*. 2012;8:43-51. doi: 10.1007/s13181-011-0198-7
5. Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther*. 2001;69(3):89-95. doi: 10.1067/mcp.2001.113989
6. Patel JN. Application of genotype-guided cancer therapy in solid tumors. *Pharmacogenomics*. 2014;15(1):79-93. doi: 10.2217/pgs.13.227
7. Tang H, Quertermous T, Rodriguez B, et al. Genetic structure, self-identified race/ethnicity, and confounding in case-control association studies. *Am J Human Genet*. 2005;76(2):268-75. doi: 10.1086/427888
8. Schärfe CP, Tremmel R, Schwab M, et al. Genetic variation in human drug-related genes. *Genome Med*. 2017;9(1):117. doi: 10.1186/s13073-017-0502-5
9. Saadeh C, Bright D, Rustem D. Precision Medicine in Oncology Pharmacy Practice. *Acta Medica Academica*. 2019;48(1):90-104. doi: 10.5644/ama2006-124.246
10. National Center for Biotechnology Information. ClinVar. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/VCV000012722.2>
11. Available from: <http://gnomad.broadinstitute.org/variant/6-18139228-C-T>
12. Available from: <https://www.pagestudy.org/index.php/mega>
13. Samochatova EV, Chupova NV, Rudneva A, et al. $TPMT$ genetic variations in populations of the Russian Federation. *Pediatr Blood Cancer*. 2009;52(2):203-8. doi: 10.1002/pbc.21837
14. Карнюшка А.А., Субботина Т.Н., Шайхутдинова Р.В. и др. Анализ полиморфизмов в гене $TPMT$ у детей с острым лейкозом на территории Красноярского края. *Рос. журн. детской гематологии и онкологии*. 2018;5(3):56-9 [Karnyushka AA, Subbotina TN, Shaikhutdinova RV, et al. Analysis of polymorphisms in the $TPMT$ gene in children with acute leukemia in the Krasnoyarsk Territory. *Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology*. 2018;5(3):56-9 (In Russ.)]. doi: 10.17650/2311-1267-2018-5-3-56-59
15. Nasedkina TV, Fedorova OE, Glotov AS, et al. Rapid genotyping of common deficient thiopurine S-methyltransferase alleles using the DNA-microchip technique. *Eur J Hum Genet*. 2006;14(9):991-8. doi: 10.1038/sj.ejhg.5201647

16. Palmirotta R, Lovero D, Delacour H, et al. Rare Dihydropyrimidine Dehydrogenase Variants and Toxicity by Fluoropyrimidines: A Case Report. *Front Oncol.* 2019;9:139. doi: 10.3389/fonc.2019.00139
17. Meulendijks D, Cats A, Beijnen JH, Schellens JH. Improving safety of fluoropyrimidine chemotherapy by individualizing treatment based on dihydropyrimidine dehydrogenase activity – Ready for clinical practice? *Cancer Treat Rev.* 2016;50:23-34. doi: 10.1016/j.ctrv.2016.08.002
18. Patel JN, Fuchs CS, Owzar K, et al. Gastric cancer pharmacogenetics: progress or old tripe? *Pharmacogenomics.* 2013;14(9):1053-64. doi: 10.2217/pgs.13.88
19. Van Kuilenburg AB, Meinsma R, Zoetekouw L, Van Gennip AH. High prevalence of the IVS14 + 1G>A mutation in the dihydropyrimidine dehydrogenase gene of patients with severe 5-fluorouracil-associated toxicity. *Pharmacogenetics.* 2002;12(7):555-8. doi: 10.1097/00008571-200210000-00007
20. Amstutz U, Henricks LM, Offer SM, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for Dihydropyrimidine Dehydrogenase Genotype and Fluoropyrimidine Dosing: 2017 Update. *Clin Pharmacol Ther.* 2018;103(2):210-6. doi: 10.1002/cpt.911
21. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs3918290>
22. Митрофанов Д.В., Часовникова О.Б., Королёва Л.С. и др. Оценка частоты встречаемости мутации 735G → А в сайте сплайсинга интрона 14 гена дигидропиримидиндегидрогеназы (DPYD) с помощью флюоресцентно-меченых олигонуклеотидов среди жителей Новосибирской области. *Генетика.* 2008;44(12):1684-92 [Mitrofanov DV, Chasovnikova OB, Koroleva LS et al. Frequency of the 735G → A mutation of the 5'-splice donor site of intron 14 of the dihydropyrimidine dehydrogenase gene (DPYD) in residents of Novosibirsk region (Russia) as revealed with fluorescent oligonucleotides. *Russ J Genet.* 2008;44(12):1684–92 (In Russ.)]. doi: 10.1134/S1022795408120119
23. Тимошкина Н.Н., Богомолова О.А., Жужеленко И.А. и др. Исследование полиморфизмов генов UGT1A1 и DPYD у пациентов с колоректальным раком. *Сиб. онкол. журн.* 2018;17(6):49-56. [Timoshkina NN, Bogomolova OA, Zhuzhelenko IA, et al. Study of polymorphisms of UGT1A1 and DPYD genes in chemotherapy for colorectal cancer. *Siberian Journal of Oncology.* 2018;17(6):49-56 (In Russ.)]. doi: 10.21294/1814-4861-2018-17-6-49-56

Поступила 18.05.2020