

ترکیبی از Genome-Wide پلی مورفیسم های و Copy Number Variations در فارماکوژن در کره ای ها

چکیده:

برای پیش بینی فنوتیپ ها و اجرای پزشکی دقیق، آنالیز ترکیبی واریانت های تک نوکلئوتیدی (SNVs) ژنوتیپ و تغییرات تعداد کپی (CNVs) مورد نیاز است. هدف از این مطالعه کشف SNV ها یا CNV های رایج و بررسی تکرارهای ترکیبی SNVs و CNVs در فارماکوژن ها با استفاده از مطالعه ژنوم و اپیدمیولوژی کره ای (KoGES) یک پروژه کنسرسیومی بود. ژنوتیپ ها (N = ۷۲۲۹۹) و داده های CNV (N = ۱۰۰۰) توسط موسسه ملی بهداشت کره و مراکز کنترل و پیشگیری از بیماری های کره ارائه شده است. فراوانی آللی SNVs، CNVs و SNVs ترکیبی با CNVs محاسبه شد و آنالیز هاپلوتاایپ انجام شد. CYP2D6 rs1065852 شایع ترین واریانت آلل (۴۸.۲۳٪) بود. در مجموع وجود ۸۴۵۴ بلوک هاپلوتاایپ در ۱۸ فارماکوژن تخمین زده شد. DMD بالاترین تکرار را برای (۶۴.۵۲٪) Gene gain نشان داد در حالی که TPMT بالاترین تکرار را برای gene loss (۵۱.۸۰٪) داشت. افزایش CNVs واریانت CYP4F2 در ۲۲ نمونه مشاهده شد که ۱۳ نمونه از آن ها ناقل با افزایش 3 * CYP4F2 بودند. در مورد TPMT، تقریباً نیمی از شرکت کنندگان دیپلوتاایپ 1*1*TPMT را از دست دادند. تکرار SNVs و CNVs در فارماکوژن ها با استفاده از مطالعه انجمن گسترده ژنوم مبتنی بر کوهورت کره ای تعیین شد.

مقدمه:

کاملاً ثابت شده است که تنوع ژنتیکی انسان برای درک بافت شناسی جمعیت، تنوع در حساسیت به بیماری، و پاسخ درمانی یا واکنش های نامطلوب به داروها



غزل قجری^۱

۱- کارشناسی ارشد سلولی مولکولی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران
پژوهشگر مرکز تحقیقات پزشکی شخصی آمیتیس ژن



طور کامل مشخص نشده است. روش‌های سنتی زمان بر و کار فشرده هستند و تعداد زیادی شرکت کننده مورد نیاز است.

مطالعه ژنوم و اپیدمیولوژی کره (KoGES) یک پروژه کنسرسیومی است که به عنوان یک مطالعه اپیدمیولوژیک ژنوم برای جامعه تحقیقاتی با پایگاه داده سلامت و بانک زیستی برای کمک به بررسی مطالعات مدل مبتنی بر جمعیت و ژن-محیط کره ایجاد شده است. از آنجایی که این مجموعه داده شامل مجموعه قابل توجهی از داده‌های SNV و CNV از نمونه‌های بافت طبیعی و خون است، KoGES برای مطالعات فارماکوژنومیک ترکیبی مناسب است. بنابراین، این مطالعه با هدف کشف SNV ها و CNV ها و بررسی تکرارهای همراه SNVs و CNV در فارماکوژن ها در جمعیت کره ای با استفاده از این مجموعه داده عمومی عظیم انجام شد.

مواد و روش‌ها:

نمونه‌های مورد مطالعه

نمونه‌های مورد مطالعه از مطالعه Ansan (N=5836) و Ansung (N=58701)، گروه Health Examinee (N = 58701)، و مطالعه انجمن بیماری‌های قلبی عروقی (N = 8105) انتخاب شدند که KoGES را تشکیل می‌دهد. داده‌های اپیدمیولوژیک توسط موسسه ملی بهداشت کره، مراکز کنترل و پیشگیری از بیماری‌های کره ارائه شده است. اطلاعات اجتماعی-دموگرافیک، تاریخچه پزشکی، وضعیت سلامت و سابقه خانوادگی بیماری توسط مصاحبه‌کنندگان آموزش دیده با استفاده از پرسشنامه‌های ساختاریافته جمع‌آوری شد. تمام معاینات فیزیکی توسط متخصصان بهداشتی که برای پیروی از پروتکل‌های استاندارد آموزش دیده بودند، انجام شد. شرکت کنندگانی که سرطان داشتند از آنالیز حذف شدند. همه افراد بالغ میانسال بین ۴۰ تا ۶۹ سال بودند. همه شرکت کنندگان در مطالعه رضایت آگاهانه کتبی ارائه کردند.

