

DOI: 10.26693/jmbs05.01.210

УДК 577.151:575.174.015.3:616.853–056.7

<sup>1</sup>Танцура Л. М., <sup>1</sup>Пилипець О. Ю., <sup>2</sup>

Танцура Є. О., <sup>1</sup>Третьяков Д. В.

## ДОСЛІДЖЕННЯ ЗВ'ЯЗКУ ПОЛІМОРФІЗМІВ ГЕНІВ СИСТЕМИ ЦИТОХРОМУ P450 ТА ПЕРЕБІГУ РЕЗИСТЕНТНИХ ЕПІЛЕПСІЙ У ДІТЕЙ (КЛІНІКО-ФАРМАКОГЕНЕТИЧНЕ СПІВСТАВЛЕННЯ)

<sup>1</sup>ДУ «Інститут неврології, психіатрії та наркології НАМН України»  
відділ дитячої психоневрології та пароксизмальних станів, Харків, Україна

<sup>2</sup>Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна,  
відділення сімейної медицини, Україна

peya\_71@ukr.net

Було проведено дослідження частоти поліморфізмів генів системи цитохромів P450 CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4 у дітей з резистентними формами епілепсій та клініко-фармакогенетичні співставлення.

Комплексно обстежено 116 дітей з істинно резистентними епілепсіями віком від 11 місяців до 18 років (хлопчиків – 67, дівчаток – 49). Тривалість захворювання на епілепсію у дітей коливалася від 7 місяців до 17 років, вік дебюту епілепсії – від кількох днів від народження до 13 років.

Нами досліджувалося носійство наступних алелей: CYP2C9\*1, CYP2C9\*2, CYP2C9\*3, CYP2C19\*1, CYP2C19\*2, CYP2C19\*3, CYP3A4\*1, CYP3A4\*1B. Наявність генних поліморфізмів встановлено у 75 дітей (64,65%), при цьому ізольовані поліморфізми CYP3A4 – у 5 дітей (4,31%), CYP2C9 – у 17 дітей (14,65%), CYP2C19 – у 39 дітей – 33,62% загальної групи. В 14 випадках (12,06%) було встановлено поєднання кількох генних поліморфізмів у однієї дитини.

У процесі спостереження зафіксовано феномен «немотивованої» втрати контролю надпадів (без впливу будь-яких провокуючих чинників). Представлено клінічні приклади, що ілюструють цей феномен.

Проведено співставлення за низкою клінічних та параклінічних показників між групою дітей з встановленими генними мутаціями та без них.

Сформовані групи не відрізнялися за такими показниками як вік, гендерний склад, частота і типи надпадів, взагалі за більшістю показників достовірних відмінностей виявлено не було. Однак, достовірно частіше ( $p < 0,05$ ) в групі пацієнтів з виявленими поліморфізмами генів, порівняно з групою без генних мутацій, спостерігалися сторонні ефекти терапії, при чому це стосується саме таких показ-

ників як тяжкі сторонні ефекти і агравація надпадів, випадків, коли йшлося не тільки про скасування антиепілептичних препаратів, що викликав небажану сторонню реакцію, а й про надання пацієнтам допомоги в умовах стаціонару. Феномен «немотивованої» втрати контролю надпадів у пацієнтів з встановленими генними мутаціями також спостерігався частіше ( $p < 0,05$ ). Різниця між групами за частотою нетяжких сторонніх ефектів виявилася недостовірною ( $p > 0,05$ ).

Визначені відмінності є аргументом на користь ролі досліджуваних генних поліморфізмів в метаболізмі антиепілептичних препаратів, яка клінічно реалізується (через нестабільність, коливання концентрацій антиепілептичних препаратів) у вигляді сторонніх ефектів, насамперед, тяжких, і втрати контролю надпадів, не пов'язаної з зовнішніми чинниками.

Показано, що пацієнтам з епілепсіями за наявності поліморфізмів генів системи цитохрому P450 необхідно проводити: більш часті, порівняно з дітьми з відсутністю поліморфізмів, клінічні огляди та електроенцефалографічний контроль; детальне опитування пацієнтів та їх батьків і родичів щодо повторення надпадів та/або «нових» видів епілептичних пароксизмів; обов'язкову корекцію антиепілептичної терапії за умови виявлення негативної динаміки електроенцефалографічних показників (особливо – появи типових епілептичних патернів у пацієнтів з попередньо досягнутою нормалізацією електроенцефалографічної картини) навіть за відсутності клініки будь-яких пароксизмальних розладів.

**Ключові слова:** діти, резистентні епілепсії, поліморфізми генів, цитохром P450.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дослідження є фрагментом

НДР «Визначити значення поліморфізму генів системи цитохромів P450 в механізмах виникнення фармакорезистентних форм епілепсій у дітей, оптимізувати підходи до діагностики та лікування», № держ. реєстрації 0117U003074. Шифр НАМН.ПГ.9Ф.17.

**Вступ.** Одним з питань дитячої епілептології, що незмінно залишається актуальним та дискусійним, є питання ремісії нападів та ремісії епілепсії як захворювання. При цьому є остаточно не визначеними як дефініції самого поняття «ремісія епілепсії», так і підходи до прогнозування перебігу захворювання з точки зору стійкості досягнутої компенсації та роль різних чинників у втраті контролю нападів [1, 2].

Особливої гостроти ці питання набувають у випадках резистентних до терапії епілепсій, коли досягнення ремісії є надзвичайно складним, підбір ефективною та безпечною протиепілептичною терапії часто триває роками і потребує неабияких зусиль як з боку лікаря-епілептолога, так і з боку родини, в якій є дитина з епілепсією. При цьому зрив ремісії, крім несприятливого клінічного значення, має значний негативний соціально-психологічний вплив.

Більшістю авторів серед чинників, які призводять до зривів компенсації епілепсій, провідними вважаються наступні: 1) порушення загального та медикаментозного режиму, в тому числі – швидке скасування препаратів та/або зміна терапевтичної схеми; 2) невідповідність дози препарату вазі дитини, особливо в період активного росту; 3) декомпенсація епілептичного ураження; 4) повторні епілептогенні впливи: черепно-мозкові травми, нейроінфекції та інші; 5) загальні інфекції та соматичні захворювання; 6) ендокринні причини, пов'язані з пубертатом та вагітністю; 7) поява ознак непереносимості того чи іншого протиепілептичного засобу зі скасуванням останнього та, відповідно, зі зміною програми медикаментозного лікування [3, 4, 5, 6].

Однак в практичній роботі часто виникають клінічні ситуації, в яких втрата контролю нападів стається «без будь-яких причин» і не може бути пояснена жодним з перерахованих вище або іншими чинниками. В якості одного з факторів ризику декомпенсації епілепсії може розглядатися недосконалість метаболізму антиепілептичних препаратів (АЕП), перш за все – генетично обумовлена, а саме – генний поліморфізм, який впливає на фармакокінетику та фармакодинаміку АЕП [7, 8].

Основними генами-кандидатами в категорію генів, що кодують ферменти метаболізму ліків, є ті, що кодують різні ферменти системи цитохрому P450 (CYP450), які забезпечують першу фазу метаболізму АЕП. Щонайменше вісім ізоферментів беруть участь у метаболізмі АЕП [9, 10]. Наявність

функціональних поліморфізмів відповідних генів, що лежать в основі алельних змін, може призводити до змін концентрації АЕП у плазмі крові, зниженню їх ефективності та/або виникненню небажаних ефектів лікарських засобів [11, 12].

Знання про роль певних поліморфізмів в метаболізмі різних АЕП постійно оновлюються в зв'язку з продовженням та поглибленням досліджень в цьому напрямку, на теперішній час найбільш важливими для метаболізму АЕП вважаються ферменти CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A3, CYP3A4. Велика кількість робіт присвячена аналізу у пацієнтів з епілепсіями поліморфізмів генів CYP2C9, CYP2C19 та CYP3A4, які мають значення: CYP2C9 – в обміні вальпроатів, фенітоїну, барбітуратів; CYP2C19 – вальпроатів, фенітоїну, фенобарбіталу, зонісаміду, клобазаму, фелбамату; CYP3A4 – карбамазепіну, етосукциміду, топірамаму, клоназепаму, клобазаму, зонісаміду [13–21].

Гіпотеза про наявність зв'язку між поліморфізмами генів системи цитохромів P450 та перебігом резистентних епілепсій у дітей (перш за все, з втратою досягнутого контролю нападів) обумовила мету даної роботи.

**Мета дослідження.** Дослідити частоту поліморфізмів генів системи цитохромів P450 CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4 у дітей з резистентними формами епілепсій та провести клініко-фармакогенетичні співставлення.

**Матеріал та методи дослідження.** Було обстежено 116 дитини віком від 11 місяців до 18 років (хлопчиків – 67, дівчаток – 49).

Всі пацієнти спостерігалися співробітниками відділу (термін спостереження пацієнтів до моменту їх включення в дослідження становив від 3 місяців до 16 років), комплексне обстеження пацієнтів проводилося під час їх стаціонарного лікування в клініці ДУ «Інститут неврології, психіатрії та наркології НАМН України». В подальшому проводилися регулярні планові комплексні огляди з метою оцінки динаміки перебігу захворювання.

Дослідження виконані з дотриманням основних положень «Правил етичних принципів проведення наукових медичних досліджень за участю людини», затверджених Гельсінською декларацією (1964-2013 рр.), ICH GCP (1996 р.), Директиви ЄЕС № 609 (від 24.11.1986 р.), наказів МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р., № 944 від 14.12.2009 р., № 616 від 03.08.2012 р. Батьки або родичі кожного пацієнта підписували інформовану згоду на участь у дослідженні, і були вжиті всі заходи для забезпечення анонімності пацієнтів.

В роботі було використано наступні **методи**: клініко-анамнестичний; клініко-неврологічний; клініко-психопатологічний; нейрофізіологічний –

електроенцефалографічний (ЕЕГ) з використанням рутинного запису з функціональними навантаженнями, ЕЕГ після депривації нічного сну, тривалого моніторингу та відеомоніторингу ЕЕГ, моніторингу ЕЕГ під час нічного та/або денного сну; методи нейровізуалізації (ядерно-магнітно-резонансна томографія головного мозку); генетичний (алельспецифічна полімеразно-ланцюгова реакція); методи математичної статистики (аналіз достовірності відмінностей за низкою показників між групами пацієнтів проводився з використанням критерію  $\chi$ -квадрат, різницю вважали достовірною при  $p < 0,05$ ).

Використання даних методів було схвалено на засіданні комісії з питань етики та деонтології при ДУ «Інститут неврології, психіатрії та наркології НАМН України».

**Результати дослідження.** Тривалість захворювання на епілепсію у дітей коливалася від 7 місяців до 17 років, переважали пацієнти з тривалістю хвороби більше 2 років – 31,89% та більше 5 років – 43,96%. Вік дебюту епілепсії коливався від кількох днів від народження до 13 років, при цьому в 39 випадках (33,62%) перші напади було діагностовано у віці до 1 року. Щодо форм захворювання, то у 108 дітей (93,10%) було встановлено симптоматичну форму епілепсії, у 7 (6,03%) – криптогенну і лише у 1 (0,86%) – ідіопатичну. В структурі типів епілептичних нападів переважали фокальні – 27 дітей (23,28%) та фокальні в поєднанні з вторинно-генералізованими – 77 дітей (66,38%), у 8 дітей (6,82%) спостерігалися поліморфні напади, в 4 випадках (3,45%) встановлено діагноз синдрому Веста, в 3 (2,58%) – синдрому Ленекса-Гасто, в 1 (0,86%) – дитячої абсанс-епілепсії.

Детально аналізувалися етіологічні чинники симптоматичних епілепсій, особливості неврологічного та психічного статусу пацієнтів, структурні зміни речовини головного мозку за даними ЯМРТ, електроенцефалографічні характеристики в процесі динамічного спостереження. Враховуючи мету дослідження, особливу увагу було приділено аналізу фармакотерапії обстежуваних дітей, з оцінкою наступних показників: відповідь на перший призначений АЕП, кількість спроб антиепілептичної терапії на момент включення в дослідження, АЕП, які отримували пацієнти протягом захворювання та їх кількість в схемі лікування на теперішній час, ефективність протиепілептичної терапії, чинники (ятрогенні та пов'язані з порушеннями комплайенсу), що могли призвести до формування резистентності захворювання, сторонні ефекти терапії АЕП з визначенням їх тяжкості.

В процесі динамічного спостереження за пацієнтами та при ретельному дослідженні анамнестич-

них даних нами були відмічено своєрідний феномен.

Він полягав в тому, що після досягнення контролю нападів, яка супроводжувалася значними позитивними змінами електроенцефалографічних показників, а в деяких випадках – навіть практичною нормалізацією ЕЕГ-картини, за певний час (від 1,5–2 місяців до 1 року), напади відновлювалися, з тією ж частотою та структурою, або навіть з появою більш тяжких чи «нових» варіантів нападів. Подібний феномен був чітко зафіксований нами у 34 обстежених (29,31%). При цьому враховувалися лише випадки, коли втрата контролю нападів відбувалася за відсутності будь-яких провокацій (супутні захворювання, порушення режиму прийому та дозування та інших), тобто на тлі «повного благополуччя».

Всім 116 пацієнтам було проведено генетичне дослідження. Вибір алелей для вивчення базувався на даних літературних джерел про роль саме цих поліморфізмів в метаболізмі АЕП, популяційних даних щодо їх поширеності в різних регіонах та країнах світу як серед здорових добровольців, так і у пацієнтів з епілепсіями, нами досліджувалося носійство наступних алелей: *CYP2C9\*1*, *CYP2C9\*2*, *CYP2C9\*3*, *CYP2C19\*1*, *CYP2C19\*2*, *CYP2C19\*3*, *CYP3A4\*1*, *CYP3A4\*1B*.

Результати фармакогенетичного дослідження наведено в таблиці 1.

**Таблиця 1** – Частота досліджуваних поліморфізмів генів у дітей (N=116)

Досліджувані гени	Абсолютна кількість	%
<i>CYP3A4</i>	5	4,31
<i>CYP2C9</i>	17	14,65
<i>CYP2C19</i>	39	33,62
Комбінації генів	14	12,06
Всього	75	64,65

З метою визначення можливих особливостей клінічних, клініко-анамнестичних характеристик, перебігу епілепсій в залежності від результатів фармакогенетичного дослідження, пацієнти були розподілені на дві групи. До першої групи увійшло 75 дітей з встановленими генними мутаціями. Другу групу складала 41 дитина, у яких при фармакогенетичному дослідженні мутантних алелей виявлено не було.

Порівняльний аналіз груп проводився за всіма досліджуваними показниками, які були означені вище.

Сформовані групи не відрізнялися за такими показниками як вік, гендерний склад, частота і типи нападів, взагалі за більшістю показників достовірних відмінностей виявлено не було.

Однак, за такими аспектами як: небажані сторонні ефекти антиепілептичної терапії, в тому числі – агравація нападів та феномен «немотивованої» втрати контролю над нападів, встановлені статистично значущі відмінності між групами.

Результати співставлення цих показників між пацієнтами обстежуваних груп представлено в таблиці 2.

Таким чином, достовірно частіше ( $p < 0,05$ ) в групі пацієнтів з виявленими поліморфізмами генів, порівняно з групою без генних мутацій, спостерігалися сторонні ефекти терапії, при чому це стосується саме таких показників як тяжкі сторонні ефекти і агравація нападів, випадків, коли йшлося не тільки про скасування АЕП, що викликав небажану сторонню реакцію, а й про надання пацієнтам допомоги в умовах стаціонару. Феномен «немотивованої» втрати контролю над нападів, своєрідного «зісковзування», у пацієнтів з встановленими генними мутаціями також спостерігався частіше ( $p < 0,05$ ). Різниця між групами за частотою нетяжких сторонніх ефектів виявилася недостовірною ( $p > 0,05$ ).

Визначені відмінності є аргументом на користь ролі досліджуваних генних поліморфізмів в метаболізмі АЕП, які клінічно реалізуються (через нестабільність, коливання концентрацій АЕП) у вигляді сторонніх ефектів, насамперед, тяжких, і втрати контролю над нападів, не пов'язаної з зовнішніми чинниками.

Наведені нижче клінічні приклади ілюструють особливості перебігу захворювання у дітей з поліморфізмами генів системи цитохрому Р450.

**Клінічний приклад 1.** Дитина Микола Д., 8 років.

Діагноз: Симптоматична епілепсія (фокальні та вторинно-генералізовані напади), лікворно-гіпертензійний синдром внаслідок перенесеної черепно-мозкової травми. За даними ЯМРТ-дослідження головного мозку: МР-ознаки кистозно-гліозної трансформації правої тім'яної долі постконтузійного характеру. Антиепілептична терапія: карбамазепін в добовій дозі 20 мг/кг маси тіла. При фармакогенетичному дослідженні визначено наяв-

ність алелі CYP3A4\* 1В (можливий вплив на метаболізм карбамазепіну).

Було досягнуто контроль нападів, ремісія становила 7 місяців. Картина ЕЕГ на етапі виписки з відділення, де пацієнт знаходився задля підбору лікування, представлена на рис. 1.

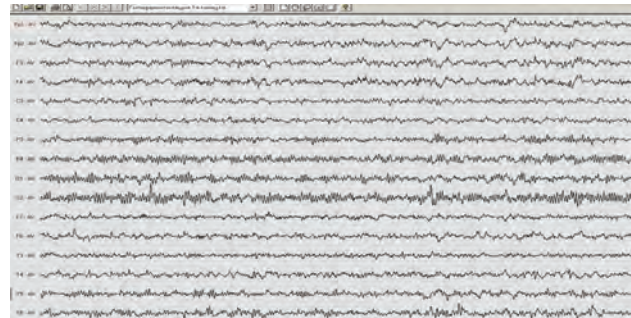


Рис. 1. ЕЕГ пацієнта Миколи Д. на момент досягнення контролю над нападів

На представленому фрагменті дані біоелектричної активності без значущих патологічних проявів.

При контрольному огляді через 3 місяці за відсутності будь-яких пароксизмальних клінічних проявів, зміни ваги дитини та будь-яких провокуючих чинників було зафіксовано наступні показники ЕЕГ (рис. 2).

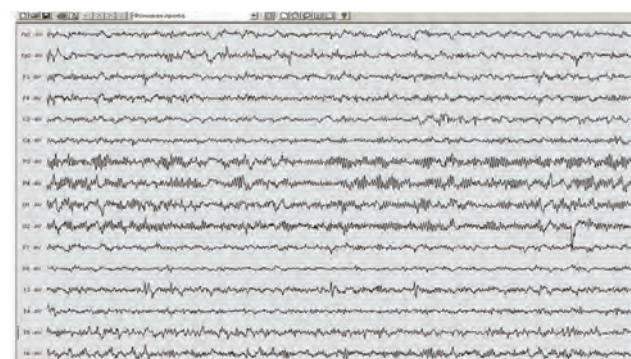


Рис. 2. ЕЕГ дитини Миколи Д. на контрольному огляді

Зафіксовано типову епілептичну активність у вигляді частих комплексів пік-хвиля в лівому скроневому відведенні, як на фоновому запису, так і на тлі функціональних навантажень.

Таблиця 2 – Сторонні ефекти терапії та особливості перебігу епілепсії у пацієнтів обстежуваних груп (N=116)

Показник	Пацієнти з генними мутаціями (N=75)		Пацієнти без генних мутацій (N=41)		Достовірність відмінностей
	абс. кількість	%	абс. кількість	%	
Небажані сторонні явища (всього)	46	61,33	13	31,70	$p < 0,05$
Небажані сторонні явища – тяжкі	39	52,00	6	14,63	$p < 0,05$
Небажані сторонні явища – нетяжкі	7	9,33	7	17,07	$p > 0,05$
Агравація нападів	18	24,00	3	7,31	$p < 0,05$
«Немотивована» втрата контролю над нападів	29	38,66	5	12,19	$p < 0,05$

За даними повторного ЯМРТ-дослідження головного мозку – зберігаються МР-ознаки кистозно-гліозної трансформації правої тім'яної долі постконтузійного характеру, без змін відносно попереднього дослідження. Було прийнято рішення про корекцію дози АЕП – доза карбамазепіна збільшена до 23 мг/кг маси тіла на добу. Однак, через 1,5 місяці з інтервалом у 2 тижні у дитини було зафіксовано 2 типові фокальні епілептичні напади (клінічна картина відмінна від попередньої). Проведено подальшу корекцію дози – на теперішній час доза карбамазепіну становить 25 мг/кг маси тіла на добу, загальний стан задовільний, контроль нападів становить 1 рік. Досягнуто стабілізацію показників ЕЕГ (рис. 3).

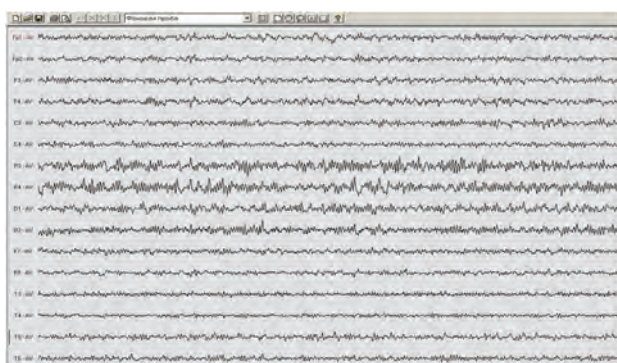


Рис. 3. ЕЕГ дитини Миколи Д. після корекції терапії

**Клінічний приклад 2.** Дитина Арина Л., 5 років.

Діагноз: Туберозний склероз – симптоматична епілепсія, часті фокальні напади, серійний перебіг, затримка темпів психомовного розвитку, гіпердинамічний, лікворно-гіпертензійний синдроми.

За даними ЯМРТ-дослідження головного мозку: на серії отриманих томограм визначаються множинні дрібні вузли у вигляді гамартом до 5 мм в діаметрі, локалізовані на стінках бокових шлуночків субependімально та поодинокий аналогічний вузол в коркових парасагітальних відділах лівої тім'яної долі. Описані субependімальні вузли та корковий вузол вказаної локалізації характерні для туберозного склерозу.

Контроль нападів досягнуто на тлі прийому комбінації АЕП:

- вальпроєва кислота в добовій дозі 20 мг/кг маси тіла;
- карбамазепін в добовій дозі 20 мг/кг маси тіла;
- леветірацетам в добовій дозі 45 мг/кг маси тіла.

За даними фармакогенетичного дослідження встановлено наявність поліморфізмів генів *CYP2C19* та *CYP3A4* (можливий вплив на метаболізм вальпроату та карбамазепіну).

Ремісія нападів становила близько 1,5 року. Спостерігалася значна позитивна динаміка з боку моторного та психомовного розвитку дитини, нормалізація поведінки. Було досягнуто нормалізацію показників ЕЕГ (рис. 4).

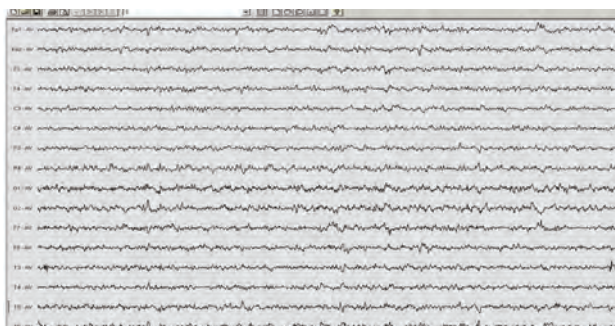


Рис. 4. ЕЕГ Арини Л. на етапі досягнення контролю нападів

При черговому контрольному візиті, проведеному за 4 місяці, при цьому вага дитини стабільна, про інтеркурентні захворювання не повідомляється, виявлено значну негативну динаміку ЕЕГ (рис. 5).

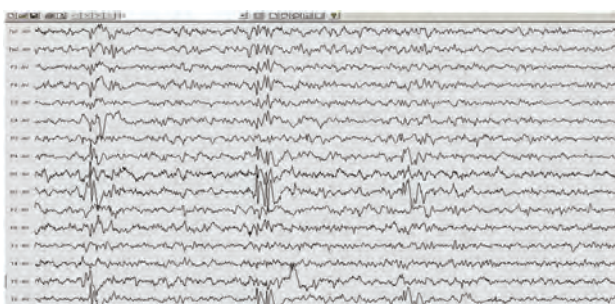


Рис. 5. ЕЕГ Арини Л. при контрольному обстеженні

Зафіксовано типову епілептичну активність у вигляді комплексів пік-хвиля, пік-повільна хвиля з акцентом в правих відведеннях (переважно скроня-потилиця).

При повторному детальному опитуванні матері було з'ясовано, що протягом останніх 2,5-3 тижнів у дівчини значно нарости поведінкові розлади – підвищена збудливість, «істерики», а також з'явилися епізоди раптового сміху тривалістю до кількох хвилин, практично не пов'язані з обставинами та ситуацією. В контексті з анамнестичними та ЕