

LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS

MEDICINOS AKADEMIJA

MEDICINOS FAKULTETAS

ŠEIMOS MEDICINOS KLINIKA

Medicinos vientisųjų studijų programos baigiamasis magistro darbas

Aktualiausių citochromų variantų dažnis sergantiesiems psichikos ligomis

Darbą atliko: Karolis Valentinas Slibinskas

Darbo vadovas: Prof. Dr. Danielius Serapinas

Kaunas

2020

TURINYS

1. SANTRAUKA	3
2. SUMMARY	5
3. PADĖKA	7
4. INTERESŲ KONFLIKTAS	7
5. ETIKOS KOMITETO LEIDIMAS	7
6. SANTRUMPOS	8
7. SĄVOKOS	9
8. ĮVADAS	10
9. DARBO TIKSLAS IR UŽDAVINIAI	12
10. LITERATŪROS APŽVALGA	13
10.1 CYP2D6 ir CYP2C19 fenotipų dažnio pasiskirstymo tyrimai Lietuvoje	13
10.2 Citochromo P 450 reikšmė psichotropinių vaistų metabolizme	14
10.3 Svarbiausių citochromų polimorfizmas	15
10.4 Pernašos baltymai	18
11. TYRIMO METODIKA	19
12. REZULTATAI	21
12.1 Greitojo ir lėtojo metabolizmo dažnis tarp psichikos ligomis sergančių pacientų.	21
12.2 Moterų ir vyrų grupių palyginimas pagal CYP genų dažnį.	22
12.3 VKORC1, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6 genetinių variantų dažnių palyginimas tarp sergančiųjų skirtingomis psichikos ligomis	24
13. REZULTATŲ APTARIMAS	27
14. IŠVADOS	29
15. LITERATŪROS SĄRAŠAS	30

1. SANTRAUKA

Autorius: Karolis Valentinas Slibinskas

Pavadinimas Aktualiausių citochromų variantų dažnis sergantiesiems psichikos ligomis.

Tyrimo tikslas: Nustatyti pacientų, sergančių psichikos ligomis, CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19, VKORC1 variantų dažnį.

Darbo uždaviniai:

1. Įvertinti greito ir lėto metabolizmo dažnį sergant psichikos ligomis.
2. Palyginti moterų ir vyrų grupes pagal CYP genų dažnį.
3. Palyginti CYP variantų dažnį tarp sergančiųjų skirtingomis psichikos ligomis

Metodai: Atlikus koduotų medicininių duomenų analizę nustatyta pacientų lytis, amžius, liga, metabolizmo tipas pagal CYP2D6, CYP2C19, CYP2C9, VKORC1. Remiantis farmakogenetinių tyrimų rezultatus ir duomenis apie amžių, lytį, ligą vertinamas greito ir lėto metabolizmo CYP dažnis sergant psichikos ligomis, palyginamos moterų ir vyrų grupes pagal CYP dažnį, taip pat nustatomas CYP variantų dažnis tarp sergančiųjų skirtingomis psichikos ligomis.

Imtis: 55 Kauno klinikų Šeimos medicinos klinikos ir Inmedica klinikos pacientai, sergantys psichikos ligomis ir elgesio sutrikimais, kuriems buvo atlikti farmakogenetiniai tyrimai dėl vaistų paskyrimo.

Tyrimo rezultatai ir išvados: Tarp tiriamųjų CYP2C19, CYP2D6, VKORC1 greitasis metabolizmo variantas nustatytas 38,2%, 3,6%, 12,7%. Lėtasis medžiagų skaidymas dėl CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, VKORC1 alelinių variacijų atitinkamai buvo nustatytas 1,8%, 7,2%, 1,8% ir 27,3% iš visų tiriamųjų.

Moterų grupėje dažniausiai pasireiškė normalaus intensyvumo CYP2C19 (45,5%), CYP2C9 (51,5%) ir CYP2D6 (87,9%) genetinis variantas. Šioje grupėje CYP2C19 ultra – greitųjų ir lėtųjų metabolizuotojų buvo po 3,0%. Moterų grupėje greitųjų CYP2C19 metabolizuotojų buvo 30,3%. Tarpinis CYP2C9 metabolizmo variantas nustatytas 42,4% pacienčių. Lėtųjų ar ultra – greitųjų metabolizuotojų pagal CYP2D6 variantą buvo 3,0% ir 6,1%.

Vyrų grupėje normalaus intensyvumo CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6 genetinis variantas atitinkamai sudarė 40,9%, 50%, 81,8%. Greitojo CYP2C19 metabolizmo variantas nustatytas 40,9% atvejų. Tarpinis

CYP2C9 metabolizmo tipas nustatytas 40,9%, o CYP2D6 - 13,6%. CYP2C9 lėtųjų metabolizuotojų buvo 9,1%. Lėtųjų ar ultra – greitųjų CYP2D6 metabolizuotojų nenustatyta nei vienam iš tiriamųjų.

Tyrimo metu nustatyta, kad 81,8% sergančiųjų depresija ir bipoliniu sutrikimu turėjo normalus intensyvumo CYP2D6 genetinį variantą. Lėtųjų, tarpinio intensyvumo, greitųjų ir ultra – greitųjų metabolizmo variantų nustatyta po 4,5% . CYP2C9 tarpinio intensyvumo metabolizmas nustatytas 54,5% pacientų. CYP2C19 normalaus intensyvumo metabolizmas pasireiškė 40,9% pacientų, o lėtasis - 4,5%.

Šizoafektiniu sutrikimu sirgusių pacientų grupėje tarp CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6 dažniausiai pasireiškė normalaus intensyvumo metabolizmas, atitinkamai sudarydamas po 23,1%, 76,9%, ir 76,9 % visų atvejų. Ultra - greitieji metabolizuotojai sudarė po 7,7% visų CYP2C19 ir CYP2D6 variantų. CYP2C19 ir CYP2D6 greitojo metabolizmo fenotipai sudarė atitinkamai 23,1% ir 7,7%. Lėtojo metabolizmo variantų nenustatyta nei vienam iš tiriamųjų.

Kitomis ligomis sergančiųjų grupėje neaptikta nei vieno atvejo kai CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 priklausytų lėtojo arba ultra – greitojo metabolizmo variantui. Tarp šių trijų fermentų didžiąją dalį sudarė normalaus intensyvumo metabolizmo variantas (CYP2D6 – 95,0%, CYP2C9 – 60,0%, CYP2C19 – 45,0%). Tarpinio intensyvumo metabolizmas buvo nustatytas 5,0% CYP2D6, 5,0% CYP2C19 ir 40,0% CYP2C9 visų tirtų atvejų.

2. SUMMARY

Author: Karolis Valentinas Slibinskas

Title: Frequency of the most relevant cytochrome variants in patients with psychiatric disorders.

Aim of the study: To determine the frequency of CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19, VKORC1 variants among the patients with psychiatric disorders.

Objectives:

1. To evaluate the frequency of rapid and slow metabolism in a patient with mental illnesses.
2. To compare women and men by the frequency of CYP's genes.
3. To compare the frequency of CYP variants among patients with different mental illnesses

Methods: After analysis of coded medical data it was determined sex, age, disease, type of metabolism in CYP2D6, CYP2C19, CYP2C9 and VKORC1. Based on the results of pharmacogenetic studies and data of age, sex, disease, the rates of CYP metabolism in fast and slow metabolizers are assessed, the groups of women and men are compared by CYP frequency, and the frequency of CYP variants in patients with different mental illnesses is determined.

Study participants: Fifty-five patients with mental illnesses and behavior disorders at Family Medicine and Inmedica Clinics, for whom pharmacogenetic studies were performed due to prescription of drugs.

Results and conclusions:

Among the patients, CYP2C19, CYP2D6, VKORC1 rapid metabolism was found in 38.2%, 3.6% and 12.7% respectively. Slow degradation due to allelic variations of CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6 and VKORC1 was respectively observed in 1.8%, 7.2%, 1.8% and 27.3% of all subjects.

In the female group, normal-intensity CYP2C19 (45.5%), CYP2C9 (51.5%) and CYP2D6 (87.9%) genetic variants were the most common. In this group, 3.0% were CYP2C19 ultra-fast and poor, while 30.3% were rapid CYP2C19 metabolizers. An intermediate variant of CYP2C9 metabolism was identified in 42.4% of female patients. There were 3.0% of poor and 6.1% of ultra-rapid CYP2D6 variants among this group. In the male group, the normal-intensity genetic variant of CYP2C19, CYP2C9 and CYP2D6 were 40.9%, 50.0%, and 81.9% respectively. A variant of rapid CYP2C19 metabolism was identified in 40.9%

of cases. The intermediate type of CYP2C9 metabolism was found in 41% of the patients. Nine percent were CYP2C9 poor metabolizers. No poor or ultra-fast metabolizers of CYP2D6 were identified in any of the male subjects.

In this study it was found that 81.8% of the patients with depression and bipolar disorder had a normal intensity genetic variant of CYP2D6. Slow, intermediate intensity, fast and ultra - fast metabolism variants were each found in 4.5% of patients. CYP2C9 intermediate - intensity metabolism was observed in 54.5% of patients. Normal metabolism of CYP2C19 occurred in 40.9% of patients and slow metabolism in 4.5%. In the schizoaffective disorder group, normal - intensity metabolism was the most common: CYP2C19 – 23.1%, CYP2C9 – 76.9%, CYP2D6 – 76.9%. Ultra-fast metabolism CYP2C19 and CYP2D6 were both found in 7.7% of the investigated group. The CYP2C19 and CYP2D6 rapid metabolism phenotypes were 23.1% and 7.7%. No slow metabolism variants were identified in any of the subjects. No cases of CYP2D6, CYP2C9 and CYP2C19 in the slow or ultra-fast metabolism variant were observed in the group of patients with other diseases. Among these three enzymes, the normal type of metabolism accounted for the majority (CYP2D6 95.0%, CYP2C9 60.0%, CYP2C19 45.0%). Intermediate metabolism was observed in 5.0% of CYP2D6, 5.0% of CYP2C19 and 40.0% of CYP2C9.

3. PADĖKA

Dėkoju baigiamojo magistro darbo vadovui prof. dr. Danieliui Serapinui už pagalbą, skirtą laiką ir padėsinimą.

4. INTERESŲ KONFLIKTAS

Interesų konflikto nebuvo.

5. ETIKOS KOMITETO LEIDIMAS

Baigiamasis magistro darbas atliktas gavus Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Bioetikos centro leidimą BEC-MF-307.

6. SANTRUMPOS

PSO – Pasaulinė sveikatos organizacija

LSMUL KK – Lietuvos sveikatos mokslų universiteto ligoninė Kauno klinikos

UM (*Ultra-rapid metabolizers*) – ultra-greitieji metabolizuotojai

RM (*Rapid metabolizers*) – greitieji metabolizuotojai

NM (*Normal Metabolizers*) – normalaus intensyvumo metabolizuotojai

IM (*Intermediate metabolizers*) – vidutinio intensyvumo metabolizuotojai

PM (*Poor metabolizers*) – lėtieji metabolizuotojai

7. SAŲVOKOS

Farmakogenetika – tai klinikinės farmakologijos sritis, nagrinėjanti genotipo ir fenotipo įtaką vaistų poveikiui ir farmakokinetikai organizme.

Farmakogenomika – tiria viso žmogaus genomo įtaką į atsaką į farmakoterapiją.

Aleliniai genai - skirtingos to paties geno formos, lemiančios alternatyvias to paties požymio išraiškas.

Polimorfizmas - gebėjimas turėti kelias formas tam pačiam turiniui reikšti.