فارماکوژن‌ها

ژن‌های مرتبط با فارماکوژنومیک توسط خلاصه‌های فارماکوژن بسیار مهم در پایگاه دانش فارماکوژنومیک (از مارس ۲۰۲۰) و دستورالعمل کنسرسیوم اجرای

مهم است. SNVs گسترده‌ترین شکل بررسی شده از تغییرات ژنتیکی هستند و چندین SNV با حساسیت به بیماری و پاسخ دارویی مرتبط هستند. بنابراین، مطالعات genome-wide association (GWA) منجر به شناسایی چندین وریده‌ی ژنتیکی شده است که با ویژگی‌هایی مانند شاخص توده بدن، رنگ پوست، توزیع چربی و میزان فیلتراسیون گلومرولی، و با بیماری‌هایی مانند بیماری‌های خودایمنی و کبد چرب غیر الکلی مرتبط هستند.

علاوه بر این، این مارکرهای SNV از مطالعات GWA می‌توانند در تحقیقات فارماکوژنومیک به عنوان ابزاری برای پیش‌بینی مستقیم پاسخ‌های بین فردی به داروها استفاده شوند. تحقیقات با موفقیت لوکوس واریانت‌های ژنتیکی مرتبط با پاسخ به مهارکننده‌های فاکتور نکروز تومور، داروهای ضدافسردگی و داروهای ضد روان‌پریشی و با واکنش‌های نامطلوب ناشی از داروها، مانند سرکوب میلوپوئیزی ناشی از تیوپورین، میوپاتی ناشی از استاتین، و حساسیت بیش از حد ناشی از کاربامازپین را شناسایی کرده است. این تغییرات ژنتیکی ساختار و عملکرد پروتئین‌هایی مانند آنزیم‌های متابولیزه‌کننده دارو، انتقال‌دهنده‌های دارو، گیرنده‌ها و اهداف پاسخ را تغییر می‌دهند که در مجموع به عنوان فارماکوژن شناخته می‌شوند.

تخمین زده شد که تغییرات CNVs در حدود ۹.۵ درصد از ژنوم مرجع انسان رخ می‌دهد و دارای توزیع غیر تصادفی است. وقتی دو ژنوم انسانی با یکدیگر مقایسه می‌شوند، CNVها حداقل پنج برابر جفت‌های پایه متغیر در مقایسه با SNVها تشکیل می‌دهند. مانند SNVها، CNVها بر استعداد ابتلا به سرطان و همچنین بیماری‌های عصبی و بیماری‌های روانی تأثیر می‌گذارند. علیرغم اهمیت بالینی آنها، CNVها در مقایسه با SNVها مورد مطالعه قرار نگرفته‌اند. این ممکن است به این دلیل باشد که تشخیص CNVها دشوارتر است و CNVها فقط با فرکانس تکرارهای پایین تا متوسط رخ می‌دهند. با این حال، برای پیش‌بینی فنوتیپ‌ها و اجرای پزشکی دقیق، آنالیز ترکیبی از ژنوتیپ SNVs با CNVs مورد نیاز است. مطالعات متعددی برای شناسایی هر دو CNV و SNV در CYP2D6 انجام شده است. با این حال، اطلاعات CNV یکپارچه با پلی مورفیسم در فارماکوژن هنوز به

الگوریتم، آستانه‌های (thresholds) مختلف T، از ۳ تا ۸ را آزمایش کردیم. کشف CNV با چندین پارامتر برای یافتن بهترین پارامترها با استفاده از مناطق CNV شناخته شده آزمایش شد. در نتیجه، ما بهترین پارامتر را با تطابق بالا با مناطق شناخته شده CNV با $T = 4.5$ ، $\alpha = 0.2$ ، و $\text{MinSegLen} = 6$ انتخاب کردیم. مناطق CNV با طول بیشتر از 50 جفت باز برای آنالیز بیشتر گنجانده شدند. برش نسبت $\log 2 \pm 0.25$ برای تعریف افزایش و کاهش تعداد کپی و برش‌های ± 0.8 به ترتیب برای تعریف امپلیفیکیشن و حذف استفاده شد.

تحلیل داده‌ها

متغیرهای طبقه‌بندی شده مانند جنسیت و وقوع واریانت‌ها در درصد و فراوانی ارائه شده است. متغیرهای پیوسته مانند سن با تغییرات متوسط و استاندارد ارائه شده است. آزمون مربع کای با یک درجه آزادی برای آزمایش خروج از HWE برای هر واریانت استفاده شد. داده‌ها با PLINK ۱.۹ یا R (نسخه ۳.۶.۳) آنالیز شدند. تجزیه و تحلیل عدم تعادل پیوند بین جفت SNVs برای شناسایی هاپلوتیپ انجام شد. تخمین بلوک‌های هاپلوتیپ و فرکانس آنها با PLINK و Haploview انجام شد.

