

STUDY OF CYP3A5 GENETIC POLYMORPHISM IN VIETNAMESE KINH ETHNIC GROUP

Vu Phuong Nhung^{1,2}, Nguyen Dang Ton^{1,2}, Nguyen Hai Ha^{1,2,*}

¹Institute of Genome Research, VAST, Vietnam

²Graduate University of Science and Technology, VAST, Vietnam

Received 25 April 2019, accepted 2 January 2020

ABSTRACT

Cytochrome P450 3A5 (CYP) belongs to the CYP3A cluster, which encode for several enzymes involved in metabolism of various drugs, endogenous substrates as well as exogenous compounds. Among the four genes of CY3A cluster, CYP3A5 plays an important role in pharmacogenetics since this enzyme metabolizes over 30% of the clinically prescribed drugs. The inter-individual variability in clearance of CYP3A substrates mainly depends on the genetic factors. In the present study, after collecting peripheral bloods samples from 100 unrelated healthy Kinh ethnic group in Vietnam, Sanger sequencing was used in order to determine the CYP3A5 variants responsible for enzyme activity alteration (*3, *6, *8 and *9). It was shown that CYP3A5*3 is the most prevalent variant with 67.5%, in which a haft of individuals carrying *3 were homozygous for this allele. In contrast, the variants *6, *8 and *9 were not found the study subjects. The data observed in current study would support dosing of drugs that metabolized by CYP3A5 and thereby increase treatment outcome.

Keywords: CYP3A5, drug metabolism, genetic variant, Kinh ethnic group, pharmacogenetics, tacrolimus.

Citation: Vu Phuong Nhung, Nguyen Dang Ton, Nguyen Hai Ha, 2020. Study of CYP3A5 genetic polymorphism in Vietnamese Kinh ethnic group. *Tap chi Sinh hoc*, 42(1): 111–123. <https://doi.org/10.15625/0866-7160/v42n1.13790>.

*Corresponding author email: nguyenhaiha@igr.ac.vn

©2020 Vietnam Academy of Science and Technology (VAST)

NGHIÊN CỨU ĐA HÌNH GEN *CYP3A5* Ở NGƯỜI KINH VIỆT NAM

Vũ Phương Nhung^{1,2}, Nguyễn Đăng Tôn^{1,2}, Nguyễn Hải Hà^{1,2,*}

¹Viện Nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Ngày nhận bài 25-4-2019, ngày chấp nhận 2-1-2020

TÓM TẮT

CYP3A5 là một trong 4 gen thuộc cụm gen *CYP3A* mã hóa cho các enzyme tham gia chuyển hóa nhiều loại thuốc, các hợp chất nội sinh và các hợp chất xenobiotic khác. Trong đó, *CYP3A5* tham gia chuyển hóa hơn 30% thuốc lâm sàng được kê đơn. Khả năng chuyển hóa thuốc của *CYP3A5* cũng như các gen khác thuộc họ *CYP3A* phụ thuộc chủ yếu vào di truyền. Trong số các biến thể đã biết của *CYP3A5*, *3, *6, *8 và *9 là các biến thể tạo nên protein bị giảm hoặc không có hoạt tính. Trong nghiên cứu này chúng tôi sử dụng phương pháp giải trình tự trực tiếp để xác định các biến thể quan trọng của gen *CYP3A5* bao gồm *3, *6, *8 và *9 trên 100 người Kinh khỏe mạnh. Kết quả cho thấy *CYP3A5**3 là biến thể phổ biến nhất với tần số xuất hiện là 67,5%. Năm mươi phần trăm cá thể mang alen *3 có kiểu gen đồng hợp tử *CYP3A5**3/*3. Không có cá thể nào được xác định là mang các biến thể *6, *8 và *9. Dữ liệu thu được của nghiên cứu góp phần nâng cao hiệu quả điều trị các bệnh có sử dụng các loại thuốc chuyển hóa bởi *CYP3A5*.

Từ khóa: *CYP3A5*, biến thể di truyền, chuyển hóa thuốc, tacrolimus.

*Địa chỉ liên hệ email: nguyenhaiha@igr.ac.vn

MỞ ĐẦU

Cytochrome P450 (CYP) là hệ thống chuyển hóa sinh học quan trọng trong cơ thể người. Chúng gồm các enzyme tham gia vào chuyển hóa các hợp chất xenobiotic (các loại thuốc và các hóa chất từ môi trường) và hợp chất endobiotic (axit béo, steroid, axit mật) (Lolodi et al., 2017; Rendic, 2002). Ở người có 18 họ gen *CYP* (Nebert et al., 2013) trong đó *CYP1*, *CYP2* và *CYP3* là 3 họ gen linh hoạt nhất, làm trung gian chuyển hóa cho nhiều hợp chất xenobiotic khác nhau (Lewis, 2004; Nebert et al., 2013). Khoảng 80% tổng số thuốc lâm sàng được chuyển hóa bởi 20 gen thuộc 3 họ gen này (Zanger & Schwab, 2013), trong đó phân họ *CYP3A* tham gia chuyển hóa, hơn 50% tổng số các loại thuốc thường được kê đơn (Burk et al., 2004; Zanger et al., 2008).

Họ gen *CYP3* chỉ có một phân họ *CYP3A*, nằm trên nhiễm sắc thể 7q21-q22 gồm 4 gen (*CYP3A4*, *CYP3A5*, *CYP3A7* và *CYP3A43*) và 2 gen giả (*CYP3AP1* và *CYP3AP2*) (Danielson, 2003). Nhiều đa hình trên gen *CYP3A* đã được chứng minh là làm giảm/mất hoạt tính của các enzyme tương ứng (Dai et al., 2001; Josephson et al., 2007; Kuehl et al., 2001; Werk et al., 2014). Do đó, các chất nền chuyển hóa phụ thuộc vào hoạt động chức năng của *CYP3A* có thể không được chuyển hóa hiệu quả khi có sự hiện diện của một trong những đa hình di truyền này. Như vậy, những bệnh nhân mang đa hình này có thể gặp phải tác dụng dược lý quá mức, sốc hay tác dụng phụ do nồng độ thuốc cao trong cơ thể khi không được chuyển hóa hiệu quả. Trên thực tế, các nghiên cứu đã chứng minh yếu tố di truyền có thể chiếm 20–95% sự thay đổi

trong lưu lượng và tác dụng của thuốc trong cơ thể (Ozdemir et al., 2000; Rahmioglu et al., 2011; Sarasamma et al., 2016). Trong số các enzyme thuộc họ CYP3A, CYP3A43 ít đóng góp nhất vào quá trình giải phóng thuốc ra khỏi cơ thể vì biểu hiện của nó rất thấp, hơn nữa, hoạt động xúc tác cũng kém hơn nhiều so với các enzyme khác (Domanski et al., 2001; Westlind-Johnsson et al., 2003). CYP3A7 được cho là ít có đóng góp cho việc chuyển hóa thuốc vì nó được biểu hiện ở thai nhi, ít khi thấy ở người trưởng thành (Schuetz et al., 1993; Schuetz et al., 1994; Tateishi et al., 1999). Hai gen tham gia chuyển hóa thuốc nhiều nhất là *CYP3A4* và *CYP3A5*. Đây đều là các gen có nhiều đa hình và cũng là yếu tố chính quyết định tính dược lý hay độc tố khác nhau trong phản ứng thuốc giữa các cá nhân.