8. ĮVADAS

Dabartinėje visuomenėje vis dažniau pasitaiko psichikos sutrikimų. Pasaulinės sveikatos organizacijos (PSO) duomenimis 2017 metais Jungtinėse Amerikos Valstijose sergančiųjų psichikos ligomis, įskaitant nerimo sutrikimus, šizofreniją, depresiją, bipolinį sutrikimą ir kitus, serga 46,6 milijonai gyventojų [1]. Pasauliniu mastu manoma, kad psichinių sutrikimų turi kas 4-5 žmogus. Lietuvoje, remiantis Valstybinės psichikos sveikatos centro duomenimis, sergamumas siekia 35,2 ligonius tūkstančiui gyventojų [15], todėl yra labai svarbu sudaryti individualų gydymo planą, kuris būtų efektyviausias konkrečiam pacientui. Šis tikslas ir yra vienas iš svarbiausių šiuolaikinės klinikinės psichiatrijos mokslo uždavinių, nes kenčiantiems nuo psichikos sutrikimų tenka naudoti vaistus, kurie dažnai sukelia neigiamus šalutinius poveikius. Tai rodo ir medicininė statistika: net 40–70% atvejų medikamentinis gydymas psichotropiniais vaistais yra nepakankamai efektyvus, 7% ligonių patiria sunkių gydymo šalutinių poveikių, o JAV atliktos metaanalizės duomenimis, dėl vaistų šalutinio poveikio kasmet miršta apie 100 000 pacientų [8].

Deja ir dabar dažnai taikomas empirinis gydymas, kai skiriant psichotropinius preparatus neatsižvelgiama į individualias paciento savybes. Dėl skirtingų genotipo variacijų fermento veiklumas – kartu ir vaisto koncentracija kraujo plazmoje – gali skirtis ne vieną dešimtį, o dažnai net ir šimtus kartų. Išvengti bandymų ir klaidų klinikinėje praktikoje padeda farmakogenetiniai tyrimai. Jų pagalba yra atsakomi klausimai apie medikamentų individualų tinkamumą, galimą sąveiką su kitais vaistais bei dozės parinkimą.

Pirmieji farmakogenetiniai tyrimai buvo pradėti taikyti apie XX a. 30 – uosius metus. Tuo metu medicinoje psichofarmakoterapija faktiškai neegzistavo. Pirmieji antipsichotikai ir antidepresantai, tokie kaip chlorpromazinas, neselektyvūs monoaminooksidazių inhibitoriai ir tricikliai antidepresantai, buvo atrasti tik apie 1950 metus [3]. Didelis farmakogenetikos moksle indėlis buvo W. Kalow'o darbai, kuriuose jis pirmasis nustatė ryšį tarp nepageidautinos reakcijos į vaistinius preparatus ir fermento, kuris atsakingas už vaisto metabolizmą, geno mutacijos. 1962 metai jis parašė pirmąją farmakogenetikos knygą. 1957 Arno Motulsky patobulino Gorrod ir Oxon idėjas, pareiškęs, kad individualūs vaistų efektyvumo ir šalutinių reiškinių atsiradimo skirtumai pasireiškia dėl genetinių variacijų [10]. Netrukus, 1959 m., šiai naujai mokslo šakai Vogel įvedė terminą farmakogenetika [4], kuri šiandien išgyvena pakilimo laikotarpį ir suteikia daug vilčių padidinti ligonių gydymo efektyvumą bei sumažinanti neigiamų padarinių galimybę.

Nuo XX a. 7-ojo dešimtmečio pradėti farmakogenetiniai tyrimai ir psichiatrijos srityje. Ypač svarbus pasiekimas yra tai, kad buvo nustatytas fermentų, įeinančių į citochromų sistemą, koduojančių genu

polimorfizmas. Genetiniu polimorfizmu yra laikomas normos variantas, kai specifinė DNR sekos dalis pasireiškia bent 1% konkrečios populiacijos atstovų, jei šis dažnis neviršina 1% ribos, tai toks genetinis variantas laikomas mutacija [55]. Pati CYP 450 sistema yra atsakinga už daugelio į organizmą patenkančių medžiagų, tame tarpe ir vaistų, biotransformaciją. CYP2 šeimos izofermentai metabolizuoja didžiausią centrinę nervų sistemą veikiančių vaistų dalį, tokią kaip: antidepresantai, antipsichotiniai vaistai, ji taip pat metabolizuoja alkoholį, amfetaminą, dopaminą ar seratoniną [29]. Citochromų sistemos atstovai yra hemoproteinai, kurių didžiausios sankaupos randamos kepenyse, jų taip pat yra randama ir visose kitose žinduolių ląstelėse, išskyrus subrendusius eritrocitus ir griaučių raumenų ląsteles [52].

Daugelis vaistų yra metabolizuojami citochromų CYP2D6 ir CYP2C19 (pvz., Nortriptilinas, Imipraminas, Omeprazolis, Haloperidolis, Tioridazinas, Metaprololis, Kodeinas ir kiti) Ištirta, kad šie citochromai pasižymi genetiniu polimorfizmu, kuris yra paveldimas autosominiu recesyviniu būdu [5]. Homozigotinis abiejų pakitusių alelių, kurie koduoja funkciškai neaktyvų citochromą, paveldėjimas lemia lėtąjį metabolizmą (LM), o paveldėjus bent vieną nepakitusį alelį dažnu atveju lemiamas tarpinis arba normalaus intensyvumo metabolizmas (NM) [6]. Dažniausi LM lemiantys CYP2D6 geno aleliai yra CYP2D6*3 ir CYP2D6*4 [7]. CYP2C19*17 alelis kombinacijoje su CYP2C19*1 lemia greitojo metabolizmo variantą. Tuo tarpu ultra greitajam metabolizmui (UM) CYP2D6 būdingas CYP2D6*2 alelių dublikacija arba homozigotinis greitojo alelio variantas [6].

Nuo 2000 metų klinikinėje praktikoje pradėta naudoti farmakogenetiniai testai, dėl mažiausios ir efektyviausios vaisto koncentracijos parinkimo. Ir tuo pačiu prasidėjo sparti naujų citochromo genų ir jų mutacijų paieška, kuriami nauji testai ir skiriamas vis didesnis dėmesys individualizuotai medicinai.

Šio darbo tikslas yra remiantis testų rezultatais, suskirstyti pacientus į greitojo, lėtojo ir normalaus metabolizmo grupes, šias grupes palyginti tarpusavyje pagal metabolizmo tipą, amžių, lytį, ligas, ir apibendrinti tyrimo rezultatus.

9. DARBO TIKSLAS IR UŽDAVINIAI

Darbo tikslas: Nustatyti pacientų, sergančių psichikos ligomis, CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19, VKORC1 variantų dažnį.

Darbo uždaviniai:

1. Įvertinti greito ir lėto metabolizmo dažnį sergant psichikos ligomis.
2. Palyginti moterų ir vyrų grupes pagal CYP genų dažnį.
3. Palyginti CYP variantų dažnį tarp sergančiųjų skirtingomis psichikos ligomis

10. LITERATŪROS APŽVALGA

10.1 CYP2D6 ir CYP2C19 fenotipų dažnio pasiskirstymo tyrimai Lietuvoje

Pirmasis farmakogenetinis Lietuvos gyventojų tyrimas, kurio metu nustatytas daugelio vaistų metabolizmui svarbių citochromų CYP2D6 ir CYP2C19 fenotipas ir genotipas [11] buvo atliktas Vilniaus universitete.

Tiriamųjų CYP2D6 fenotipas buvo nustatytas pagal debrizokvino ir 4-hidoksidebrizokvino santykį šlapime skystinės chromatografijos būdu [11]. CYP2C19 fenotipas nustatytas pagal S-mefenitoino ir R-mefenitoino santykį šlapime masės spektrometrijos – dujinės chromatografijos būdu [11]. Ištirtas 150 negiminingų savanorių, iš jų 62 vyrai ir 88 moterys, kurių amžius nuo 18 iki 50 metų [11].

Debrizokvino ir S-mefenitoino metabolizmo fenotipui įvertinti savanoriams vakare buvo duota išgerti po 10 mg debrizokvino ir 100 mg S-mefenitoino [11]. Padarius kraujo ir šlapimo tyrimus ištirtas fenotipų pasiskirstymas ir jų koreliacija su genotipais. Išanalizuota rizikingų alelių įtaka NM fenotipui, nustatytas LM ir NM fenotipus lėmę aleliai, jų dažnis tirtoje grupėje [11]. Ištirtas visų 150 probandų CYP2D6 genotipas: dešimčiai iš vienuolikos, kurie fenotipiškai buvo LM, rastos abu matavę aleliai (CYP2D6*4/ CYP2D6*4), vienos fenotipiškai LM probando genotipe nei CYP2D6*3, nei CYP2D6*4 nerasta. Visi NM genotipiškai buvo arba homozigotai pagal CYP2D6*1 arba heterozigotai pagal CYP2D6*3/ CYP2D6*1 arba CYP2D6*4/ CYP2D6*1 [11].

Ištirus visus 150 probandų genotipus, fenotipiškai LM aptikti abu matavę aleliai (CYP2C19*2/ CYP2C19*2). Fenotipiškai NM genotipai buvo tokie: CYP2C19*1/ CYP2C19*1 arba CYP2C19*2/ CYP2C19*1.

Apibendrinant šį straipsnį galima būtų teigti, kad Lietuvos gyventojai skirtingai metabolizuoja debrizokviną ir S-mefenitoiną, priklausomai nuo genetiškai paveldėto CYP2D6 ir CYP2C19 aktyvumo, o šalutinis CYP2D6 poveikis tikėtinas maždaug 7%, CYP2C19 – 2% Lietuvos gyventojų [11].

Prof. A. Germanavičius yra vienas pirmųjų Lietuvoje pradėjo farmakogenetinių tyrimų rezultatus naudoti klinikinėje psichoterapijoje. Pirmieji jo pacientų mėginiai buvo pasiūsti ištirti į JAV. O gauti rezultatai buvo sėkmingai pritaikyti praktikoje. Tai dar kartą patvirtina, koks didelis yra farmakogenetinių tyrimų vaidmuo siekiant išvengti sunkių pašalinių poveikių gydant psichotropiniais vaistais. Norint gerai

suprasti genetinių polimorfizmų įtaką vaistų metabolizmui svarbu žinoti dažniausiai psichiatrijoje vaistų grupių ir joms priklausančių vaistų, turinčių genetinius biožymenis, pagal FDA, farmakokinetikos ir farmakodinamikos svarbą farmakogenomikai. [12]

2016-ais metais leidinyje „Laboratorinė medicina“ buvo aprašyta retrospektyvi klinikinių atvejų analizė: Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikų Neurologijos centro Psichiatrijos skyriaus archyvo genetiniam tyrimui buvo atrinkti 5 pacientai [13], kurie sunkiai pasidavė įprastiniam gydymui. Iš penkių pacientų keturiems nustatyti reikšmingi CYP 2D19 fermento alelių polimorfizmai [13]. Nors tyrimas ir padėjo patikslinti gydymą, tačiau pilno atsakymo dėl neefektyvaus gydymo priežasčių nedavė. Tai rodo, kad Lietuvoje, kaip ir visame pasaulyje, tuo metu dar trūko platesnių farmakogenetinių tyrinėjimų.

Nors Lietuvos mokslininkų psichofarmakogenetiniai tyrinėjimai sudaro palyginus nedidelę dalį visų mokslinių darbų, tačiau tai sudaro galimybę siekti pacientų gydymo individualizavimo ir geresnių gydymo rezultatų.

Unikalumą ir skirtingą atsaką į gydymą lemia skirtingas kiekvieno žmogaus genetinis kodas [14], kurio raktas buvo iššifruotas prieš penkerius metus. Asmeniui pritaikyta medicina yra genetikos amžiaus išradimas [2].

Šiuo metu medicininėje praktikoje jau yra vykdomas pacientų farmakogenetiniai tyrimai iš veninio kraujo ėminio. Iš paciento kraujo išskiriama DNR ir atliekama jos genetinė analizė: polimerazės grandininės reakcijos (PGR) ir mikrogardelių metodu pagrįstas genotipo identifikavimas [14].

10.2 Citochromo P 450 reikšmė psichotropinių vaistų metabolizme

CYP450 tai fermentinė sistema, kurios didžiausias izofermentų kiekis sutelktas kepenų ląstelių endoplazminiame tinkle, antinksčių ir lytinių liaukų ląstelių mitochondrijose [16]. Žmogaus organizme citochromo sistema klasifikuojama į 18 šeimų ir 57 pošeimius [29]. Ši sistema daro didelę įtaką vaistų metabolizme, nuo ko priklauso vaistinio preparato koncentracija kraujo plazmoje ir, tuo pačiu, jo efektyvumas bei nepageidaujamos reakcijos. CYP1, CYP2 ir CYP3 metabolizuoja ksenobiotikus, tokius kaip vaistai ir kitos medžiagos, patenkančios į organizmą iš aplinkos, taip pat endogeninius substratus [29]. CYP2 šeima metabolizuoja didžiausią centrinę nervų sistemą veikiančių vaistų dalį, tokią kaip:

antidepressantai, antipsichotiniai vaistai, ji taip pat metabolizuoja alkoholį, amfetaminą, dopaminą ar seratoniną [29].

Skaičius, esantis po priešdėlio CYP, rodo šeimą. Tos pačios fermentų šeimos amino rūgščių seka daugiau nei 40% yra identiška. Raidė, esanti po skaičiaus, rodo fermento pošeimį. Pošeimio narių amino seka sutampa daugiau nei 55%. Paskutinis skaičius žymi patį fermentą [17]. Izofermentai CYP1A2, CYP2B6, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1, CYP3A4 daugiausiai dalyvauja vaistų metabolizme [17], o konkreti vaisto koncentracija priklausys nuo to, ar fermentas slopinamas ar, kaip tik - aktyvinamas. Atsižvelgiant į fermentų aktyvumą išskiriami keturi pagrindiniai metabolizmo tipai: lėtieji metabolizuotojai – visiškai neturės metabolizuojančio fermento aktyvumo (du pakitę aleliai); tarpiniai metabolizuotojai – vienas alelis bus neaktyvus, o kitas aktyvus, arba turės du alelius, kurie koduoja mažesnio aktyvumo fermentą; normalaus intensyvumo metabolizuotojai – abu aleliai yra funkcionalūs, greitieji arba ultra greitai metabolizuotojai turės alelius didinančius fermento aktyvumą [18]. Prieš skiriant vaistinius preparatus aktualu žinoti, kokio tipo metabolizmas būdingas pacientui. Šiuo metu dažniausiai vartojami psichotropiniai vaistai jau turi specifines dozavimo rekomendacijas. Apie konkrečių vaistų metabolizmą, genotipo ir fenotipo santykį dozavimo rekomendacija, genų ir vaistų sąryšį galima sužinoti www.pharmgkb.org puslapyje, kuris parengtas kaip duomenų bazė šiuo metu iširtiems vaistams su genetiniai žymenimi aprašyti [19].

10.3 Svarbiausių citochromų polimorfizmas

CYP2C19 metabolizuoja daugelį klinikinėje praktikoje naudojamų vaistų (Amitriptyliną, Citalopramą, Diazepamą, Escitalopramą, Sertraliną [22] ir kitus. Šis fermentas turi apie 25 skirtingus variantus, kurie pasižymi skirtingomis fenotipinėmis savybėmis (pvz.: *2–*9 lems neaktyvų fermentą, o *17 – didesnę fermento aktyvumą) [20]. Pagal tai pacientus galima suskirstyti į grupes: greitieji metabolizuotojai (RM; CYP2C19*1/*17), normalaus intensyvumo metabolizuotojai (NM; CYP2C19*1/*1), vidutinio intensyvumo metabolizuotojai (IM; CYP2C19*1/*2, CYP2C19*1/*3, ir CYP2C19*2/*17), ir lėtieji metabolizuotojai (PM; CYP2C19*2/*2, CYP2C19*2/*3, ir CYP2C19*3/*3) [21]. Tarpusavyje lyginant Europos šalis, CYP2C19*2 dažniausiai nustatomas Kipre (21%), Maltoje (19%), Suomijoje (17.5%), Vokietijoje (17.7%), Lenkijoje (16.2%), Estijoje (13,5%), Čekijoje (8%) [23].

Tuo tarpu CYP2C19*17 dažniausiai nustatomas Slovakijoje (33%), Lenkijoje (29.8%), Čekijos respublikoje (29%) [23].

CYP2C9 gausiausias atstovas tarp visų CYP2C šeimos narių [25]. Jis sudaro apie 50% visų šio pošeimio baltymų [25]. Fermentą koduojantis genas lokalizuotas 10 – osios chromosomos ilgajame petyje, o koduojamas baltymas sudarytas iš 490 amino rūgščių [24]. CYP2C9 yra atsakingas už Amitriptilino, Celecoksibo, Fluoksetino, Fluvastatino, Diazepamo, Piroksikamo, Ibuprofeno, Fenobarbitalio, Domperidono, Varfarino [26] ir kitų vaistų metabolizmą. Tokie vaistiniai preparatai kaip Amiodaronas, Flukanazolis, Isoniazidas, Paroksetinas, Sertralinas gali slopinti fermento aktyvumą, o Rifampicinas – skatinti [26]. Yra nustatyti 67 skirtingi aleliniai variantai [28], tačiau tarp europiečių svarbiausi 3 geno aleliai: CYP2C9*1(wt), *2 (rs1799853) ir *3 (rs1057910), dviejų pastarųjų dažnis populiacijoje atitinkamai siekia 15% ir 8%. [27]. Skirtingas alelių variantas apsprendžia skirtingą fermento katalizinę poveikį. CYP2C9*3 turi stipresnę farmakokinetinį poveikį nei CYP2C9*2 [28], bet visi trys genetiniai variantai prismauso lėtųjų metabolizuotojų grupei.

CYP2D6 sudaro 2-5% visų CYP fermentų kepenyse [30]. Mažais kiekiais jo taip pat galima rasti plaučiuose, širdyje ar smegenyse. Nors šis izofermentas sudaro mažą procentinę dalį tarp visų citochromo sistemos atstovų, tačiau dalyvauja net 25% klinikinėje praktikoje naudojamų vaistų [31], tokių kaip opioidiniai analgetikai, antiaritmikai, antipsichotikai, antidepresantai, Tamoksifenas ir β blokatoriais [32], metabolizme. Psichiatrijoje CYP2D6 svarbus Haloperidio, Olanzapino, Chlorpromazino, Triciklių antidepresantų, Citalopramo, Mirtazapino ir kitų klinikinėje praktikoje naudojamų vaistų metabolizmui. Taip pat reikia paminėti, kad tokie vaistai kaip Fluoksetinas, Sertralinas gali slopinti fermento veiklą, o Karbamazepinas, Rifampicinas, GKK – skatinti [30]. Toks didelis fermento aktyvumas priklauso nuo genetinio polimorfizmo.

Šiandieniniais duomenimis yra nustatyta per 100 CYP2D6 alelinių variantų [33]. Priklausomai nuo paveldėtų alelių, fenotipiškai skiriami keturi metabolizmo variantai: UM, EM, IM ir PM [34]. PM yra tie, kurie paveldi nulinius alelius (pvz.: CYP2D6*3 (rs35742686), CYP2D6*4 (rs3892097), CYP2D6*5 [35]). Dėl sulėtėjusio metabolizmo galimas šalutinių reakcijų į vaistą pavojus arba nepakankamas gydymo efektyvumas dėl mažos aktyvių vaisto metabolitų koncentracijos [36]. IM yra heterozigotai pagal nulinį alelį arba homozigotai pagal dalinai aktyvius alelius (pvz.: CYP2D6*9 (rs5030656), CYP2D6*10 (rs1065852), CYP2D6*41 (rs28371725) [35]), kas lemia sumažėjusį fermento aktyvumą [36]. Vidutiniai metabolizuotojai paveldi vieną dalinai aktyvų alelį ir vieną normalaus aktyvumo alelį arba du mažesnio aktyvumo alelius [36]. UM turi daugiau nei dvi geno kopijas.

Taip pat reikia paminėti, kad skirtingose regionuose CYP2D6 genetinių variantų dažniai skiriasi. Pavyzdžiui lėtojo metabolizmo CYP2D6*4 genetinis variantas dažniausiai nustatytas Farerų salose (33,4%), tuo tarpu, Turkijoje - tik jis aptinkamas 13.2% žmonių. Švedijoje šis dažnis siekia 19.2%, Norvegijoje 22%, Estijoje 16.7% [23]. Kitas lėtojo metabolizmo genetinis variantas CYP2D6*5, dažniausias Norvegijoje (6%), Danijoje (5.9%), ir Švedijoje (4.1%), tuo tarpu Centrinėje Europoje nustatoma mažiau kaip 3% [23] gyventojų. CYP2D6*3 dažnis tarp Europos šalių svyruoja nuo 0% iki 2% [23]. CYP2D6*1×N ir CYP2D6*2×N genetiniai variantai lemia greitąjį metabolizmą. Šie du genotipai dažniausiai nustatomi Graikijoje (6%), Turkijoje (5.6%), Ispanijoje (3.5%), Italijoje (3%), o tokiose šalyse kaip Austrija (1.6%), Danija (0.8%), Švedija (0.5%) [23], šis greitojo metabolizmo variantas nustatomas ypač retai.

Klinikinėje praktikoje giliųjų kojų venų trombozės, plaučių embolijos profilaktikai ir gydymui, po širdies vožtuvo protezavimo ar širdies ritmo sutrikimo, siekiant užkirsti kelią kraujo krešulių formavimuisi, o taip pat jau susidariusių patekimui į galvos smegenis, vainikines ar kitas organizmo arterijas, yra labai dažnai skiriamas varfarinas. Šio vaisto dozė priklauso ne tik nuo amžiaus, svorio, lyties, rasės, rūkymo, gretutinių ligų, medikamentų tarpusavio sąveikos, bet ir nuo genetinių faktorių [40]. Vienas iš jų yra Vitamino K epoksidreduktazės I komplekso subvienetas (VKORC1) genetinis polimorfizmas.

VKORC1 yra transmembraninis endoplazminio tinklo [38], 163 amino rūgšties ilgio peptidas [37], dėl kurio veiklos susidaro vitamino K hidrokinonas, kuris savo ruožtu yra atsakingas už nuo vitamino K priklausančių keršumo faktorių aktyvumą [39]. Šį baltymą koduojantis genas lokalizuojasi 16-oje chromosomoje [38]. Pacientams turintiems promotoriaus A/A genetinį variantą yra reikalingos mažesnės varfarino dozės lyginant su heterozigotais (G/A) ar homozigotais (G/G) [56]. 2011 metais Lietuvos sveikatos mokslų universitete atliktame tyrime nustatyta, kad tarp atrinktų pacientų A/A genotipą turėjo 7,2% [56], todėl šiems pacientams buvo reikalingos mažesnės varfarino dozės lyginant su kitais tiriamaisiais. Jautrumas varfarinui taip pat susijęs ir su VKORC1 koduojančio geno pokyčiais introne [41]. Šiuo atveju TT genotipo nešiotojams reikalinga mažesnė varfarino dozė lyginant su CC genotipu, norint užtikrinti tokį patį antikoagulianto poveikį [42]. Skirtingose etninėse grupėse genotipų dažnis skiriasi. Apie 35% kaukazių turi CC genotipą, tuo tarpu tik 15% – TT genotipą [43]. Dauguma korėjiečių turi TT genotipą ir mažiau nei 1% nešioja CC genotipą [43]. Taip pat pastebėta, kad atitinkamai CC genotipo nešiotojams ir CT genotipo nešiotojams reikalingos atitinkamai 44% ir 97% didesnės varfarino dozės nei TT genotipo savininkams [43].

10.4 Pernašos baltymai

P450 sistemos atstovai yra universalieji biokatalizatoriai gyvuosiuose organizmuose, siejami su daugiau nei 20 skirtingų tipų oksidacijos reakcijų, įskaitant hidroksilinimą, epoksidinimą, dekarboksilinimą, N- ir O- dealkilinimą, nitro grupių prijungimą, papildomų ryšių tarp anglies atomų sudarymą, ar jų nutraukimą, taip pat šiai sistemai priskiriamos ir kelios redukcijos reakcijos [44]. Tačiau tai nėra vienintelis faktorius, kuris lemia medikamento poveikį organizmui. Už vaistų, jų aktyvių ir neaktyvių metabolitų pernašą į ląstelės vidų ir iš jos, yra atsakingi transportiniai baltymai. Jiems taip pat būdingas genetinis polimorfizmas, nuo kurio priklauso vaisto absorbcija, pasiskirstymas organizme, šalinimas, o taip pat ir efektyvumas bei nepageidaujamas poveikis. Skiriamos dvi pagrindinės transporterių superšeimos.