نتایج

ویژگی‌های جمعیت مورد مطالعه

برای مطالعه KCHIP، از میان مطالعه Ansan و HEXA ($N = 58701$)، Ansong ($N = 5493$) و CAVAS ($N = 8105$)، پس از حذف بیماران مبتلا به سرطان، ۵۱۸۲ نفر از افراد مورد مطالعه Ansan و ۵۵،۹۵۵ نفر از Ansong، ۷۸۹۰ نفر از HEXA و ۷۸۹۰ نفر از CAVAS باقی ماند. برای داده‌های ۹۴۵ CNV، ۶۱۴ بیمار مبتلا به سرطان باقی ماندند. از میان آنها، ۶۱۴ نفر دارای داده‌های SNV و CNV بودند. مشخصات افراد از داده‌های SNV و CNV در جدول ۱ ارائه شده است. میانگین سنی افراد دارای داده‌های SNV و CNV به ترتیب ۵۴/۰۸ و ۵۴/۰۵ سال بود. فراوانی افراد زن (۶۳.۷۸٪) در داده‌های SNV بیشتر از افراد مرد (۳۶.۲۲٪) بود، در حالی که فراوانی افراد زن (۴۹.۹۵٪) در داده‌های CNV مشابه افراد مرد (۵۰.۰۵٪) بود.

فارماکوژنتیک بالینی (CPIC) (از مارس ۲۰۲۰) انتخاب شدند. ژن‌های اعلامی از طرف سازمان غذا و داروی ایالات متحده (FDA) موجود در جدول بیومارکرهای فارماکوژنومیک در برچسب‌های دارو (از مارس ۲۰۲۰) گنجانده نیز شد. در مجموع ۱۹۱ ژن مورد آنالیز واقع شد و در فهرست قرار گرفتند.

جمع آوری داده‌ها و پیش پردازش

ژنوتیپ‌ها ($N = 72299$) و داده‌های ($N = 1000$) CNV توسط KCDC ارائه شد. این ژنوتیپ‌ها حاصل پروژه BioBank Array کره هستند که برای جمعیت کره بهینه شده است. یک آرایه KCHIP در مجموع شامل ۸۳۳۵۳۵ SNV برای کروموزوم‌های اتوزومی است. کیفیت داده کنترل شد و برای آنالیز همراه با داده‌های فاز ۳ ژنوم ۱۰۰۰ به عنوان پانل مرجع با استفاده از ShapeIT v2 و IMPUTE v2 استفاده شد. نرخ مفقود شدن SNV بیشتر از ۰.۰۵، SNVs با فرکانس آلی جزئی کمتر از ۰.۰۱، یا تعادل هاردی واینبرگ (HWE) با P کمتر از 10^{-6} بر اساس روش‌های کنترل کیفیت استاندارد حذف شدند. موقعیت SNV با استفاده از بسته Bioconductor BiomaRt R با ژنوم مرجع انسانی hg19 تراز شد. به ازای هر ژن، 10kb باز به هر دو ناحیه‌ی بالا دست و پایین دست محل تعیین شده ژن اضافه شد. داده‌های CNV هزار نفر از مطالعه Ansan و Ansong تهیه شد. ژنوتایپینگ داده‌های CNV با آرایه هیبریداسیون ژنومی مقایسه‌ای NimbleGen HD2 3 × 720 K (aCGH) (Roche NimbleGen، مدیسون، WI، ایالات متحده آمریکا) انجام شد. برای آنالیز ترکیبی ژنوتیپ‌ها و CNVs، واریانت‌های دوتایی ژن-دارو از CPIC برای اثرات بالینی آنها جستجو شد. اثرات عملکردی واریانت‌ها با استفاده از SIFT (Sorting Intolerance From Tolerant) POLYPHEN-2 (Polymorphism Phenotyping v2) پیش‌بینی شد.

کشف CNV

از زبان R که الگوریتم آنالیز تشخیص تغییر ژنوم (GADA) را پیاده‌سازی می‌کند برای کشف CNV استفاده شد. برای غلبه بر محدودیت تشخیص تک



جدول ۱: مشخصات دموگرافیک افراد مورد مطالعه:

ویژگی‌ها	SNV	CNV	ترکیب SNV با CNV
تعداد بیماران، n	69027	947	614
سن	54.08 ± 8.31	54.05 ± 9.08	52.82 ± 8.80
جنسیت	زن	474 (05/50)	311 (65/50)
	مرد	25004 (78/63)	303 (49.35)

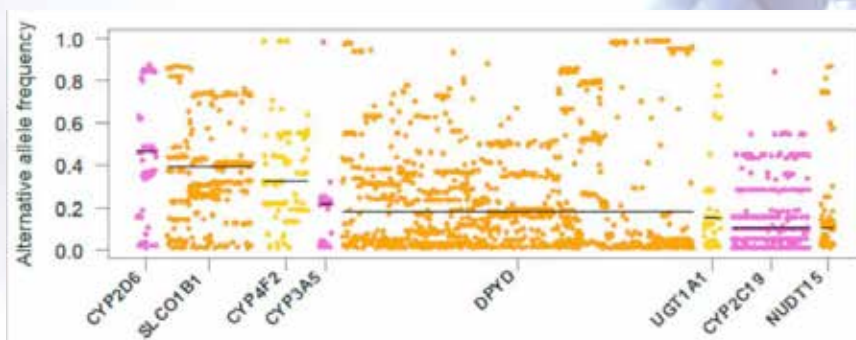
مقادیر به صورت n (%) یا میانگین ± انحراف استاندارد گزارش می‌شوند. SNV، تنوع تک نوکلئوتیدی. CNV، تنوع تعداد کپی.

ژنوتایپینگ واریانت‌ها:

در مجموع ۳۶۸۵۳ SNV در فارماکوژن‌ها برای آنالیز بیشتر گنجانده شد. تکرار آلی SNV‌های بیش از ۱۰٪ در جداول تکمیلی فهرست شده است. VKORC1 rs9923231 (G>A) (یا G3673A) رایج‌ترین آلی جایگزین (۹۲.۴۲٪) است. CYP2D6 rs1065852 (c.100C>T، p. P34S) آلی رایج بعدی (۴۸.۲۳٪) بود. فراوانی آلی CYP2C19*2 (rs4244285، c.681G>A، p.P227P) و CYP2C19*3 (rs4986893، c.636G>A، p.W212X) به ترتیب ۲۸.۲۹٪ و ۱۰٪ بود. فراوانی آلی CYP3A5*3 (rs776746، c.6986A>G) 23.47٪ و CYP4F2*3 (rs2108622، c.1297C>T، p.V433M) و CYP4F2*2 rs3093105 (c.34T>G، p. W12G) و به ترتیب ۳۲.۴۱٪ و ۱۳.۴۰٪ بودند. در میان SNV‌ها در فارماکوژن‌ها، آن‌هایی که توسط CPIC به عنوان

فارماکوژن‌های دارای شواهد سطح A از جفت ژن-دارو مشخص شدند، در شکل ۱ نشان داده شده‌اند. فراوانی آلی جایگزین میانه واریانت CYP2D6 بالاترین رتبه را داشت (۴۶.۱۷٪) در محدوده ۱۰٪ تا ۸۷.۳۴٪، و پس از آن واریانت SLCO1B1 (۳۹.۳۲٪) محدوده از ۱۰٪ تا ۸۶.۶۲٪ قرار گرفت. SNV‌هایی با تکرار کمتر از ۱۰٪ که همچنین دارای شواهد سطح A از جفت ژن-دارو توسط CPIC یا پیش‌بینی مضر بودن توسط SIFT و POLYPHEN-2 در جدول تکمیلی S3 فهرست شده‌اند. CACNA1S rs3850625 (c.4615G>A (p. R1539C) ، CFTR rs121909046 (c.650A>G، p. E217G) و rs113857788 (c.4056G>C p. Q13502H) و CYP2B6 rs192709 (c.64C>T، p. R22C) توسط SIFT مضر پیش‌بینی شد.

شکل ۱: مقادیر به صورت n (%) یا میانگین ± انحراف استاندارد گزارش می‌شوند. SNV، تنوع تک نوکلئوتیدی. CNV، تنوع تعداد کپی.

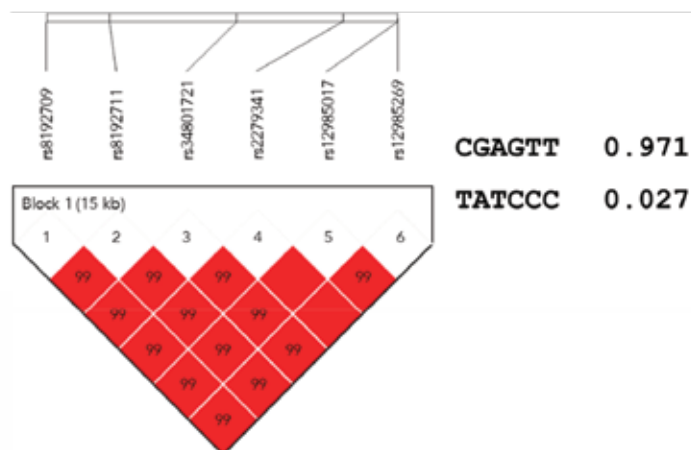


آنالیز هاپلوتیپ

توزیع فراوانی واریانت‌ها یا هاپلوتیپ‌ها به طور قابل توجهی در میان جمعیت‌های قومی متفاوت است. بنابراین، آنالیز هاپلوتیپ بر روی حدود ۱۸ ژن فارماکوژنومیک از ۷۳ جفت ژن-دارو با شواهد سطح A توسط CPIC انجام شد. در مجموع ۸۴۵۴ بلوک هاپلوتیپ در ۱۸ ژن تخمین زده شد و تعداد آنها از ۲ تا ۳۹۲۴ بلوک در هر ژن با میانگین ۴۳۷۸ متغیر

بود. CYP2B6 rs8192709 (c.64C>T, p. R22C) یک بلوک هاپلوتیپ با rs34801721، rs8192711 (G>A)، rs2279341 (G>C)، rs12985017 (T>C) و (A>T)، rs12985269 (T>C) ساخت (شکل ۲). بلوک هاپلوتیپ CYP2B6 در قفقازی‌ها با rs12985017، rs2279341 و rs12985269 ساخته شد. حاملان با هاپلوتیپ جایگزین T-A-T-C-C-C در ۳.۹۸٪ از این جمعیت مورد مطالعه یافت شد.

شکل ۲: نقشه بلوک هاپلوتیپ ساخته شده توسط تغییرات تک نوکلئوتیدی نامزد در CYP2B6. نکات: بلوک ۱ شامل rs8192709، rs12985017، rs2279341، rs34801721، rs8192711 و rs12985269 است. عدم تعادل پیوند بین دو SNP با r2 استاندارد شده (جعبه های قرمز) نشان داده می‌شود.



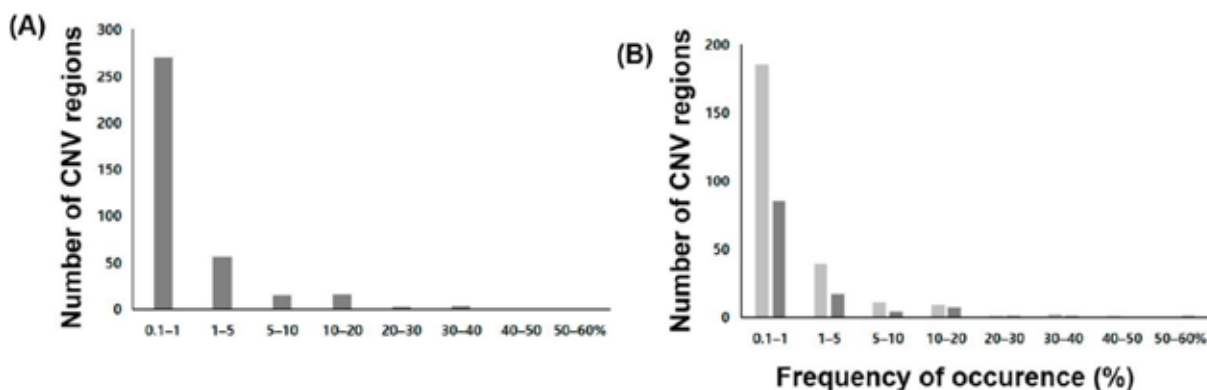


بالاترین فراوانی را برای از دست دادن ژن (۵۱.۸٪) دارا بود همچنین فراوانی حذف TPMT حدود ۳.۵۸٪ بود. افزایش ژن در (21.12%) KIT، (17.21%) G6PD، و (57.76%) OTC بود، در حالی که از دست دادن ژن در (15.31%) ABCB1، (19.01%) BCR، (20.27%) DMD، (41.39%) EGFR، (36.54%) HLA-B، (40.65%) HLA-DRB1، (21.44%) PDGFRA، و (19.75%) SULT1A1 با فراوانی بیش از ۱٪ وجود داشت. ژن‌ها با فراوانی کمتر از ۱٪ در جدول تکمیلی S4 فهرست شده‌اند. از دست دادن ژن ABCG2 و CYP2E1 در ۰.۶۳ درصد از افراد یافت شد، در حالی که افزایش ژن CYP2B6 در ۰.۲۱ درصد از افراد یافت شد.

نمایه سازی Copy Number Variation

از ۹۴۷ نفر، قطعاتی با بیش از ۱ CNV در ۹۳۷ نفر با استفاده از GADA مشاهده شد. در مجموع، ۴۴۸ قطعه در ۹۳۷ نفر با میانگین ۲۲.۵۸ تعداد کپی در هر فرد شناسایی شد. مناطق CNV بیش از ۵۰ جفت باز برای آنالیز بیشتر در نظر گرفته شدند. میانگین و میانه طول این نواحی CNV به ترتیب ۴/۲۹ و ۲/۲۱ کیلوباز بود. شکل ۳ توزیع ۳۳۳ ناحیه CNV را بر اساس نرخ تکرار نشان می‌دهد. از ۳۳۳ منطقه ۹۲ CNV منطقه دارای نرخ تکرار بیش از ۱٪ بودند. فراوانی CNV‌ها محاسبه شد و ژن‌های با فراوانی بیش از ۱٪ در جدول ۲ خلاصه شده است. DMD بالاترین فراوانی را برای افزایش ژن (۶۴.۵۲٪) داشت، در حالی که TPMT

شکل ۳: توزیع تکرارهای CNV برای مناطق CNV در جمعیت کره ای. (الف) تکرار نواحی CNV. (ب) تکرارهای CNV از مناطق CNV شناسایی شده، به افزایش یا کاهش CNV دسته بندی می‌شوند.



20.27	64.52	X: 31137345-33229673	DMD
41.39	2.32	7: 55086725-55275031	EGFR
1.48	0	6: 152128814-152424408	ESR1
0.42	17.21	X: 153759606-153775233	G6PD
36.54	0.42	6: 31237743-31324989	HLA-B
40.65	0.32	6: 32489683-32557613	HLA-DRB1
2.22	21.12	4: 55524095-55606881	KIT
0.42	57.76	X: 38211736-38280703	OTC
21.44	0.11	4: 55095264-55164412	PDGFRA
2.11	5.07	19: 38924340-39078204	RYR1
0.11	2.11	5: 70220768-70248842	SMN2
19.75	7.71	16: 28616908-28620649	SULT1A1
51.80	0	6: 18128545-18155374	TPMT

جدول ۲: CNV برای فارماکوژن‌ها با فراوانی بیش از ۱٪ در کره ای‌ها.			
ژن	موقعیت	افزایش تکرار (%)	کاهش تکرار (%)
ABCB1	7: 87133179-87342639	0.11	15.31
ALK	2: 29415640-30144477	6.12	1.06
ALOX5	10: 45869624-45941567	6.65	1.58
BCR	11: 23522552-23660224	0.11	19.01
BRCA	17: 41196312-41277500	2.22	2.64
COMT	19: 19929263-19957498	7.07	0.32
CYP2A6	19: 41349443-41356352	1.27	1.48
CYP4F2	19: 15988834-16008884	3.80	0.42

برای ۱۹۱ فارماکوژن، در مجموع ۳۶۸۵۳ نمونه SNV از ۶۹۰۲۷ نفر، ۳۳۳ نمونه CNV از ۹۴۷ نفر و داده‌های ترکیبی SNVs و CNV از ۶۱۴ نفر در این مطالعه در دسترس بود. مشخص شده است که G>A (G3673A)-1639G>A (SNV rs9923231) یا G3673A) محل اتصال فاکتور رونویسی را در ناحیه پروموتور VKORC1 تغییر می‌دهد، و این فراوانی آلل در آسیایی‌ها تقریباً ۰.۹۲ است که مشابه نتیجه این مطالعه بود. این وریته با کاهش بیان ژن همراه بود که منجر به کاهش نیاز به دوز وارفارین می‌شد. CYP2D6 rs1065852 کاهش نیاز به دوز وارفارین می‌شد. CYP2D6 rs1065852 (c.100C>T, p.P34S) شایع‌ترین آلل بعدی (۴۸.۲۳٪) بود و در آلل‌های *14A، *10، *4 و *36 با فعالیت آنزیمی کمتر در مقایسه با آلل وحشی دیده شد. این آنزیم تقریباً در متابولیسم ۲۵ درصد از داروهای معمول تجویز شده از جمله داروهای ضد افسردگی، ضد روان‌پریشی، داروهای ضد آریتمی، بتا بلوکرها و مواد افیونی نقش دارد. فراوانی آللی CYP2C19*2 و CYP2C19*3 در این مطالعه به ترتیب ۲۸.۲۹٪ و ۱۰.۰۴٪ بود، مشابه یافته‌های قبلی، و نشان می‌دهد که داده‌های ژنومی از مطالعه KoGES برای مطالعات فارماکوژنومیک در کره مناسب است. این از دست دادن آلل‌های عملکردی CYP2C19 می‌تواند خطر حوادث قلبی عروقی جدی را در بین بیماران تحت درمان با کلوییدوگرل افزایش دهد.

در این مطالعه، rs3850625 CACNA1S و CFTR rs121909046 و rs113857788 توسط SIFT مضر پیش‌بینی شد. CACNA1S rs3850625 با هیپرترمی بدخیم همراه بود که توسط داروهای بی‌حس‌کننده استنشاقی و شل‌کننده‌های عضلانی تسریع می‌شد. مشخص شد که این دو گونه در ژن CFTR قوی‌ترین ارتباط را با برونشکتازی و پانکراتیت مزمن در جمعیت کره ای دارند. بر اساس آنالیز هاپلوتیپ، بلوک هاپلوتیپ CYP2B6*2 (rs8192709) ساخته شد و تکرار مربوطه در این مطالعه ۳.۹۸ بود. تقریباً ۳.۴ درصد از واریانت‌های CYP2B6*2 در چینی‌های هان و اویغور یافت شد. اگرچه سطح شواهد برای تفسیرهای بالینی CYP2B6*2 کمتر از آلل CYP2B6*6 طبق CPIC بود، اما این آلل جزئی به عنوان کاهش کلیرانس متادون یا افویرنز شناخته شده است. فعالیت چندین ژن مهم متابولیزه‌کننده دارو، مانند GSTM1، CYP2E1، CYP2D6، CYP2B6 و SULT1A1 به تعداد CN مرتبط است. در این مطالعه، CNV‌های

۳.۵. ترکیبی ژنوتایپینگ واریانت‌های و CNVs

در مجموع ۲۲ ژن فارماکوژن از ۷۳ جفت ژن-دارو با شواهد سطح A توسط CPIC برای آنالیز ترکیبی SNVs و CNVs در ۶۱۴ نفر انتخاب شدند. CYP4F2*1*3 (۲۴.۴۳٪) شایع‌ترین دیپلوتیپ CYP4F2 و سپس CYP4F2*2*3 (۱۸.۵۷٪) بود (جدول ۳). در میان افزایش CYP4F2 مشاهده شده در ۲۲ نفر، ۱۳ نفر حامل افزایش CYP4F2*3 بودند. فراوانی از دست دادن CYP4F2 حدود ۰.۴۹٪ بود. در مورد TPMT، تقریباً نیمی از شرکت‌کنندگان (N = ۳۰۸) دیپلوتیپ TPMT*1*1 را از دست دادند.

جدول ۳: ترکیب CNV با واریانت‌های تک نوکلئوتیدی در کره ای ها (N = 614).

آلل	تعداد نمونه (N)	تکرار (%)
CYP4F2*1*1	285	42.02
CYP4F2*1*2	1	0.16
CYP4F2*1*3	150	24.43
CYP4F2*3*3	22	3.58
CYP4F2*2*3	114	18.57
CYP4F2*1*2*3*3	31	5.05
CYP4F2*2*2*3*3	13	2.12
CYP4F2*1*1 gain	9	1.47
CYP4F2*1*3 gain	6	0.98
CYP4F2*2*3 gain	6	0.98
CYP4F2*3*3 gain	1	0.16
CYP4F2*1*1 loss	2	0.33
CYP4F2*2*3 loss	1	0.16
TPMT*1*1	287	46.74
TPMT*1*3C	8	1.30
TPMT*1*1 loss	308	50.16
TPMT*1*3C loss	11	1.79

بحث:

مطالعات فارماکوژنومیک یک جزء حیاتی از پزشکی دقیق را نشان می‌دهد. در مقایسه با SNV، CNV‌ها یا مطالعه ترکیبی SNV و CNV، همگی نسبتاً کمتر مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. با توجه به داده‌های SNV یا CNV از تحقیقات اپیدمیولوژیک ژنوم، KoGES در کره می‌تواند برای مطالعات فارماکوژنومیک استفاده شود. هدف از این مطالعه کشف SNVs و CNVs و بررسی تکرارهای ترکیبی SNVs و CNVs در فارماکوژن‌ها در کره با استفاده از KoGES بود.



افزایش یا از دست دادن ژن را در این ژن‌ها نشان دادند، تأثیرات بالینی مربوطه باید در هنگام تجویز داروهای مرتبط با این ژن‌ها در نظر گرفته شود.

محدودیت این مطالعه این بود که فراوانی CNV برخی از ژن‌ها با مطالعات قبلی متفاوت بود. این تفاوت ممکن است ناشی از روش‌های مختلف سنجش باشد. روش‌های مختلفی برای تعیین CNV ژن‌ها وجود دارد و هر روش دارای مزایا و مشکلاتی است. روش‌های CGH array و SNP array و CNV array برای اسکن‌های اولیه در ادامه مطالعه SNP GWA عالی هستند، و سایر روش‌های مبتنی بر PCR مانند امپلیفیکیشن multiplex ligation-dependent probe (MLPA) برای CNV array و ژنوتیپ استفاده می‌شوند. KCHIP array حاوی SNV برای کروموزوم‌های جنسی نیست، به این معنی که فارماکوژن‌هایی مانند DMD و G6PD نمی‌توانند در آنالیز ترکیب‌های واریانت‌های ژنوتیپ و CNV لحاظ شوند. محدودیت دیگر در مطالعه این بود که به دلیل روش سنجش مورد استفاده در این مطالعه، نمی‌توان آل‌های کاذب، تبدیلی یا پشت سر هم هیبریدی را تعیین کرد. علاوه بر این، از آنجایی که افراد مبتلا به بیماری‌های پیچیده رایج مانند دیابت، فشار خون بالا و بیماری‌های قلبی عروقی از مطالعه خارج نشدند، این امر می‌تواند بر نتایج این مطالعه تأثیر بگذارد. مطالعات بیشتر با توجه به ارزیابی تغییرات عملکردی و تعیین‌های مرتبط برای مدیریت مؤثرتر بیماران مورد نیاز است.

پروژه ۱۰۰۰ ژنوم و پروژه دایره المعارف عناصر DNA نقشه‌های جامعی را تهیه کردند که مناطق ژنوم انسان حاوی SNV، واریانت‌های چند نوکلئوتیدی و CNV را مشخص می‌کرد. با این حال، آنالیز ترکیبی SNVs با CNVs در مطالعات فارماکوژنتیک محدود است. در اینجا، ما یک آنالیز ترکیبی از SNVs با CNVs در فارماکوژن‌ها در کره ای‌ها انجام دادیم.

در نتیجه، تکرارهای SNVs و CNVs در فارماکوژن‌ها با استفاده از یک مطالعه GWA مبتنی بر کوهورت کره‌ای تعیین شد. اگرچه ارزیابی‌های بیشتر همبستگی با تغییرات فنوتیپ ضروری است، نتایج در اینجا ممکن است برای شناسایی علل ژنتیکی مواردی که شامل سمیت شدید ناشی از دارو یا کاهش مزایای درمانی یک دارو هستند، مفید باشد.

منبع:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33430289/>

SULT1A1 و CYP2B6، CYP2E1 شناسایی شدند، در حالی که داده‌های CNV از KoGES ژن‌های CYP2D6 و GSTM1 را پوشش نمی‌دهند. بر این اساس، روش‌های جایگزین در طول آنالیز CNV برای شناسایی آن ژن‌ها مورد نیاز است.

ژن DMD که بیشترین فراوانی را از نظر افزایش CN در مطالعه پیدا کرد، بزرگترین ژن در ژنوم انسان است که ۲.۲ مگاباز را در بر می‌گیرد و یک پروتئین عضلانی، دیستروفین را کد می‌کند، که مربوط به اختلال مغلوب مرتبط با X است (دیستروفی عضلانی دوشن و دیستروفی عضلانی بکر). حذف‌ها یا بازآرایی‌های پیچیده معمولاً بین اگزون‌های ۴۳ و ۵۵ یا اگزون‌های ۲ و ۲۳ رخ می‌دهد. اکثر ناقلان دارای جهش یا حذف ژن DMD بدون علامت هستند. ۱۱۷ حذف مختلف و ۴۸ تکرار در ژن DMD در ۵۰۷ بیمار کره ای مبتلا به دیستروفی عضلانی دوشن یا دیستروفی عضلانی بکر یافت شد. در اینجا از نظر فراوانی از دست دادن ژن، TPMT بالاترین رتبه را با ۳.۵۸٪ در نتایج دارد. این به احتمال زیاد به دلیل تعداد متغیر تکرارهای پشت سر هم (VNTR) فدر یک منطقه غنی از G/C در پروموتور TPMT است. فراوانی آل‌ VNTR، متشکل از دو موتیف توالی تکرار A، یک موتیف B، و یک موتیف C، در یک گروه بریتانیایی آسیایی ۴۸.۲٪ گزارش شد. الگوها و تعداد کل آل‌های VNTR با سطح فعالیت TPMT مرتبط بود. ژن TPMT کدکننده تیوپورین S-متیل ترانسفراز یک آنزیم حیاتی در طول متابولیسم داروهای تیوپورین مانند آزاتیوپورین و ۶-مرکاپتوپورین است.

در مرحله بعد، داده‌های CNV با SNV برای فارماکوژن‌ها ترکیب شدند. تکرار از دست رفتن TPMT*3C (rs1142345, c.A19G, p.Y240C) ۱.۷۹٪ مشخص شد که واریانت TPMT*3C، با فعالیت متوسط، رایج‌ترین آل‌ جایگزین در کره‌ای‌ها است و کمبود TPMT می‌تواند خطرات برخی از عوارض جانبی کشنده مانند سمیت مغز استخوان و سرکوب میلوپوکوپه ناشی از ۶-mercaptopurine را افزایش دهد. لکوپنی مرتبط با تیوپورین (بیش از ۳٪) با توجه به فراوانی وریده‌ی (۱٪) TPMT در کره‌ای‌های مبتلا به بیماری کرون به طور قابل توجهی بالاتر از حد انتظار بود. این نتیجه ممکن است مربوط به تنوع تعداد کپی در ژن TPMT باشد. علیرغم این واقعیت که کمتر از ۵ درصد نمونه‌ها