CYP3A5 là gen đầu tiên gần tâm động nhất của cụm gen *CYP3A*, gen này nằm trên sợi liên tục (minus) của nhiễm sắc thể 7q22.1 gồm 13 exon mã hóa cho một protein nặng 52,5kDa gồm 502 axit amin (Langman et al., 2016). Với nhân HEME và phối tử kim loại sắt, protein *CYP3A5* có hoạt tính monooxygenase và oxydoreductase có vai trò tham gia các quá trình trao đổi chất steroid, trao đổi chất xenobiotic và quá trình dị hóa oxy hóa thuốc. *CYP3A5* biểu hiện ở nhiều cơ quan trong cơ thể nhưng chủ yếu ở gan và ruột non của người trưởng thành (Kuehl et al., 2001). Sự biểu hiện của *CYP3A5* và các protein CYP khác ở gan và ống tiêu hóa được cho là nguyên nhân chính ảnh hưởng đến sinh chuyển hóa của các loại thuốc đường uống. Biểu hiện của *CYP3A5* chiếm khoảng 10% đến 30% tổng số *CYP3A* ở gan (Westlind-Johnsson et al., 2003). Các biến thể của *CYP3A5* có mặt trên tất cả các vùng của gen bao gồm 5'upstream, exons, introns và 3'UTR (Lee et al., 2003) và được quy ước từ *1 đến *10 (hình 1). Những biến thể này có khả năng ảnh hưởng đến sự biểu hiện của mRNA, mức độ biểu hiện và hoạt động xúc tác của protein enzyme, nhưng hầu hết tác động trên mô hình *in vivo* chưa được chứng minh vì tính phức tạp trong hoạt động trao đổi chất của tế bào và cơ thể. Hầu hết các biến thể đã được chứng

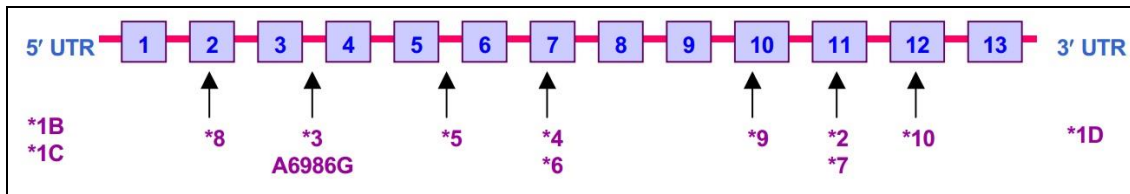
minh về hậu quả của nó trên mô hình *in vitro*. Hàng loạt các biến thể mới đang được phát hiện và bổ sung được thống kê tại trang web <https://www.pharmvar.org/gene/CYP3A5>.

Như đã nói ở trên, *CYP3A4* và *CYP3A5* cùng nhau tham gia nhiều nhất phản ứng chuyển hóa thuốc trong cơ thể. Yếu tố di truyền của các gen chuyển hóa là một trong những yếu tố chính quyết định tính chất của các phản ứng thuốc trong mỗi cá nhân. Nhưng xét về khía cạnh này, sự khác nhau giữa các đa hình của *CYP3A5* gây ra sự thay đổi rõ rệt hơn hẳn so với đa hình của *CYP3A4*. Hầu hết các biến thể của *CYP3A4* chưa được chứng minh rõ ràng về chức năng và cũng không phải là nguyên nhân chính dẫn đến sự thay đổi trong các phản ứng chuyển hóa thuốc (Lamba et al., 2002). Trong khi đó hầu hết đa hình của *CYP3A5* đã được chứng minh là tạo ra các enzyme không chức năng, ảnh hưởng nghiêm trọng tới quá trình chuyển hóa thuốc bởi enzyme này (Lamba et al., 2012). Trong số các đa hình, *CYP3A5**3 là biến thể quan trọng nhất gây ra sự suy giảm nghiêm trọng trong chức năng của *CYP3A5*. Hơn nữa, trong các biến thể của *CYP3A5* đây là alen phổ biến nhất trong tất cả các quần thể đã được nghiên cứu (Koch et al., 2002; Xie et al., 2004). Các biến thể khác ít phổ biến hơn nhưng cũng gây hậu quả suy giảm chức năng của enzyme *CYP3A5* bao gồm *6, *8 và *9. Có thể thấy, với khả năng chuyển hóa nhiều loại thuốc của các *CYP3A* thì các dữ liệu di truyền liên quan tới các enzyme này là cần thiết. Trong khi đó trên thế giới mới chỉ có một công bố về đa hình *CYP3A5* trên 78 người Kinh (Veiga et al., 2009). Ở Việt Nam, cho tới nay chưa có công bố nào về nghiên cứu đa hình di truyền của gen *CYP3A5*. Sự đóng góp về dữ liệu di truyền của các *CYP3A* nói chung và *CYP3A5* nói riêng trong tương lai là rất cần thiết trong công tác quản lý sử dụng thuốc và điều trị bệnh.

Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm bổ sung dữ liệu về đa hình gen *CYP3A5* đang còn thiếu ở Việt Nam. Bước đầu chúng tôi sử dụng phương pháp giải trình tự trực tiếp để

xác định các biến thể có ảnh hưởng tới chức năng của CYP3A5 đã được công bố bởi nhiều

nhóm nghiên cứu trên thế giới bao gồm các biến thể *3, *6, *8 và *9.



Hình 1. Phân bố của các biến thể trên gen CYP3A5 (*1-*10) (Lamba et al., 2002)

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Một trăm mẫu máu người Kinh khỏe mạnh (46 nam, 54 nữ) được Bệnh viện Đại học Y Hà Nội cung cấp, được sử dụng để tách DNA dùng cho các bước phân tích di truyền. Mục đích sử dụng mẫu trong nghiên cứu đã được giải thích với các đối tượng nghiên cứu trước khi tiến hành lấy mẫu. Thông tin của người hiến tặng được bảo mật, mỗi ống chứa mẫu máu của mỗi người riêng biệt và được mã hóa. Toàn bộ mẫu máu được bảo quản lạnh ngay sau khi lấy và trong suốt quá trình vận chuyển trước khi tiến hành các thao tác phân tích tiếp theo, đảm bảo toàn bộ mẫu hiến tặng không bị biến đổi. Nghiên cứu này đã thông qua Hội đồng Y đức của Viện Nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Tách chiết DNA tổng số từ máu

DNA tổng số được tách chiết từ máu ngoại vi sử dụng Exgene™ Blood SV mini Kit (GenAll, Hàn Quốc). Sau đó, DNA tổng số được kiểm tra bằng điện di trên Agrose 0.8% và nồng độ DNA được đánh giá bằng Qubit dsDNA HS Assay Kit (Life Technologies, USA). DNA tổng số được lưu ở (-)20°C phục vụ cho các thí nghiệm tiếp theo.

Thiết kế mỗi đặc hiệu và PCR khuếch đại vùng gen quan tâm

Các cặp mỗi đặc hiệu dùng trong nghiên cứu được thiết kế bằng phần mềm Primer 3 (v.0.4.0) dựa trên trình tự gen tham chiếu của CYP3A5. Các đặc trưng và tính đặc hiệu của mỗi cặp mỗi được kiểm tra bằng các công cụ IDT OligoAnalyzer Tool và In silico PCR amplification. Các mỗi được tổng hợp và cung cấp bởi công ty Sinh hóa Phù Sa-Cần Thơ. Trình tự các cặp mỗi được liệt kê trong bảng 1.

Bảng 1. Trình tự mỗi được sử dụng để khuếch đại đặc hiệu các vùng gen CYP3A5

Biến thể	Trình tự mỗi (5'-3')	Size (bp)	Ta (°C)
CYP3A5*3	F: CTTGCAGCATTTAGTCCTTGTGAG R: CTGATCACGTCGGGATCTGTGA	503	59
CYP3A5*6	F: AGGTGAGTCTAACTCAGCTTG # R: GACAGCTAAAGTGGTGAGGG #	578	58
CYP3A5*8	F: CTTGACCATTCCAGTTCCTGA # R: CTACAGGCATGGGCTACCATA #	476	56
CYP3A5*9	F: AGGATCATTCAAGGCACACAC # R: ATG CTT CTGCCAGTAGCAAC	680	58
F: Forward Primer-Mỗi xuôi R: Reverse Primer-Mỗi ngược Size: Kích thước đoạn DNA đặc hiệu được nhân bản Ta: Nhiệt độ gắn mỗi #: Trình tự mỗi được tham khảo từ nghiên cứu của (Xie et al., 2004)			

Phản ứng PCR được thực hiện với tổng thể tích cuối cùng của mỗi phản ứng là 25 μ l bao gồm: 10 ng DNA tổng số, 1,2 μ l mỗi mỗi (10 pmole/ μ l), 12,5 μ l Taq 2X Mastermix (New England Biolab, USA), 1 μ l DMSO, 7,9 μ l nước khử ion (Life Technologies, USA). Chu trình nhiệt: 95°C/5 min, 40 chu kỳ (95°C/15s–56–59°C/15s–68°C/30s), 8°C/5min, 4°C/ ∞ . Sản phẩm của phản ứng được kiểm tra bằng điện di trên gel Agrose 1%. Sản phẩm PCR sau đó được tinh sạch bằng E.Z.N.A. Cycle Pure Kit và bảo quản ở (-)20°C.

Giải trình tự Sanger

Sản phẩm PCR đã tinh sạch được thực hiện phản ứng cycle sequencing với BigDye V3.1 (Applied Biosystems) theo 2 chiều xuôi và ngược. Chu trình nhiệt như sau: 96°C/1 min, 25 chu kỳ (96°C/10s, (-)50°C/5s, (-)60°C/4min), 4°C/ ∞ . Sản phẩm này sau đó được tinh sạch với ethanol, biến tính trong HiDi formamide (Thermo Scientific, USA) ở 95°C trong 2 phút trước khi làm lạnh nhanh trên đá. Điện di mao quản được thực hiện trên máy giải trình tự 3500 (Applied Biosystems, USA).

Phân tích kết quả và xử lý dữ liệu

Trình tự nucleotide tham chiếu của gen CYP3A5 (đoạn trình tự nucleotide từ 99680026–99648189) được lấy từ cơ sở dữ liệu nucleotide của NCBI mang số hiệu NG_007938. Các trình tự nucleotide của mẫu

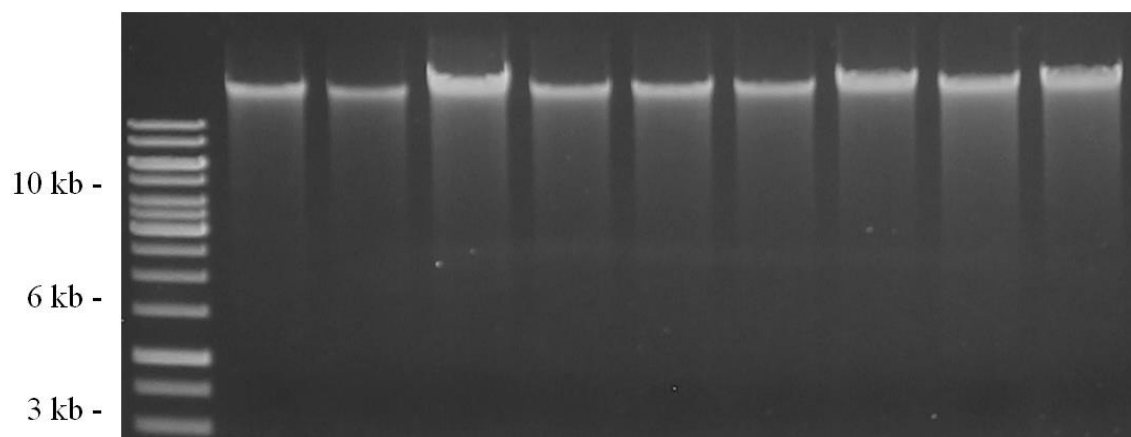
so sánh với trình tự tham chiếu bằng phần mềm BioEdit để xác định nucleotide tại vị trí quan tâm.

Các thuật toán thống kê được thực hiện trên Microsoft Excel 2010. Định luật cân bằng Hardy-Weinberg được áp dụng để đánh giá tần số kiểu gen của quần thể. Tiêu chuẩn chi bình phương (χ^2) được áp dụng để so sánh tần số alen trong nghiên cứu này với các quần thể được công bố khác và để đánh giá trạng thái cân bằng của quần thể so với định luật Hardy-Weinberg. Phân bố chuẩn tắc được dùng để ước lượng khoảng tin cậy cho tỷ lệ các alen. Tất cả các phép xác suất thống kê dùng trong nghiên cứu đều được tiến hành với độ tin cậy 95% (95% CI).

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Kết quả tách chiết DNA tổng số

Để chuẩn bị cho phân tích di truyền, các mẫu máu được tách chiết DNA tổng số sử dụng Exgene™ Blood SV mini Kit. Sau khi tách chiết, DNA tổng số được kiểm tra bằng điện di trên gel Agrose 0,8% (hình 2). Kết quả điện di cho thấy các băng điện di sáng và gọn, thể hiện DNA tổng số đảm bảo độ tinh sạch và không bị đứt gãy, đủ chất lượng để tiến hành các phân tích tiếp theo. Nồng độ DNA tách chiết đã được đo cho thấy hàm lượng DNA các mẫu nằm trong khoảng 20–110 ng/ μ l.

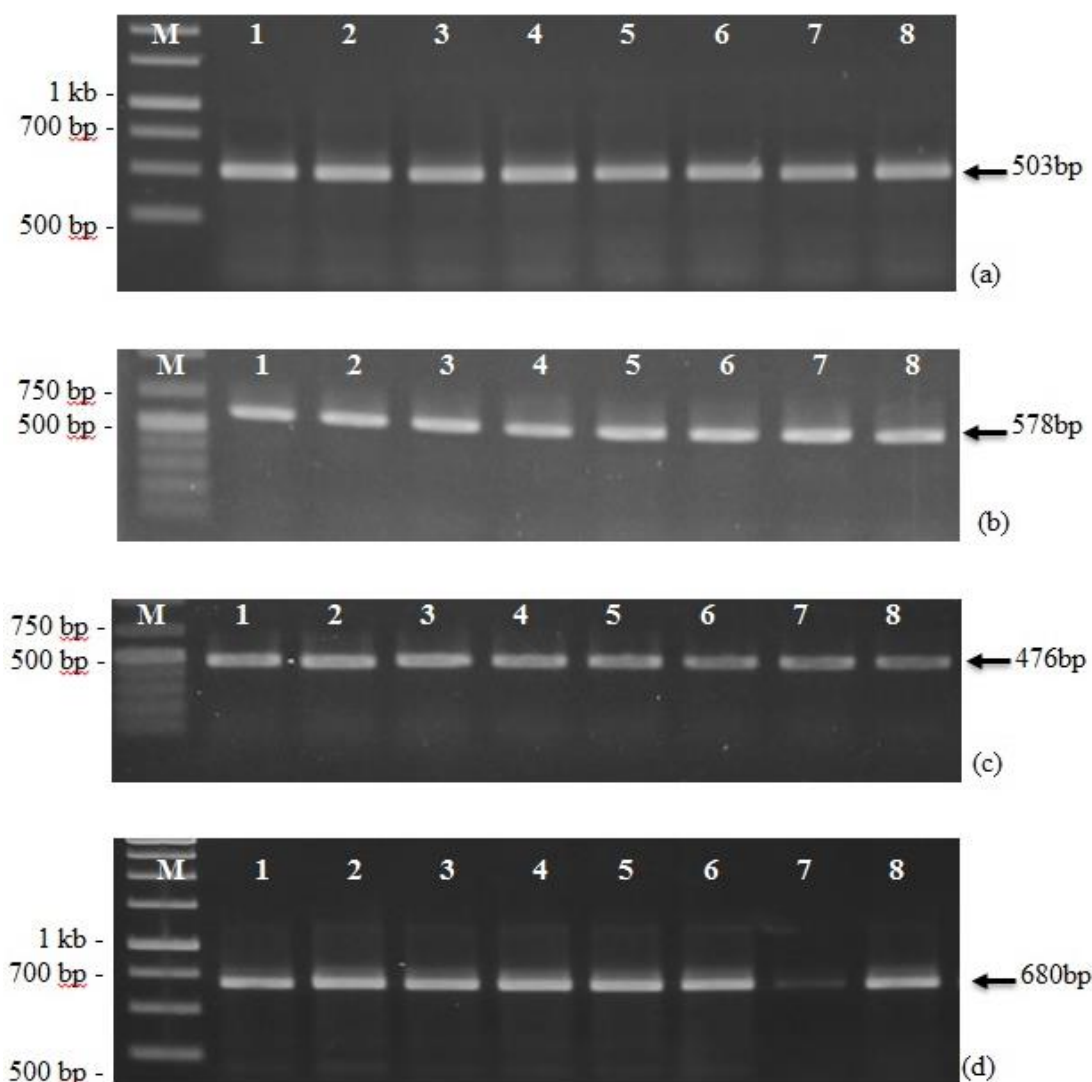


Hình 2. Điện di đồ sản phẩm tách chiết DNA tổng số

Kết quả PCR đặc hiệu và giải trình tự các vùng gen *CYP3A5*

Chúng tôi đã tiến hành phản ứng PCR để khuếch đại đặc hiệu các vùng gen *CYP3A5* mang các biến thể *3, *6, *8 và *9 trên tất cả 100 mẫu nghiên cứu. Sản phẩm PCR được kiểm tra bằng điện di trên gel Agrose 1%. Hình ảnh điện di cho thấy chúng tôi đã khuếch đại thành công trình tự đặc hiệu cho

tất cả các mẫu, kích thước băng điện di phù hợp với tính toán lý thuyết (hình 3). Sản phẩm PCR sau đó được tinh sạch để sử dụng cho các phản ứng giải trình tự tiếp theo. Chúng tôi đã giải trình tự thành công các vùng gen *CYP3A5* chứa các biến thể *3, *6, *8 và *9 trên 100 mẫu người Kinh. Tất cả các đoạn gen này đều được giải trình tự trên cả 2 chiều xuôi và ngược để xác định chính xác các biến thể quan tâm.



Hình 3. Điện di đồ sản phẩm PCR khuếch đại đặc hiệu các vùng gen *CYP3A5*, M: Thang DNA chuẩn. 1-8: Sản phẩm PCR *CYP3A5**3 (a), *6 (b), *8(c) và *9 (d) các mẫu

Kết quả tổng hợp tần số alen và tần số kiểu gen *CYP3A5*

Đối với biến thể *3, 90% số người trong nghiên cứu mang ít nhất một alen biến thể

CYP3A5*3 (*1/*3 và *3/*3, n=90) trong khi đó chỉ 10% (n=10) số người mang kiểu gen đồng hợp tử kiểu dại CYP3A5*1/*1. Trong số những người mang alen *3, 50% có kiểu gen dị hợp tử với alen kiểu dại (n=45/90). Theo đó tần số alen kiểu dại CYP3A5*1 được xác định là 32,5% còn tần số biến thể alen CYP3A5*3 (6986A>G) là 67,5%; khoảng tin cậy 95% cho

tần số alen *3 là 61–74%. Với tần số kiểu gen/alen như vậy, quần thể nghiên cứu xấp xỉ đạt trạng thái cân bằng Hardy-Weinberg ($\chi^2=0,0331$; $p=0,9677$). Trong 100 mẫu nghiên cứu, không có mẫu nào được xác định là mang các biến thể còn lại bao gồm *6, *8 và *9. Kết quả được hiển thị trong bảng 2.

Bảng 2. Tần số alen CYP3A5*3 và kiểu gen trên người Kinh Việt Nam

Tần số	Kiểu gen (n = 100)			Alen (n _a = 200)	
	*1/*1	*1/*3	*3/*3	*1	*3
Nghiên cứu này	10 (10%)	45 (45%)	45 (45%)	65 (32,5%)	135 (67,5%)
Hardy-Weinberg	10,56%	43,88%	45,56%		
	$\chi^2=0,0331$; $p=0,9677$				

So sánh tần số alen CYP3A5*3 ở người Kinh với các quần thể khác trên thế giới

Khi so sánh với các quần thể khác trên thế giới, tần số biến thể CYP3A5*3 ở quần thể người Kinh trong nghiên cứu của chúng tôi (67,5%) thấp hơn so với các quần thể người da trắng (92%; $\chi^2 = 148,9845$; $p<0,0001$) và cao hơn so với các quần thể người da đen (19%; $\chi^2 = 238,9066$, $p<0,0001$). Trong khu vực châu Á, tỷ lệ này không khác biệt nhiều với tần số alen CYP3A5*3 trung bình của người Nam Á (65%; $\chi^2 = 0,3932$; $p=0,6318$) và Đông Á (72%; $\chi^2 = 1,6830$; $p=0,3486$) nhưng lại thấp hơn rõ rệt so với khu vực Tây Á (90,5%; $\chi^2=64,1111$; $p<0,0001$) và người da trắng (92%; $\chi^2=148,9845$; $p<0,0001$) (bảng 3). Tỷ lệ CYP3A5*3 trong nghiên cứu này cũng không khác biệt nhiều so với trung bình của các quốc gia Đông Nam Á (64%, $\chi^2=0,7266$; $p=0,4969$). Kết quả trên hoàn toàn phù hợp với một nghiên cứu trước đó công bố về tần số CYP3A5*3 trên người Việt Nam của (Veiga et al., 2009) (66,67%; $\chi^2=0,0264$; $p=0,8588$) (bảng 3). Sự khác biệt trong phân bố của biến thể CYP3A5*3 giữa các vùng khác nhau ở châu Á và trên thế giới có thể được giải thích bằng nguyên nhân lịch sử. Thí dụ như Thổ Nhĩ Kỳ là quốc gia có lãnh thổ nằm cả ở châu Âu và Tây Á, có đường biên giới với Hy Lạp và Bungari. Iran cũng là một nước đa sắc tộc, từng trải qua các cuộc tấn

công và chiếm đóng của đế quốc Nga và Anh trong lịch sử, do đó, dân số của họ có thể mang bộ gen với nhiều nguồn gốc chủng tộc khác nhau. Bên cạnh đó, áp lực chọn lọc khác nhau ở mỗi khu vực địa lý lên mỗi biến thể di truyền cũng có thể là nguyên nhân dẫn tới sự đa dạng trong phân bố của các biến thể này.

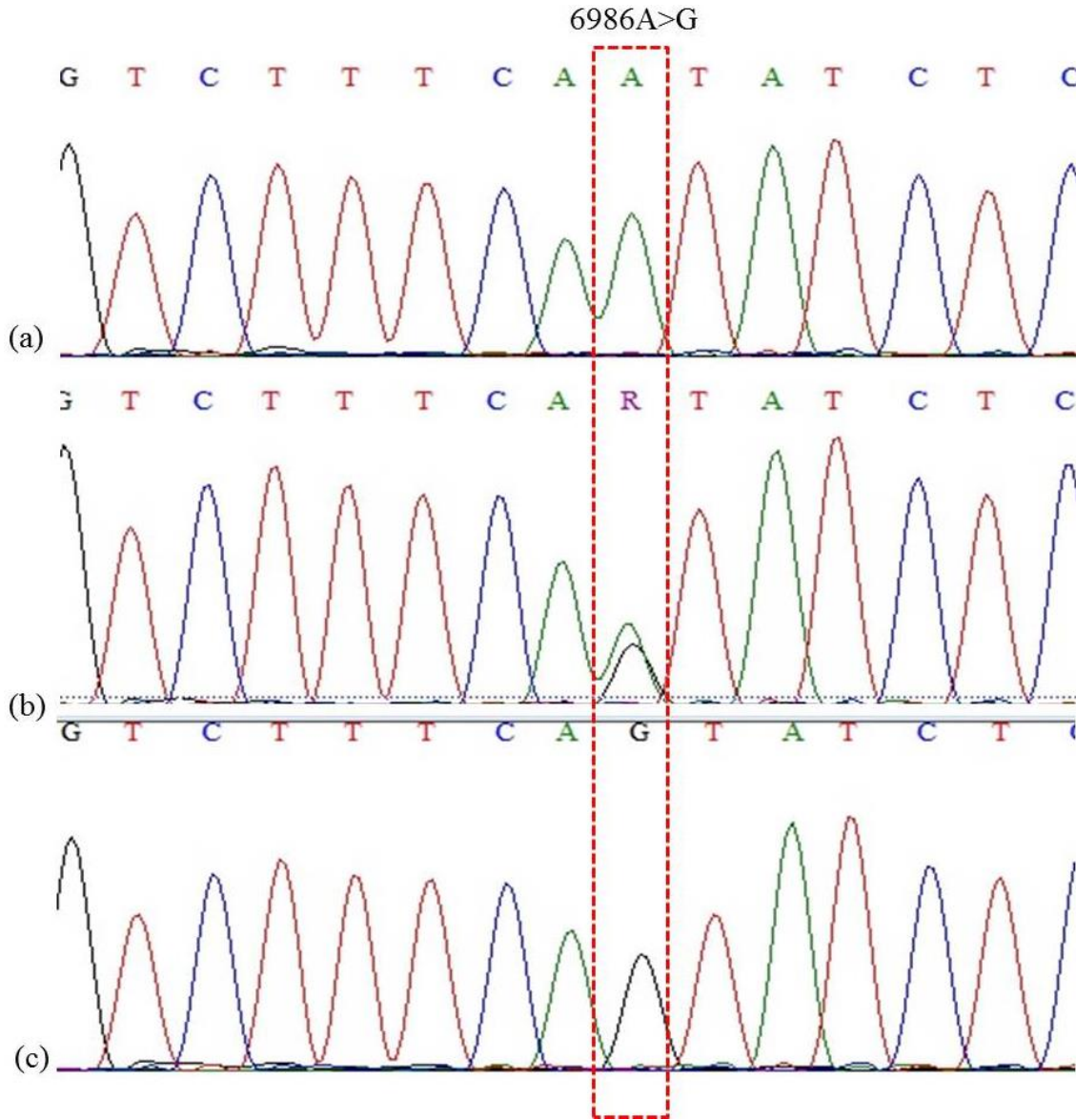
Trong lâm sàng, tacrolimus là một loại thuốc ức chế hệ miễn dịch, có chỉ số trị liệu hẹp (narrow therapeutic index-NTI), thuốc này hiện nay đang được sử dụng rộng rãi cho các bệnh nhân sau ghép tạng (thận, tim) và ghép tế bào gốc máu. Trong gan, tacrolimus được chuyển hóa bởi CYP3A4 và CYP3A5. Trong điều trị, việc quyết định liều tacrolimus khá phức tạp bởi sự khác biệt về dược động học giữa các bệnh nhân có thể dẫn tới các trường hợp: liều điều trị thấp dẫn tới tạng ghép bị loại thải, liều điều trị cao quá mức dẫn tới nguy cơ ngộ độc thuốc (cao huyết áp, ngộ độc thần kinh, ngộ độc thận, tăng đường máu). Tổ chức ứng dụng di truyền dược học trong lâm sàng (Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium-CPIC) đã có những hướng dẫn căn bản trong việc sử dụng loại thuốc này đối với từng kiểu hình chuyển hóa thuốc ở các cá nhân. Trong đó, bệnh nhân mang kiểu gen CYP3A5*1/*1 (chuyển hóa thuốc bình thường) và CYP3A5*1/*3 (chuyển hóa thuốc trung bình) cần sử dụng liều tacrolimus cao hơn 1,5–2 lần so với liều

chuẩn. Trong khi đó các bệnh nhân mang kiểu gen *CYP3A5*3/*3* (chuyển hóa thuốc yếu) có thể sử dụng liều tacrolimus theo như khuyến cáo thông thường (Birdwell et al., 2015). Với 50% số cá thể nghiên cứu mang biến thể *3 có

kiểu gen dị hợp tử *CYP3A5*1/*3*, nghiên cứu này cho thấy tầm quan trọng của việc khai thác thông tin đa hình gen nhằm đưa ra liệu pháp sử dụng thuốc hiệu quả đối với từng bệnh nhân.

Bảng 3. So sánh tần số các alen của *CYP3A5*3* trên thế giới

Khu vực	n	Tần số *3	95%CI	Tham khảo	
Việt Nam-Nghiên cứu của chúng tôi	100	67,5%	61–74%		
Đông Á	Trung Quốc	451	70%	67–73%	(Liu et al., 2005)
	Nhật Bản	265	74%	70–78%	(Hiratsuka et al., 2002)
	Hàn Quốc	104	74%	68–80%	(Lim et al., 2014)
	Tổng	820	72%	70–74%	
$\chi^2=1,6830$; $p=0,3486$					
Nam Á	Ấn Độ	544	64%	61–66%	(Krishnakumar et al., 2012)
	Nepan	200	70%	66–74%	(Hassan et al., 2013)
	Tổng	744	65%	63–68%	
$\chi^2=0,3932$; $p=0,6318$					
Đông Nam Á	Thái Lan	150	65%	60–70%	(Veerakikosol et al., 2016)
	Malaysia	101	61%	55–68%	(Ankathil et al., 2014)
	Campuchia	124	64,5%	59–70%	(Hodel et al., 2013)
	Việt Nam	72	67%	59–74%	(Veiga et al., 2009)
	Tổng	447	64%	61–67%	
$\chi^2=0,7266$; $p=0,4969$					
Tây Á	Thổ Nhĩ Kỳ	115	92%	88–95%	(Kayilioğlu et al., 2017)
	Iran	112	83%	78–88%	(Azarpira et al., 2010)
	Iraq	100	98%	96–100%	(Hamzah et al., 2018)
	Tổng	327	90,5%	88–93%	
$\chi^2=64,1111$; $p<0,0001$					
Da đen	Mỹ-Phi	146	27%	22–33%	(Bhatnagar et al., 2009)
	Nigeria	179	16%	12–20%	(Adehin et al., 2016)
	Gambian	288	21%	18–24%	(Wojnowski et al., 2004)
	Nam Phi	320	14,5%	12–17%	(Dandara et al., 2005)
	Tổng	933	19%	17–21%	
$\chi^2=238,9066$; $p<0,0001$					
Da trắng	Mỹ	834	91%	90–93%	(Plummer et al., 2003)
	Âu	1210	93%	92–94%	(Dally et al., 2004)
	Tổng	2044	3779 (92%)	92–93%	
$\chi^2=48,9845$; $p < 0,0001$					
<p>n: Tổng số mẫu nghiên cứu. 95%CI: Khoảng tin cậy 95% cho tỷ lệ alen *3. Các phép thống kê kiểm định chi bình phương (χ^2) được thực hiện để so sánh giữa các quần thể với quần thể người Kinh Việt Nam trong nghiên cứu này. Độ tin cậy của các phép thống kê đều là 95%.</p>					



Hình 4. Kết quả giải trình tự Sanger của CYP3A5*3, (a) Đồng hợp tử kiểu dại CYP3A5 *1/*1 (AA), (b) Dị hợp tử CYP3A5 *1/*3 (AG), (c) Đồng hợp tử đột biến CYP3A5 *3/*3 (GG)

KẾT LUẬN

Nghiên cứu này đã xác định được tần số kiểu gen và tần số alen của các biến thể CYP3A5*3 là 67.5% trên 100 người Kinh. Alen CYP3A5*3 là biến thể phổ biến nhất trong khi đó các biến thể *6, *8 và *9 không được tìm thấy trong nghiên cứu này. Kết quả này cho thấy nên tiến hành sàng lọc CYP3A5*3 trên bệnh nhân trước khi sử dụng

các loại thuốc được chuyển hóa bởi enzyme này. Sự tồn tại của các biến thể gây ảnh hưởng tới chức năng của CYP3A5 như *6, *8 và *9 cần được làm rõ thêm trong các nghiên cứu xa hơn. Nghiên cứu của chúng tôi rất có ý nghĩa trong việc cung cấp dữ liệu về đa hình di truyền của CYP3A5, hỗ trợ làm giảm thiểu nguy cơ gặp phải các phản ứng có hại của thuốc và từ đó các bác sĩ có phương án sử dụng thuốc hiệu quả đối với mỗi bệnh nhân.

Lời cảm ơn: Công trình này được thực hiện với sự hỗ trợ kinh phí của Quý phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) cho TS. Nguyễn Hải Hà với mã số 106-YS.02-2014.30

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Adehin A., Bolaji O., Kennedy M., 2016. Polymorphisms in CYP2C8 and CYP3A5 genes in the Nigerian population. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 32(3): 189–191.
- Ankathil R., Zian A. A., Nizam Z. M., Azlan H., Baba A. A., 2014. P0223 CYP3A4* 18 and CYP3A5* 3 gene polymorphisms and imatinib resistance in Malaysian patients with chronic myeloid leukaemia. *European Journal of Cancer*, 50: e71–e72.
- Azarpira N., Namazi S., Khalili A., Tabesh M., 2010. The investigation of allele and genotype frequencies of CYP3A5 (1*/3*) and P2Y12 (T744C) in Iran. *Molecular biology reports*, 38(8): 4873–4877.
- Bhatnagar V., Garcia P. E., O'Connor T. D., Brophy V., Alcaraz J., Richard E., Bakris G., Middleton P. J., Norris K., Wright J., Hiremath L., Contreras G., Appel J. L., Lipkowitz M., 2009. CYP3A4 and CYP3A5 Polymorphisms and Blood Pressure Response to Amlodipine among African-American Men and Women with Early Hypertensive Renal Disease. *American journal of nephrology*, 31(2): 95–103.
- Birdwell K. A., Decker B., Barbarino J. M., Peterson J. F., Stein C. M., Sadee W., Wang D., Vinks A. A., He Y., Swen J. J., Leeder J. S., van Schaik R., Thummel K. E., Klein T. E., Caudle K. E., MacPhee I. A. M., 2015. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guidelines for CYP3A5 Genotype and Tacrolimus Dosing. *Clinical pharmacology and therapeutics*, 98(1): 19–24.
- Burk O., Koch I., Raucy J., Hustert E., Eichelbaum M., Brockmüller J., Zanger U., Wojnowski L., 2004. The Induction of Cytochrome P450 3A5 (CYP3A5) in the Human Liver and Intestine Is Mediated by the Xenobiotic Sensors Pregnane X Receptor (PXR) and Constitutively Activated Receptor (CAR). *Journal of Biological Chemistry* 279(37): 38379–38385.
- Dai D., Tang J., Rose R., Hodgson E., Bienstock R. J., Mohrenweiser H. W., Goldstein J. A., 2001. Identification of variants of CYP3A4 and characterization of their abilities to metabolize testosterone and chlorpyrifos. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 299(3): 825–831.
- Dally H., Bartsch H., Jäger B., Edler L., Schmezer P., Spiegelhalder B., Dienemann H., Drings P., Kayser K., Schulz V., Risch A., 2004. Genotype relationships in the CYP3A locus in Caucasians. *Cancer letters*, 207(1): 95–99.
- Dandara C., Ballo R., Parker M., 2005. CYP3A5 genotypes and risk of esophageal cancer in two South African populations. *Cancer letters*, 225(2): 275–282.
- Danielson P., 2003. The Cytochrome P450 Superfamily: Biochemistry, Evolution and Drug Metabolism in Humans. *Current Drug Metabolism*, 3(6): 561–597.
- Domanski T., Finta C., Halpert J., Zaphiropoulos G. P., 2001. cDNA cloning and initial characterization of CYP3A43, a novel human cytochrome P450. *Molecular Pharmacology*, 59(2): 386–392.
- Hamzah I., Shafi F., Al-Huda N., A H Saeed A., 2018. Study the Association of CYP3A5 Polymorphism on the Risk of Breast Cancer in Some of the Iraqi Women. *Journal of Global Pharma Technology*, 10(8): 225–235.
- Hassan R., Sadia Ameen S., Al Maruf A., Nandini A., Tabin H., Ahmed M., Islam M., Shahdaat Bin Sayeed M., Hasnat A., 2013. Genotype-phenotype variability in human CYP3A locus in Nepalese people

- residing in Bangladesh. *International journal of clinical pharmacology and therapeutics*, 51(3): 207–214.
- Hiratsuka M., Takekuma Y., Endo N., Narahara K., Ismail Hamdy S., Kishikawa Y., Matsuura M., Agatsuma Y., Inoue T., Mizugaki M., 2002. Allele and genotype frequencies of CYP2B6 and CYP3A5 in the Japanese population. *European journal of Clinical Pharmacology*, 58(6): 417–421.
- Hodel E. M. S., Csajka C., Arieu F., Guidi M., Kabanyanyi A. M., Duong S., Decosterd L. A., Olliaro P., Beck H.-P., Genton B., 2013. Effect of single nucleotide polymorphisms in cytochrome P450 isoenzyme and N-acetyltransferase 2 genes on the metabolism of artemisinin-based combination therapies in malaria patients from Cambodia and Tanzania. *Antimicrobial agents and Chemotherapy*, 57(2): 950–958.
- Josephson F., Allqvist A., Janabi M., Sayi J., Aklillu E., Jande M., Mahindi M., Burhenne J., Bottiger Y., Gustafsson L. L., Haefeli W. E., Bertilsson L., 2007. CYP3A5 genotype has an impact on the metabolism of the HIV protease inhibitor saquinavir. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 81(5): 708–712.
- Kayilioğlu H., Kocak U., Kan D., F. Percin E., Sal E., Tekkeşin F., Isik M., Oner N., Belen B., Keskin E., Okur A., Albayrak M., Kaya Z., Pinarli F., Yenicesu I., Karadeniz C., Oguz A., Gursel T., 2017. Association of CYP3A5 Expression and Vincristine Neurotoxicity in Pediatric Malignancies in Turkish Population. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*, 39(6): 458–462.
- Koch I., Weil R., Wolbold R., Brockmöller J., Hustert E., Burk O., Nuessler A., Neuhaus P., Eichelbaum M., Zanger U., 2002. Interindividual variability and tissue-specificity in the expression of cytochrome P450 3A mRNA. *Drug Metabolism and Disposition* 30(10): 1108–1114.
- Krishnakumar D., Gurusamy U., Dhandapani K., Surendiran A., Baghel R., Kukreti R., Gangadhar R., Prayaga U., Manjunath S., Adithan C., 2012. Genetic polymorphisms of drug-metabolizing phase I enzymes CYP2E1, CYP2A6 and CYP3A5 in South Indian population. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 26(2): 295–306.
- Kuehl P., Zhang J., Lin Y., Lamba J., Assem M., Schuetz J., Watkins P. B., Daly A., Wrighton S. A., Hall S. D., Maurel P., Relling M., Brimer C., Yasuda K., Venkataramanan R., Strom S., Thummel K., Boguski M. S., Schuetz E., 2001. Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nat Genet*, 27(4): 383–391.
- Lamba J., Hebert J. M., Schuetz E. G., Klein T. E., Altman R. B., 2012. PharmGKB summary: very important pharmacogene information for CYP3A5. *Pharmacogenet Genomics*, 22(7): 555–558.
- Lamba J. K., Lin Y. S., Schuetz E. G., Thummel K. E., 2002. Genetic contribution to variable human CYP3A-mediated metabolism. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54(10): 256–269.
- Langman L., van Gelder T., Schaik R., 2016. Pharmacogenomics Aspect of Immunosuppressant Therapy. *Personalized Immunosuppression in Transplantation*: 109–124.
- Lee S. J., Usmani K., Chanas B., Ghanayem B., Xi T., Hodgson E., Mohrenweiser H., Goldstein J., 2003. Genetic findings and functional studies of human CYP3A5 single nucleotide polymorphisms in different ethnic groups. *Pharmacogenetics and Genomics* 13(8): 461–472.
- Lewis F. V. D., 2004. 57 varieties: The human cytochromes P450. *Pharmacogenomics* 5(3): 305–318.
- Lim Y. J., Cha E. Y., Jung H. E., Ghim J. L., Lee S. J., Kim E. Y., Shin J. G., 2014. Genetic polymorphisms of CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4, and

- CYP3A5 in Vietnamese-Koreans. *Translational and Clinical Pharmacology* 22(2): 70–77.
- Liu C. H., Peck K., Huang J. D., Lin M. S., Wang C. H., Hsu W. P., Wang H. W., Lee H. L., Lai M. L., 2005. Screening CYP3A single nucleotide polymorphisms in a Han Chinese population with a genotyping chip. *Pharmacogenomics* 6(7): 731–747.
- Lolodi O., Wang Y., Wright W., Chen T., 2017. Differential Regulation of CYP3A4 and CYP3A5 and its Implication in Drug Discovery. *Current Drug Metabolism* 18(12): 1095–1105.
- Nebert W. D., Wikvall K., Miller L. W., 2013. Human cytochromes P450 in health and disease. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological sciences*, 368(1612): 20120431.
- Ozdemir V., Kalow W., Tang B. K., Paterson A. D., Walker S. E., Endrenyi L., Kashuba A. D. M., 2000. Evaluation of the genetic component of variability in CYP3A4 activity: A repeated drug administration method. *Pharmacogenetics and Genomics*, 10(5): 373–388.
- Plummer J. S., Conti V. D., Paris L. P., Curran A., Casey G., Witte S. J., 2003. CYP3A4 and CYP3A5 genotypes, haplotypes, and risk of prostate cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, 12(9): 928–932.
- Rahmioglu N., Heaton J., Clement G., Gill R., Surdulescu G., Zlobecka K., Hodgkiss D., Ma Y., Hider R., Smith N., R Ahmadi K., 2011. Genetic epidemiology of induced CYP3A4 activity. *Pharmacogenetics and Genomics* 21: 642–651.
- Rendic S., 2002. Summary of information on human CYP enzymes: human P450 metabolism data. *Drug Metabolism Reviews*, 34(1-2): 83–448.
- Sarasamma S., Gracious N., Nair S. S., Radhakrishnan R., 2016. Pharmacogenomics of CYP3A5 Polymorphism: Predicting Dose-adjusted Trough Levels of Tacrolimus in South Indian Renal Transplant Patients. *Journal of Pharmacogenomics and Pharmacoproteomics*, 7(3): 1–5.
- Schuetz D. J., Kauma S., Guzelian P., 1993. Identification of the fetal liver cytochrome CYP3A7 in human endometrium and placenta. *The Journal of Clinical Investigation*, 92(2): 1018–1024.
- Schuetz D. J., Beach L. D., Guzelian P., 1994. Selective expression of cytochrome P450 CYP3A mRNAs in embryonic and adult human liver. *Pharmacogenetics and Genomics*, 4(1): 11–20.
- Tateishi T., Watanabe M., Moriya H., Yamaguchi S., Sato T., Kobayashi S., 1999. No ethnic difference between Caucasian and Japanese hepatic samples in the expression frequency of CYP3A5 and CYP3A7 proteins. *Biochemical Pharmacology*, 57(8): 935–939.
- Veerakikosol K., Chariyavilaskul P., Townamchai N., Wittayalertpanya S., 2016. Association of CYP3A5 and POR polymorphisms with the maintenance tacrolimus dosage requirement in Thai recipients of kidney transplants. *Asian Biomedicine*, 10(5): 483–490.
- Veiga M. I., Asimus S., Ferreira P. E., Martins J. P., Cavaco I., Ribeiro V., Hai T. N., Petzold M. G., Björkman A., Ashton M., Gil J. P., 2009. Pharmacogenomics of CYP2A6, CYP2B6, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4, CYP3A5 and MDR1 in Vietnam. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 65(4): 355–363.
- Werk A. N., Lefeldt S., Bruckmueller H., Hemmrich-Stanisak G., Franke A., Roos M., Kuchle C., Steubl D., Schmaderer C., Brasen J. H., Heemann U., Cascorbi I., Renders L., 2014. Identification and characterization of a defective CYP3A4 genotype in a kidney transplant patient with severely diminished tacrolimus clearance. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 95(4): 416–422.

- Westlind-Johnsson A., Malmebo S., Johansson A., Otter C., Andersson T. B., Johansson I., Edwards R. J., Boobis A. R., Ingelman-Sundberg M., 2003. Comparative analysis of CYP3A expression in human liver suggests only a minor role for CYP3A5 in drug metabolism. *Drug Metabolism and Disposition* 31(6): 755–761.
- Wojnowski L., Turner P., Pedersen B., Hustert E., Brockmöller J., Mendy M., Whittle C. H., Kirk G., Wild P. C., 2004. Increased levels of aflatoxin-albumin adducts are associated with CYP3A5 polymorphisms in The Gambia, West Africa. *Pharmacogenetics and Genomics* 14(10): 691–700.
- Xie H. G., Wood A., Kim B. R., Michael Stein C., Wilkinson R. G., 2004. Genetic variability in CYP3A5 and its possible consequences. *Pharmacogenomics* 5(3): 243–272.
- Zanger U. M., Schwab M., 2013. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: Regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacology and Therapeutics* 138(1): 103–141.
- Zanger U. M., Turpeinen M., Klein K., Schwab M., 2008. Functional pharmacogenetics/genomics of human cytochromes P450 involved in drug biotransformation. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 392(6): 1093–1108.