ABC (ATP-binding cassette) superšeimą koduoja 49 genai, kurie suskirstyti į 7 – is pošeimius, žymint juos nuo A iki G [46]. Šie transporteriai iš ATP hidrolizės būdu gautą energiją pagrindiniai naudoja įvairių substratų, pernašai prieš koncentracijos gradientą iš ląstelės [45]. Taip pat yra duomenų, kad ABC pernašos baltymai atsakingi už atsparumą vaistams, o genų mutacijos gali sukelti paveldimas ligas: Tangier ligą (ABCA1); Stargardt ligą, retinitis pigmentosa, su amžiumi susijusią makulos degeneraciją (ABCA4); progresuojančią šeiminių intrahepatinę cholestazę (ABCB11); Dubin–Johnson sindromą (ABCC2); pseudoxanthoma elasticum (ABCC6); cistinę fibrozę (ABCC7); su X chromosoma susijusią (ABCD1 ir ABCD2) [47] ir kitas.

SLC superšeimą sudaro 400 baltymų, kurie skirstomi į 65 pošeimius [48]. Šios šeimos atstovai yra atsakingi už tulžies druskų, skydliaukės hormonų, anijoninių peptidų, daugelio vaistų ir kitų ksenobiotikų pernašą [49]. Vieni iš dažniausiai klinikinėje praktikoje skiriamų vaistų yra statinai. Daugelis iš jų yra transportuojami OATP1B1, OATP1B3 ir OATP2B1 [50]. Literatūros duomenimis OATP1B1 yra pagrindinis Pitavastatino ir Rovarostatino nešiklis [50,51], o SLCO1B1521T>C pasireiškia sumažėjusiu Pravastatino, Rosuvastatino, Atorvastatino, Simvastatino šalinimu lyginant su SLCO1B1 laukiniu tipu. Dėl šios priežasties didėja miopatijų išsivystymo rizika pacientus gydant maksimaliomis statinų dozėmis [49]. Tuo tarpu SLCO1B1388A>G nešiotojai pasižymi didesniu statinų šalinimu [49], tuo pačiu ir mažesne rbdomiolizės ar kitos miopatijos rizika.

11. TYRIMO METODIKA

Tyrimo planavimas (organizavimas):

Pagal darbo temą buvo suformuluotas šio tyrimo tikslas ir uždaviniai, vėliau pradėta literatūros šaltinių analizė internetinėse duomenų bazėse. Paieška buvo atliekama UpToDate, PubMed, NCBI, ClinicalKey ir kitose duomenų bazėse naudojant raktinius žodžius: CYP450, CYP2D6, CYP2C19, VKORC1, ATP-binding cassette, OATP1B1, SLCO1B1, polimorfizmas (polymorphism), ultra greitieji metabolizuotojai (ultra rapid metabolizer), lėtieji metabolizuotojai (low metabolizer). Atlikus literatūros apžvalgą surinkti Lietuvos Sveikatos Mokslų Universiteto Kauno klinikų (LSMUL KK) Šeimos medicinos ir Inmedica klinikos koduoti pacientų, sergančių psichiatrinėmis ligomis, farmakogenetinių tyrimų duomenys. Vėliau visa turima informacija buvo analizuojama, aprašomi nustatyti rezultatai ir pateikiamos išvados.

Tyrimo objektas:

Šiame tyrime buvo nagrinėjami Lietuvos Sveikatos Mokslų Universiteto Kauno klinikų (LSMUL KK) Šeimos medicinos ir Inmedica klinikos koduoti sergančiųjų psichiatrinėmis ligomis ir elgesio sutrikimais, farmakogenetinių tyrimų duomenys.

Tiriamųjų atranka:

Į tyrimą įtraukti 55 sergantys psichiatrinėmis ligomis ir elgesio sutrikimais pacientai kuriems nuo 2019-09-30 iki 2020-01-30 buvo atlikti CYP2D6, CYP2C19, VKORC1 farmakogenetiniai tyrimai ir nustatytas genotipas.

Tyrimo metodai:

Atlikus koduotų medicininių duomenų analizę nustatyta pacientų lytis, amžius, liga, metabolizmo tipas pagal CYP2D6, CYP2C19, VKORC1. Remiantis farmakogenetinių tyrimų rezultatus ir duomenis apie amžių, lytį, ligą vertinamas greito ir lėto metabolizmo CYP variantų dažnis sergant psichikos

ligomis, palyginamos moterų ir vyrų grupės pagal CYP variantų dažnį, taip pat nustatomas CYP variantų dažnis tarp sergančiųjų skirtingomis psichikos ligomis.

Duomenų analizės metodai:

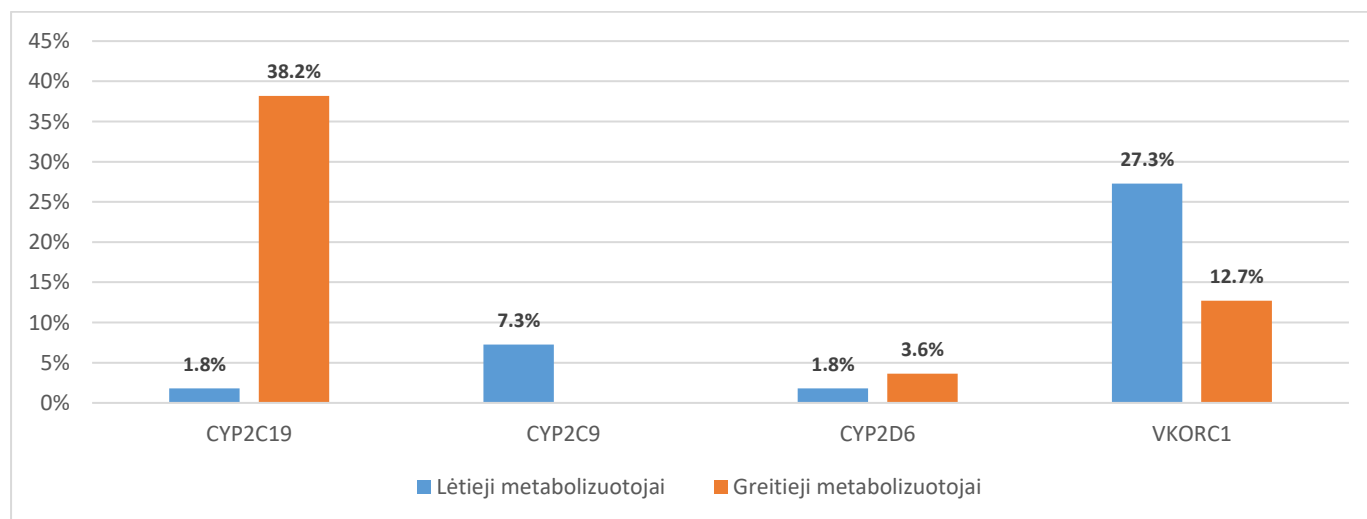
Statistinė duomenų analizė ir jos grafinis apipavidalinimas buvo atliki naudojant Microsoft Office programų paketo elektroninę skaičiuoklę Microsoft Excel 2016. Duomenų statistinis patikimumas buvo vertintas SPSS 24.0 programiniu paketu. Požymių reikšmių pasiskirstymo homogeniškumas lyginamosiose grupėse tikrintas taikant χ^2 . Ryšio stiprumas tarp kintamųjų buvo tiriamas naudojant *Kramerio V* koreliacijos koeficientą. Skirtumas laikytas statistiškai reikšmingu, kai $p < 0,05$.

12. REZULTATAI

Į retrospektyvią analizę buvo įtraukti 55 Lietuvos Sveikatos Mokslų Universiteto Kauno klinikų (LSMUL KK) Šeimos medicinos ir Inmedica klinikos pacientai, kuriems 2019 – 2020 buvo atlikti CYP2D6, CYP2C19, CYP2C9, VKORC1 farmakogenetiniai tyrimai dėl vaistų paskyrimo sergant psichiatrinėmis ligomis. 60% (n = 33) pacientų sudarė moterys, 40% (n = 22) buvo vyrai. Pacientų amžius mediana 39 metai (19 – 79).

12.1 Greitojo ir lėtojo metabolizmo dažnis tarp psichikos ligomis sergančių pacientų.

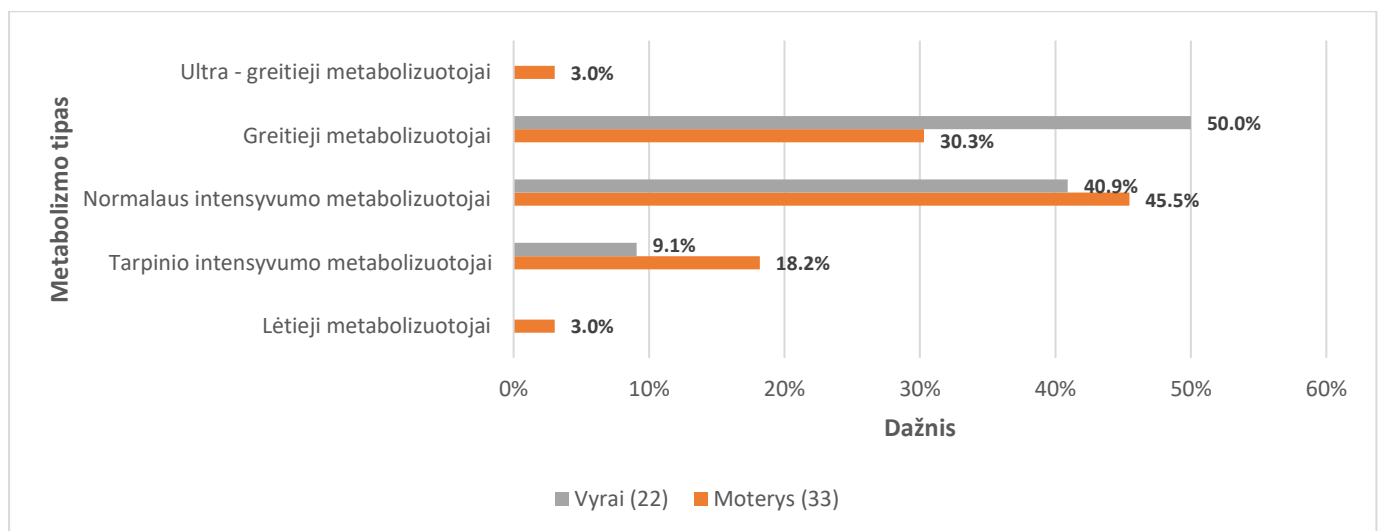
Išnagrinėjus gautus pacientų duomenis paaiškėjo, kad greitasis metabolizmo variantas CYP2C19, CYP2D6, VKORC1 fermentuose atitinkamai pasireiškė 38,2% (n = 21), 3,6% (n = 2), 12,7% (n = 7) visų pacientų. Tarp tiriamųjų nebuvo nei vieno atvejo, kai CYP2C9 priklausytų pastarajai grupei. Lėtasis medžiagų skaidymas dėl CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, VKORC1 alelinių variacijų atitinkamai buvo nustatytas 1,8% (n = 1), 7,3% (n = 4), 1,8% (n = 1) ir 27,3% (n = 15) visų tiriamųjų. Tarpusavyje lyginant greitą ir lėtąjį metabolizmo atvejus, galima daryti prielaidą, kad tarp tyrimui atrinktų pacientų CYP2C19 dažniau pasireiškė kaip fermentas atsakingas už greitąjį metabolizmą, tuo tarpu VKORC1 buvo būdingesnis lėtasis metabolizmo variantas. Greitojo ir lėtojo metabolizmo pasiskirstymas tarp tiriamųjų vaizduojamas 1 paveiksle.



1 pav. Metabolizmo tipų dažnis tarp psichikos ligomis sergančių pacientų

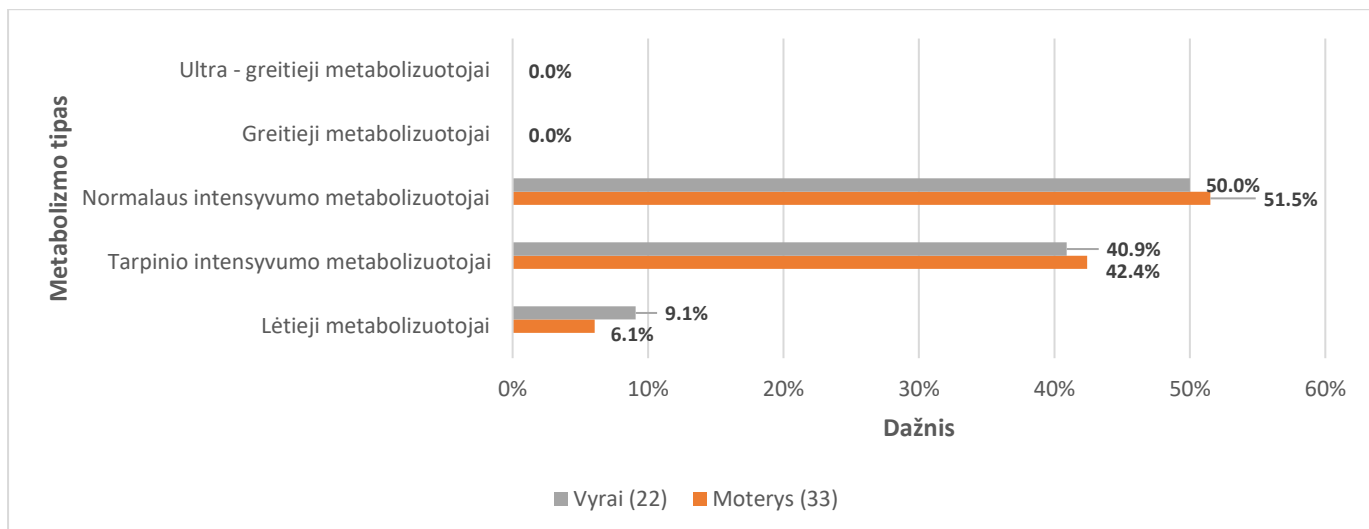
12.2 Moterų ir vyrų grupių palyginimas pagal CYP genų dažnį.

Tarpusavyje lyginant vyrų ir moterų grupes nustatyta, kad moterų grupėje 45,5% (n = 15) atvejų pasireiškia normalaus intensyvumo CYP2C19 genetinis variantas, tuo tarpu tiriamiesiems vyrams 40,9% (n = 11) atvejų būdingas greitojo CYP2C19 metabolizmo variantas. Ultra – greitųjų ir lėtųjų metabolizuotojų nustatyta tik moterų grupėje atitinkamai tai sudarė po 3,0% (n = 1). Greitųjų metabolizuotojų moterų grupėje buvo 30,3% (n = 10), o normalaus intensyvumo vyrų grupėje 40,9% (n = 9). CYP2C19 variantų dažniai moterų ir vyrų grupėse statistiškai reikšmingai nesiskyrė ($\chi^2 = 3,49$, p = 0,48). Koreliacijos koeficientas parodė silpną ryšį tarp kintamųjų ($r_c = 0,25$). CYP2C19 genetinių variantų pasiskirstymas vyrų ir moterų grupėje pateikimas 2 paveiksle.



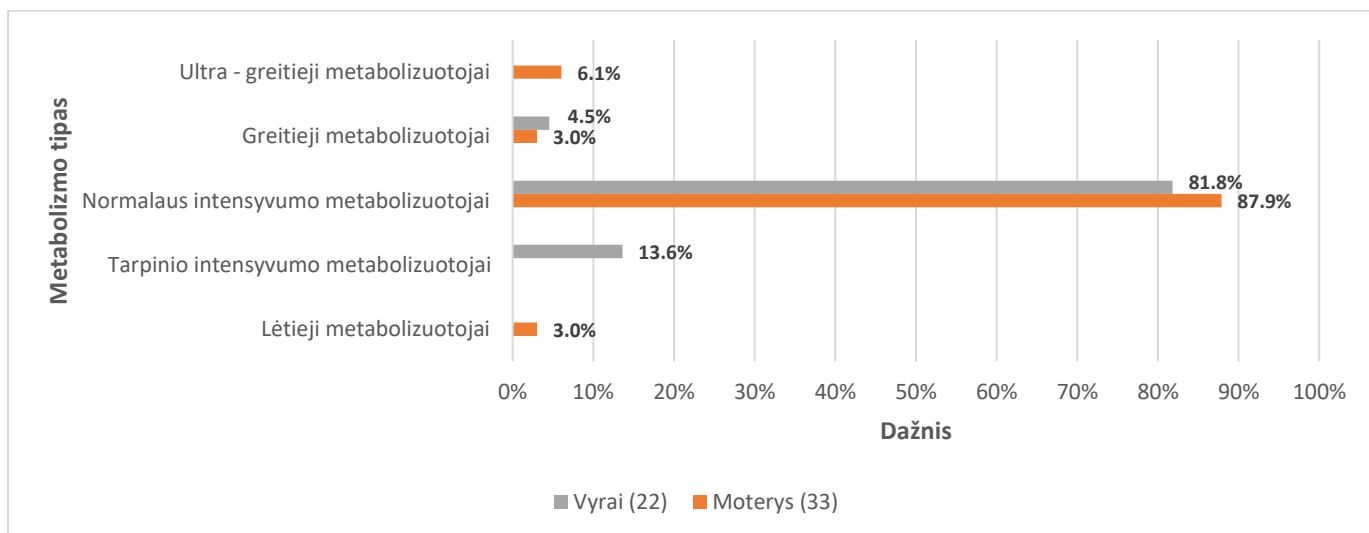
2 pav. CYP2C19 metabolizmo variantų skaičius moterų ir vyrų grupėse.

Analizuojant surinktus duomenis nustatyta, kad moterų grupėje dažniausia pasireiškė normalaus intensyvumo CYP2C9 metabolizmo tipas (51,5%), vyrų grupėje šis metabolizmo variantas nustatytas 50,0% (n = 11) visų atvejų. Tarpinis CYP2C9 metabolizmo tipas nustatytas 42,4% (n = 14) pacienčių, ir 40,9% (n = 9) vyrų. Lėtųjų metabolizuotojų moterų buvo po 6,1% (n = 2)%, vyrų - 9,1% (n = 2). CYP2C9 variantų dažniai moterų ir vyrų grupėse statistiškai reikšmingai nesiskyrė ($\chi^2 = 1,80$, p = 0,814). Koreliacijos koeficientas parodė labai silpną ryšį tarp kintamųjų ($r_c = 0,06$). CYP2C9 metabolizmo variantų skaičius moterų ir vyrų grupėse vaizduojamas 3 paveiksle.



3 pav. CYP2C9 metabolizmo variantų skaičius moterų ir vyrų grupėse.

Moterų grupėje dažniausia nustatomas normalaus intensyvumo CYP2D6 genetinis variantas - 87,9% (n = 29) vyrų grupėje jis nustatomas 81,8% (n = 18) pacientų. Lėtųjų ar ultra – greitųjų metabolizuotojų pagal CYP2D6 nenustatyta nei vienam iš tirtų vyrų. Moterų grupėje šie metabolizmo variantai sudaro atitinkamai 3,0% (n = 1) ir 6,1% (n = 1). Tarpinio intensyvumo metabolizuotojai vyrų grupėje sudarė 13,6% (n = 3). CYP2D6 variantų dažniai moterų ir vyrų grupėse statistiškai reikšmingai nesiskyrė ($\chi^2 = 6,64$, $p = 0,156$). Koreliacijos koeficientas parodė silpną ryšį tarp kintamųjų ($r_c = 0,34$). CYP2C9 metabolizmo variantų skaičius moterų ir vyrų grupėse vaizduojamas 3 paveiksle.

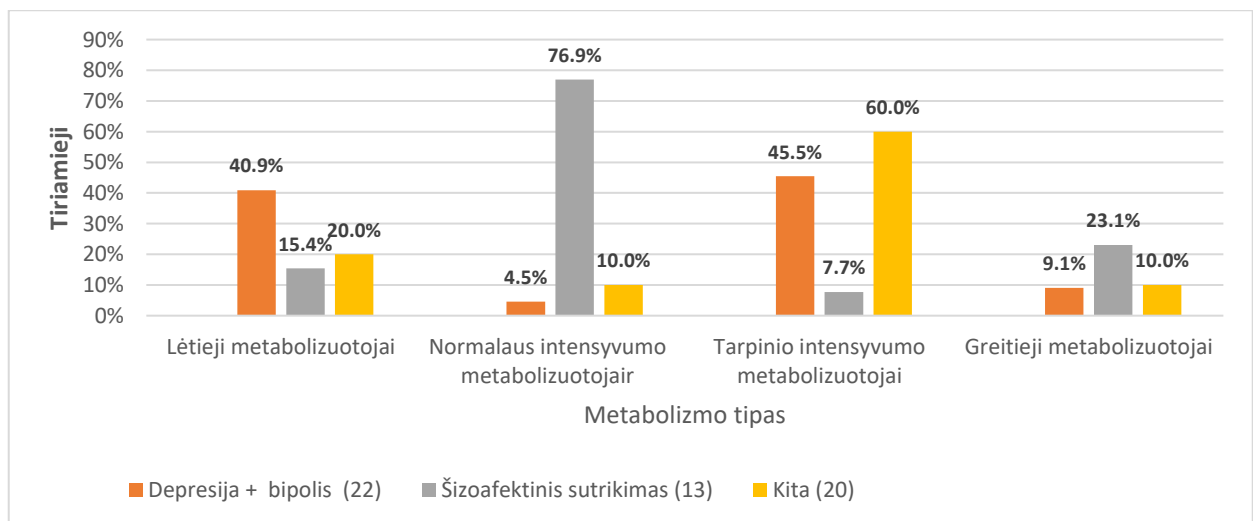


4 pav. CYP2D6 metabolizmo variantų skaičius moterų ir vyrų grupėse.

12.3 VKORC1, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6 genetinių variantų dažnių palyginimas tarp sergančiųjų skirtingomis psichikos ligomis

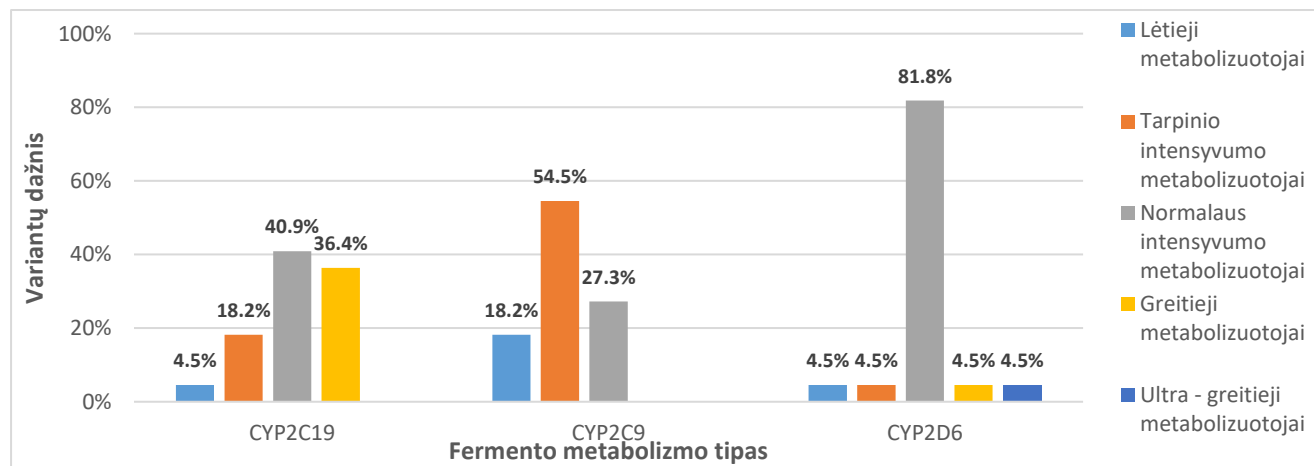
Hart, Pearce, Aguilar atliktos metaanalizės duomenimis, gydymas antikoagulantais sumažina insultų dažnį iki 60% ir yra gerokai veiksmingesni nei antiagregantai [53]. Vienas iš dažniausiai vartojamų antikoagulantų yra varfarinas [54]. Nors šis preparatas ir nėra specifinis gydant psichiatrines ligas, tačiau kasdieninėje praktikoje sutinkamas ir šių pacientų gretose. Varfarinas negrįžtamai jungiasi su VKORC1 ir taip yra slopinamas krešėjimo sistemos aktyvumas [27]. Kaip ir daugeliui fermentų, VKORC1 taip pat yra būdingas genetinis polimorfizmas, kuris lemia vaisto efektyvumą ir nepageidaujamas reakcijas.

Šio tyrimo metu nustatyta, kad lėtasis VKORC1 metabolizmo variantas pasireiškė 40,9% (n = 9) depresija ir bipoliniu sutrikimu, 15,4% (n = 2) šizoafektiniu sutrikimu ir 20,0% (n = 4) kitomis ligomis sergančiųjų grupėse. Greitojo metabolizmo variantas depresija ir bipoliniu sutrikimu sergančiųjų grupėje sudaro 9,1% (n = 2), 23,1% (n = 3) šizoafektiniu sutrikimu ir 10,0% (n = 2) kitomis ligomis sergančiųjų grupėse. Normalaus intensyvumo VKORC1 dažniausiai buvo nustatytas šizoafektinio sutrikimo grupėje – 76,9% (n = 10), depresija ir bipoliniu sutrikimu sergančiųjų grupėje jis sudarė 4,5% (n = 1), o kitomis ligomis sergančiųjų grupėje šis genetinis variantas aptiktas 10,0% (n = 2) pacientų. Tarpinio intensyvumo metabolizmo variantas atitinkamai sudarė 45,5% (n = 10), 7,7% (n = 1) ir 60,0% (n = 12). Vertinant šio fermento variantų dažnį skirtingų psichiatrinių ligų grupėse, statistiškai reikšmingas skirtumas nebuvo gautas (p = 0,41). VKORC1 metabolizmo variantų pasiskirstymas tarp ligų vaizduojamas 5 paveiksle.



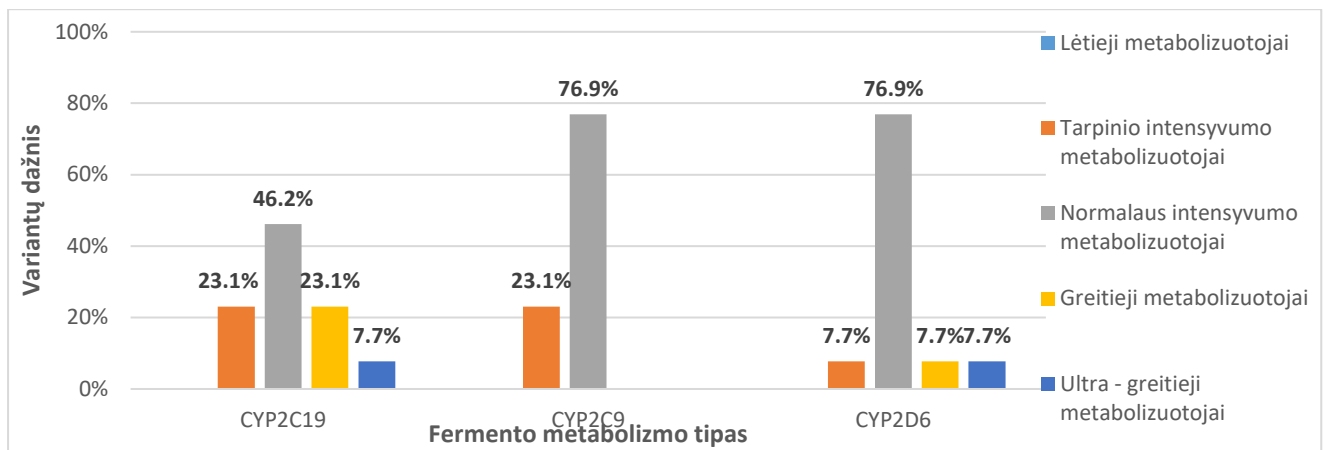
5 pav. VKORC1 metabolizmo variantų dažnis sergant psichiatrinėmis ligomis.

Tyrimo metu nustatyta, kad 81,8% (n = 18) sergančiųjų depresija ir bipoliniu turėjo normalus intensyvumo CYP2D6 genetinį variantą. Lėtųjų, tarpinio intensyvumo, greitųjų ir ultra – greitųjų buvo vienodai - po 4,5% (n = 1). Toje pačioje sergančiųjų depresija ir bipoliniu sutrikimu grupėje dažniausiai pasireiškė tarpinio intensyvumo CYP2C9 metabolizmas. Jis nustatytas 54,5% (n = 19) pacientų. Normalaus intensyvumo metabolizmas rastas 27,3% (n = 6), o lėtas CYP2C9 18,2% (n = 4) depresija ir bipoliniu sergančiųjų grupėje. Nustatant CYP2C19 metabolizmo tipų pasiskirstymą pastebėta, kad normalaus intensyvumo metabolizuotojai sudarė 40,9% (n = 9), lėtieji - 4,5% (n = 1), greitieji metabolizuotojai 36,4% (n = 8). Depresija ir bipoliniu sergančiųjų grupėje ultra - greitųjų metabolizuotojų nustatyta nebuvo. Tyrimo metu nebuvo nustatytas statistiškai reikšmingas ryšys tarp ligos ir metabolizmo tipo (p = 0,39). Duomenys vaizduojami 6 paveiksle.



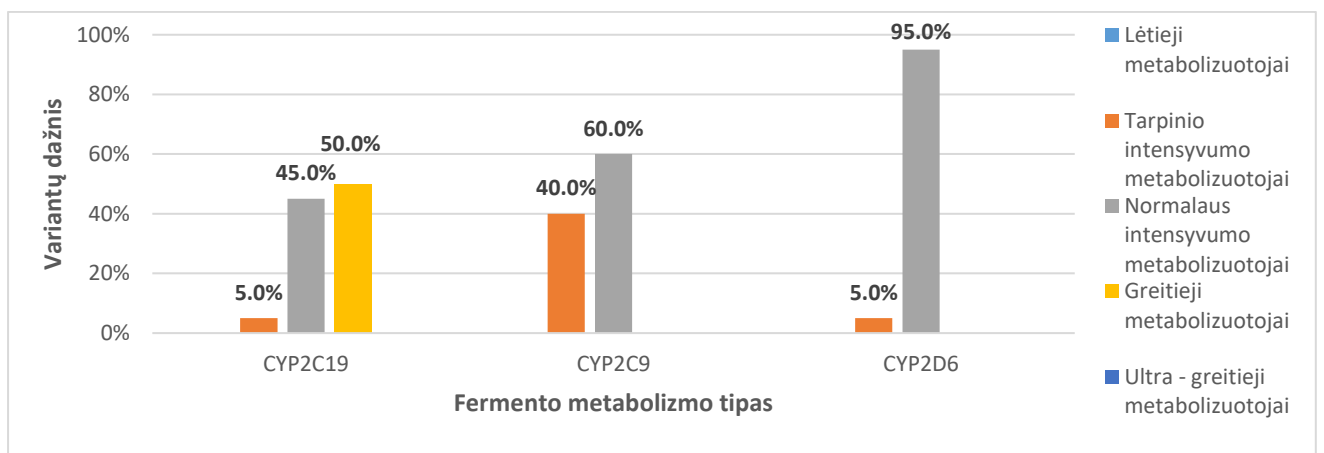
6 pav. CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, variantų dažnis tarp sergančiųjų depresija ir bipoliniu sutrikimu.

Nagrinėjant šizoafektiniu sutrikimu sirgusių pacientų farmakogenetinių tyrimų duomenis pastebėta, kad šioje grupėje tarp CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6 dominuoja normalaus intensyvumo metabolizmo variantas, atitinkamai sudarydamas po 23,1% (n = 6), 76,9% (n = 10), ir 76,9% (n = 10). Ultra - greitieji metabolizuotojai sudarė po 7,7% (n = 1) visų CYP2C19 ir CYP2D6 variantų. CYP2C19 ir CYP2D6 greitojo metabolizmo fenotipai atitinkamai sudarė po 23,1% (n = 3) ir 7,7% (n = 1). Lėtojo metabolizmo variantų nenustatyta nei viename iš tirtų fermentų. Ryšys tarp ligos ir citochromų variantų neapibrėžiamas, kaip statistiškai reikšmingas (p = 0,15). Duomenys vaizduojami 7 paveiksle.



7 pav. CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, variantų dažnis tarp sergančiųjų šizoafektiniu sutrikimu.

Nagrinėjant farmakogenetinių tyrimų rezultatus kitomis ligomis sergančiųjų grupėje neaptikta nei vieno atvejo kai CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 priklausytų lėtojo arba ultra – greitojo metabolizmo variantui. Tarp šių trijų fermentų didžiąją dalį sudarė normalaus intensyvumo metabolizmo variantas, CYP2D6 – 95,0% (n = 19), CYP2C9 – 60,0% (n = 12), CYP2C19 – 45,0% (n = 9). Tarpinio intensyvumo metabolizmas atitinkamai pasireiškė 5,0% (n = 1) CYP2D6, 5,0% CYP2C19 (n = 1) ir 40,0% (n = 8) CYP2C9 tarp visų tirtų atvejų. Greitojo metabolizmo variantas sudarė 50% (n = 10) CYP2C19 atvejų. Tyrimo metu nebuvo nustatytas statistiškai reikšmingas ryšys tarp ligos ir metabolizmo tipo (p = 0,41). Fermentų variantų pasiskirstymas kitomis ligomis sergančiųjų grupėje pateikiamas 8 paveiksle.



8 pav. CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, variantų dažnis kitomis ligomis sergančiųjų grupėje.

13. REZULTATŲ APTARIMAS

Tyrimo metu nustatyta, kad RM CYP2C19 variantas pasireiškė 38,2% tyrime dalyvavusių pacientų. Šis fermentas yra atsakingas už Amitriptilino, Citalopramo, Diazepamo, Escitalopramo, Sertralino [22] ir kitų vaistų metabolizmą. 3,6% tirtų pacientų buvo nustatytas CYP2D6 RM fenotipas, kuris yra svarbus Haloperidolio, Olanzapino, Chlorpromazino, Triciklių antidepresantų, Citalopramo, Mirtazapino ir kitų klinikinėje praktikoje naudojamų vaistų metabolizmui [30]. Abejais atvejais skiriant standartines medikamentų dozes gydymo efektyvumas gali būti nepakankamas dėl intensyvesnės fermentų veiklos. LM dėl CYP2C19, nustatytas 1,8%, CYP2C9, - 7,3%, CYP2D6, - 1,8% tirtų pacientų. LM atveju reikalingos mažesnės medikamentų dozės užtikrinant optimalų vaisto poveikį. VKORC1 fermento RM nustatytas 12,7% visų pacientų. Šis dažnis artimas kaukaziečių populiacijai, kurioje jis sudaro 15% [43, 38, 41, 42, 56]. Dėl šio metabolizmo tipo optimaliam gydymui yra reikalingos daug mažesnės varfarino dozės. LM VKORC1 atvejais tiriamojoje grupėje sudarė 27,3%. Šio fenotipo nešiotojams reikalingos atitinkamai didesnės varfarino dozės nei turintiems RM fenotipą.

Varfarino efektyvumas, terapinė dozė ir nepageidaujamos reakcijos ir žolinių preparatų. Pavyzdžiui, kai kurie žoliniai preparatai (Alijošius, Jalapenas, Amerikinis šaltekšnis ir kai kurie kiti) gali jungtis prie varfarino ir taip slopinti jo absorbciją [58]. Kai kurie žoliniai preparatai konkuruoja su varfarinu dėl prisijungimo prie plazmos baltymų ir taip didina šio vaisto koncentraciją [58, 59, 60]. Silpnesnį medikamento poveikį gali lemti, kartu vartojami jonažolės preparatai. Nutraukus pastarųjų naudojimą, slopinamasis jonažolių preparatų poveikis dar gali tęstis kelias savaites. Tokiu atveju labai svarbu stebėti INR ir priklausomai nuo gauto tyrimo rezultato parinkti tinkamą vaisto dozę.

Tiems genotipų nešiotojams, kuriems reikalingos mažesnės varfarino dozės (RM), labai pavojinga kartu vartoti alkoholį [58, 59]. Etanolio poveikyje varfarino efektyvumas nemažėja, o priešingai – didėja [58, 59].

Vyrų ir moterų grupėse dažniausiai pasireiškia už normalųjį metabolizmą atsakingi citochromų variantai. Tuo tarpu nei vienoje grupėje nebuvo nustatytas RM ar UM CYP2C9 genetinis variantas. Vyrų grupėje taip pat nebuvo nei vieno PM ar UM CYP2D6 atvejo. PM CYP2C9 aptiktas 6,1% moterų ir 9,1% vyrų. Tarp moterų PM CYP2D6 sudarė 3,0%, o UM - 6,1 %. Už UM ir PM atsakingas CYP2C19 nustatytas 3,0% pacienčių. RM CYP2C19 variantas šioje grupėje sudarė 30,3%, o vyrų - 40,9%. Vertinant CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6 variantų dažnį pagal lytį, statistiškai reikšmingo skirtumo nebuvo gauta.

Šio tyrimo metu nustatyta, kad PM VKORC1 variantas pasireiškė 40,9% depresija ir bipoliniu sutrikimu, 15,4% šizoafektiniu sutrikimu ir 20,0% kitomis ligomis sergančiųjų pacientų. RM variantas depresija ir bipoliniu sutrikimu sergančiųjų grupėje sudarė 9,1%, 23,1% šizoafektiniu sutrikimu ir 10,0% kitomis ligomis sergančiųjų grupėse.

Tyrimo metu nustatyta, kad PM tipas pasireiškė tik depresija ir bipoliniu sutrikimu sergančiųjų grupėje. Tai sudarė 4,5% CYP2C19, 18,2% CYP2C9, 4,5% CYP2D6 visų variantų. Kitomis ligomis sergančiųjų grupėje nebuvo nei vieno fermento atsakingo už UM. Pastarasis metabolizmo variantas nustatytas 4,5% CYP2D6 depresija ir bipoliniu sutrikimu sirgusiųjų grupėje ir po 7,7 % CYP2C19 ir CYP2D6 turinčių šizoafektinį sutrikimą. CYP2D6 NM variantas sudarė didžiausią visų atvejų dalį. Kiekvienoje iš tiriamųjų grupių šis metabolizmo tipas nustatytas nuo 76,9% iki 95% tirtų pacientų. Už normalaus intensyvumo metabolizmą yra atsakingi CYP2D6*1 ir CYP2D6*2 aleliai [23, 35, 36]. 2019 Lietuvoje atlikto tyrimo duomenimis, tiriamojoje grupėje, sudarytoje iš 104 sveikų savanorių ir 75 pacientų su afektiniais sutrikimais, šių dviejų alelių dažnis buvo 45,0% ir 28,8% [57], o nefunkcinis, už lėtąjį metabolizmą atsakingas, CYP2D6*5 alelis pasireiškė rečiau nei tarp kitų Europos gyventojų. Taip pat šio tyrimo metu pastebėta, kad CYP2D6 *2 dažniau pasireiškė kontrolinėje grupėje, o nefunkcinis CYP2D6 *4 dažniau buvo nustatytas pacientų grupėje su afektiniais sutrikimais [57]. Svarbu paminėti, kad ir mūsų atliktame tyrime PM CYP2D6 buvo aptiktas tik afektinių sutrikimų turėjusių pacientų grupėje.

Apibendrinant šį tyrimą galima teigti, kad gauti rezultatai turi tiek panašumų, tiek ir skirtumų lyginant su kitų tyrėjų rezultatais. Pastarųjų analizės dažnu atveju reprezentuoja visą bendrąją populiaciją išskiriant konkretaus genotipo pasireiškimo dažnius. Tuo tarpu šis tyrimas orientuotas į psichikos ligomis sergančius pacientus nagrinėjant fermentų fenotipinius variantus. Tačiau tiek ši studija, tiek pasaulio mokslininkų tyrimai išryškina personalizuotos medicinos svarbą, kurios vienas iš aspektų yra farmakogenetika.

14. IŠVADOS

1. Tarp tiriamųjų CYP2C19, CYP2D6, VKORC1 greitasis metabolizmo variantas nustatytas 38,2%, 3,6%, 12,7% tirtų pacientų. Lėtasis medžiagų skaidymas dėl CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, VKORC1 alelinių variacijų atitinkamai buvo nustatytas 1,8 %, 7,2 %, 1,8 % ir 27,3 % visų tiriamųjų.
2. Moterų grupėje dažniausiai pasireiškė normalaus intensyvumo CYP2C19 (45,5%), CYP2C9 (51,5%) ir CYP2D6 (87,9%) genetinis variantas. Šioje grupėje CYP2C19 ultra – greitųjų ir lėtųjų metabolizuotojų buvo po 3,0%. Moterų grupėje greitųjų CYP2C19 metabolizuotojų buvo 30,3%. Tarpinis CYP2C9 metabolizmo variantas nustatytas 42,4% pacienčių. Lėtųjų ar ultra – greitųjų metabolizuotojų pagal CYP2D6 variantą buvo 3,0% ir 6,1%.

Vyrų grupėje normalaus intensyvumo CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6 genetinis variantas atitinkamai sudarė 40,9%, 50%, 81,8%. Greitojo CYP2C19 metabolizmo variantas nustatytas 40,9% atvejų. Tarpinis CYP2C9 metabolizmo tipas nustatytas 40,9%, o CYP2D6 - 13,6%. CYP2C9 lėtųjų metabolizuotojų buvo 9,1%. Lėtųjų ar ultra – greitųjų CYP2D6 metabolizuotojų nenustatyta nei vienam iš tiriamųjų. Abejose tiriamųjų grupėse CYP dažniai statistiškai reikšmingai nesiskyrė.

3. Tyrimo metu nustatyta, kad 81,8% sergančiųjų depresija ir bipoliniu sutrikimu turėjo normalus intensyvumo CYP2D6 genetinį variantą. Lėtųjų, tarpinio intensyvumo, greitųjų ir ultra – greitųjų metabolizmo variantų nustatyta po 4,5% . CYP2C9 tarpinio intensyvumo metabolizmas nustatytas 54,5% pacientų. CYP2C19 normalaus intensyvumo metabolizmas pasireiškė 40,9% pacientų, o lėtasis - 4,5%.

Šizoafektiniu sutrikimu sirgusių pacientų grupėje tarp CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6 dažniausiai pasireiškė normalaus intensyvumo metabolizmas, atitinkamai sudarydamas po 23,1%, 76,9%, ir 76,9% visų atvejų. Ultra - greitieji metabolizuotojai sudarė po 7,7% visų CYP2C19 ir CYP2D6 variantų. CYP2C19 ir CYP2D6 greitojo metabolizmo fenotipai sudarė atitinkamai 23,1% ir 7,7%. Lėtojo metabolizmo variantų nenustatyta nei vienam iš tiriamųjų.

Kitomis ligomis sergančiųjų grupėje neaptikta nei vieno atvejo kai CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 priklausytų lėtojo arba ultra – greitojo metabolizmo variantui. Tarp šių trijų fermentų didžiąją dalį sudarė normalaus intensyvumo metabolizmo variantas (CYP2D6 – 95,0%, CYP2C9 – 60,0%, CYP2C19 – 45,0%). Tarpinio intensyvumo metabolizmas buvo nustatytas 5,0% CYP2D6, 5,0% CYP2C19 ir 40,0% CYP2C9 visų tirtų atvejų. Tiriamosiose grupėse citochromų variantų dažniai statistiškai reikšmingai nesiskyrė.

15. LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Hannah Ritchie, Max Roser. Mental Health. Published online at OurWorldInData.org. Available from: <https://ourworldindata.org/mental-health#citation>
2. Redic S, DiCarlo FJ. Human cytochrome P450 enzymes: status report summarizing their reactions, substrates, inducters and inhibitors. *Drug Metab Rev.* 1997; 29:413-580.
3. Edward K., Alderman C. *Psychopharmacology: practice and contexts.* South Melbourne: Oxford University Press, 2013
4. Pirmohamed M. Pharmacogenetics and pharmacogenomics. *Br J Clin Pharmacol.* 2001; 345–347.
5. Meyer U.A// *J.Pharmacokinetic. Biopharm.* 1996; 449-459.
6. Daly A.K//*J. Mol.Med.* 1995; 539-553.
7. Daly A.K., Brockmöller J., Broly F. et al// *Pharmacogenetics.* 1996; 193-201.
8. Crisafulli C, Fabbri C, Porcelli S, et al. Pharmacogenetics of antidepressants. *Front Pharmacol.* 2011; 2 - 6.
9. Kalow W., Staron N. On distribution and inheritance of atypical forms of human serum cholinesterase, as indicated by dibucaine numbers // *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology.* 1957; 35(1): 1305–1320.
10. E. Duglauskas, A. Utkus, V. Danilevičiūtė Citochromų P450 įtaka psichofarmakoterapinių vaistų klinikiniam efektyvumui. *Neurologijos seminarai.* 2014; 113-120.
11. Laimonas Griškevičius, Jolanta Gulbinovič. Lietuvoas gyventojų debrizokvino ir S-mefetinoino hidrosilinio polimorfizmas. *MEDICINA.* 2000; 131-136.
12. K. Matuzevičius, A. Germanavičius, D. Ūsaitė. Farmakogenetikos vaidmuo modernioje psichiatrijoje. *MOKSLAS, TEORIJA IR PRAKTIKA.* 2014; 125–133.
13. A.Lengvenytė, R. Strumila, E. Dlugauskas, A. Utkus. Farmakogenetinio tyrimo vertinimas psichiatrijoje: retrospektyvi klinikinių atvejų analizė. *Labaratorinė medicina.* 2016; 23-28.
14. N. Voronaja. Farmakogenetinių tyrimų svarba ir nauda Psichiatrijoje. *Internistas.* 2016; 29-30
15. D. Serapinas, A. Serapinienė, A. Valantinas. INDIVIDUALIZUOTOS MEDICINOS KLINIKINIAI IR PSICHOLOGINIAI ASPEKTAI. *SVEIKATOS MOKSLAI.* 2019; 5-9
16. http://vpssc.lrv.lt/uploads/vpsc/documents/images/Statistika/Psichikos%20sveikatos%20sutrikimai/serg_psich_sutr2017.jpg

17. E. Čiūras, E. Długauskas, V. Danilevičiūtė. Antidepresantų sąveika su priešepilepsiniais, antihipertenziniais, nestertoidiniais priešuždegiminiais ir priešinfekciniais vaistais. Neurologijos seminarai. 2015; 77-83.
18. J. Stingl, R. Viviani. Polymorphism in CYP2D6 and CYP2C19, members of the cytochrome P450 mixed-function oxidase system, in the metabolism of psychotropic drugs. *J Intern Med* 2014; 1365-2796.
19. Whirl-Carrillo, M. McDonagh EM, Hebert JM, Gong L, SangkuhlK, Torn CF, et al. Pharmacogenomics knowledge for personalized medicine. *Clin Pharmacol Ther* 2012; 414.
20. Boyd Steere, Jessica A. Roseberry Baker, Stephen D. Hall, and Yingying Guo. Prediction of In Vivo Clearance and Associated Variability of CYP2C19 Substrates by Genotypes in Populations Utilizing a Pharmacogenetics-Based Mechanistic Model. *Drug Metab Dispos.* 2015; 870–883 Available from: <http://dmd.aspetjournals.org/content/dmd/43/6/870.full.pdf>
21. L. Bernal-Martínez, L. Alcazar Fuoli, B. Miguel-Revilla, A. Carvalho, M. S. Cuétara Garcia, J. Garcia-Rodriguez, C. Cunha, E. Gómez-García de la Pedrosa, A. Gomez-Lopeza. High-Resolution Melting Assay for Genotyping Variants of the CYP2C19 Enzyme and Predicting Voriconazole Effectiveness. *American Society for Microbiology.* 2019; 1-9. Available from: <https://aac.asm.org/content/63/6/e02399-18>
22. Katie Walker, Darren Schwartz. Graylands Hospital Drug Bulletin. *Mental Health.* 2011. Available from: <https://ww2.health.wa.gov.au/~media/Files/Corporate/general%20documents/WATAG/WAPDC/Cytochrome-enzymes-and-psychotropics-December-2011.pdf>
23. Jelena Petrović, Vesna Pešić, Volker M. Lauschke. Frequencies of clinically important CYP2C19 and CYP2D6 alleles are graded across Europe. *European Journal of Human Genetics.* 2020; 88–94. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41431-019-0480-8.pdf>
24. Valon Krasniqi, Aleksandar Dimovski, Iva Klarica Domjanović, Ivan Bilić, Nada Božina. How polymorphisms of the cytochrome P450 genes affect ibuprofen and diclofenac metabolism and toxicity. *Arh Hig Rada Toksikol.* 2016; 1–8.
25. Shabbir Ahmed, Jie Zhou, Zhan Zhou, Shu-Qing Chen. Genetic Polymorphisms and In Silico Mutagenesis Analyses of CYP2C9, CYP2D6, and CYPOR Genes in the Pakistani Population. *Genes.* 2018; 1–8. Available from: <https://www.mdpi.com/2073-4425/9/10/514/htm>
26. A. Rainine, D. De Lucia, C.D. Morelli, D. Vlentes, O. Catapono, M. Caraglias. CLINICALLY RELEVANT OF CYTOCHROME P450 FAMILY ENZYMES FOR DRUG-DRUG INTERACTION IN ANTICANCER THERAPY. *WCRJ.* 2015; 1–1-7. Available from:

27. V. Tatarūnas. GENETINIŲ VEIKSNIŲ TYRIMAS INDIVIDUALIZUOJANT GYDYMĄ ANTIKOAGULIANTAIS IR ANTIAGREGANTAIS: VARFARINO IR KLOPIDOGRELIO FARMAKOGENETIKA. 2012; 1-98. Available from: <http://talpykla.elaba.lt/elabafedora/objects/elaba:2212548/datastreams/MAIN/content>
28. Valon Krasniqi. Genetic polymorphism of CYP2C19, CYP2C9 and VKORC1 in Kosovo population. 2017; 1-10. Available from: <http://medlib.mef.hr/3068/1/krasniqi%20valon.pdf>
29. GC Bell, KE Caudle, M Whirl-Carrillo, RJ Gordon, K Hikino, CA Prows, A Gaedigk, JAG Agundez, S Sadhasivam, TE Klein, M Schwab. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for CYP2D6 Genotype and Use of Ondansetron and Tropisetron. CLINICAL PHARMACOLOGY & THERAPEUTICS. 2017; 213–218. Available from: <https://cpicpgx.org/content/guideline/publication/ondansetron/2016/28002639.pdf>
30. Fernando Mora, Juan D Molina, Elena Zubillaga, Francisco López-Muñoz, Cecilio Álamo. CYP450 and Its Implications in the Clinical Use of Antipsychotic Drugs. Clin Exp Pharmacol. 2017. Available from: <https://www.longdom.org/open-access/cyp450-and-its-implications-in-the-clinical-use-of-antipsychotic-drugs-2161-1459-1000176.pdf>
31. Mohanan Geetha Gopisankar. CYP2D6 pharmacogenomics. The Egyptian Journal of Medical Human Genetics. 2017; 309–313. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1110863017300228>
32. Kuzmanovska M, Dimishkovska M, Maleva Kostovska I, Noveski P, Sukarova Stefanovska E, Plaseska-Karanfilska D. CYP2D6 ALLELE DISTRIBUTION IN MACEDONIANS, ALBANIANS AND ROMANIES IN THE REPUBLIC OF MACEDONIA. BJMG. 2017; 49-58. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5026269/pdf/bjmg-2015-0086.pdf>
33. Zahra Khalaj, Zohreh Baratieh, Parvaneh Nikpour, Hossein Khanahmad, Fariborz Mokarian, Rasoul Salehi, Mansoor Salehi. Distribution of CYP2D6 polymorphism in the Middle Eastern region. J Res Med Sci. 2019; 1–6. Available from: http://www.jmsjournal.net/temp/JResMedSci24161-7010085_192820.pdf
34. Eun-Young Kim, Sang-Goo Shin, Jae-Gook Shin. Prediction and visualization of CYP2D6 genotype-based phenotype using clustering algorithms. Transl Clin Pharmacol. 2017; 147-152. Available from: <https://synapse.koreamed.org/Synapse/Data/PDFData/1179TCP/tcp-25-147.pdf>
35. A.Lerena, P. Dorado, Peñas Lledo, Ca´ceres, A De la Rubia Low frequency of CYP2D6 poor metabolizers among schizophrenia patients. The Pharmacogenomics Journal. 2007; 408–410.

36. Tore Haslemo, Erik Eliasson, Marin M. Jukić, Magnus Ingelman-Sundberg, Espen Molden. Significantly lower CYP2D6 metabolism measured as the O/N-desmethylvenlafaxine metabolic ratio in carriers of CYP2D6*41 versus CYP2D6*9 or CYP2D6*10: a study on therapeutic drug monitoring data from 1003 genotyped Scandinavian patients. *Br J Clin Pharmacol*. 2019; 194–201. Available from: <https://bpspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/bcp.13788>
37. Anwar Ullah. STUDY OF CYP2D6 GENETIC POLYMORPHISM IN PAKISTANI ETHNIC GROUPS. 2012; Available from: https://www.researchgate.net/publication/280830768_STUDY_OF_CYP2D6_GENETIC_POLY_MORPHISM_IN_PAKISTANI_ETHNIC_GROUPS
38. Kavita Shalia, Sunila Raju, Amit Chandan. Prevalence of Genetic Variations Affecting Warfarin Action from Different Parts of India. *Indian Journal of Cardio Biology & Clinical Sciences*. 2016; Available from: <https://www.opensciencepublications.com/fulltextarticles/IJCBCS-2454-5945-3-108.html>
39. M Wadelius, L Y Chen, K Downes, J Ghori, S Hunt, N Eriksson, O Wallerman, H Melhus, C Wadelius, D Bentley & P Deloukas. Common VKORC1 and GGCX polymorphisms associated with warfarin dose. *The Pharmacogenomics Journal*. 2005; 262–270. Available from: <https://www.nature.com/articles/6500313>
40. Yan X, Yang F, Zhou H, Zhang H, Liu J, Ma K, Li Y, Zhu J, Ding J. Effects of VKORC1 Genetic Polymorphisms on Warfarin Maintenance Dose Requirement in a Chinese Han Population. *International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*. 2015; 3577-3584. Available from: <http://europepmc.org/article/PMC/4657763>
41. Mark Johnson, Craig Richard, Renee Bogdan, Robert Kidd. Warfarin Dosing in a Patient with CYP2C9*3*3 and VKORC1-1639 AA Genotypes. *Hindawi Publishing Corporation Case Reports in Genetics*. 2014; 1 - 4. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/crig/2014/413743/>
42. Laura Dean. Warfarin Therapy and the Genotypes CYP2C9 and VKORC1. *Medical Genetics Summaries*. 2016; 1-9.
43. Aisha Qayyum, Muzammil Hasan Najmi, Qaisar Mansoor, Muhammad Irfan, Abdul Khaliq Naveed, Andleeb Hanif, Ali Raza Kazmi, Muhammad Ismail. Frequency of Common VKORC1 Polymorphisms and Their Impact on Warfarin Dose Requirement in Pakistani Population. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*. 2018; 323-329. Available from: <https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/1076029616680478>

44. Sun-Mi Cho, Kyung-Yul Lee, Jong Rak Choi, Kyung-A Lee. Development and Comparison of Warfarin Dosing Algorithms in Stroke Patients. *Yonsei Med J.* 2016; 635-640; Available from: <https://ymj.or.kr/Synapse/Data/PDFData/0069YMJ/ymj-57-635.pdf>
45. Zhong Li, Yuanyuan Jiang, F. Peter Guengerich, Li Ma, Shengying Li, Wei Zhang. Engineering cytochrome P450 enzyme systems for biomedical and biotechnological applications. *JBC.* 2019; 1 - 37. Available from: <https://www.jbc.org/content/early/2019/12/06/jbc.REV119.008758.full.pdf>
46. E. Bloise, T.M. Ortiga-Carvalho, F.M. Reis, S.J. Lye, W. Gibb, S.G. Matthews. ATP-binding cassette transporters in reproduction: a new frontier. *Human Reproduction Update.* 2016; 164–181.
47. Saya Takenaka, Tomoo Itoh & Ryoichi Fujiwara. Expression pattern of human ATP-binding cassette transporters in skin. *Pharmacology Research & Perspectives.* 2013; 1-8. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4184570/pdf/prp20001-e00005.pdf>
48. Vasilis Vasiliou, Konstandinos Vasiliou, Daniel W. Nebert. Human ATP-binding cassette (ABC) transporter family. *HUMAN GENOMICS.* 2009; 281 – 290 Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2752038/pdf/1479-7364-3-3-281.pdf>
49. Lena Schaller, Volker M. Lauschke. The genetic landscape of the human solute carrier (SLC) transporter superfamily. *Human Genetics.* 2019; 1359–1377. Available from: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s00439-019-02081-x.pdf>
50. Hannah H. Lee and Richard H. Ho. Interindividual and interethnic variability in drug disposition: polymorphisms in organic anion transporting polypeptide B1 (OATP1B1; SLCO1B1). *Br J Clin Pharmacol.* 2017; 1176–1184. Available from: <https://bpspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/bcp.13207>
51. Hirano M, Maeda K, Shitara Y, Sugiyama Y. Contribution of OATP2 (OATP1B1) and OATP8 (OATP1B3) to the hepatic uptake of pitavastatin in humans. *J Pharmacol Exp Ther.* 2004; 139–46.
52. Kitamura S, Maeda K, Wang Y, Sugiyama Y. Involvement of multiple transporters in the hepatobiliary transport of rosuvastatin. *Drug Metab Dispos.* 2008; 2014-2023. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18617601>
53. Rodovičius H. Ksenobiotikų metabolizmas: universiteto vadovėlis. Kaunas: Kauno medicinos universiteto leidykla. 2010; 26-28.
54. Rodovičius H. Ksenobiotikų metabolizmas: universiteto vadovėlis. Kaunas: Kauno medicinos universiteto leidykla. 2010; 26-28.
55. Hart RG, Pearce LA, Aguilar MI. Meta-analysis: antithrombotic therapy to prevent stroke in patients who have nonvalvular atrial fibrillation. *Ann Intern Med.* 2007; 146(12):857–67.

56. Julie A. Johnson, PharmD. Warfarin Pharmacogenetics: A Rising Tide for its Clinical Value. *PMC*. 2013; 125(16): 1964–1966.
57. Orapan Sripichai, Suthat Fucharoen. Genetic Polymorphisms and Implications for Human Diseases. *J Med Assoc Thai*. 2007; 394-398
58. The Influence of CYP2C9 and VKORC1 Gene Polymorphisms on Optimal Warfarin Doses After Heart Valve Replacemen. *Medicina*. 2011; 25-30.
59. E. Dlugauskas, R. Strumila, A. Lengvenyte, L. Ambrozaityte, E. Dagyte, A. Molyte, A. Navickas, A. Utkus. Analysis of Lithuanian CYP2D6 polymorphism and its relevance to psychiatric care of the local population, *Nordic Journal of Psychiatry*. 2019; 31-35
60. E. A. Nutescu, N. L. Shapiro, S. Ibrahim, P. West. Warfarin and its interactions with foods, herbs and other dietary supplements. *Expert Opinion on Drug Safety*. 2006; 433–451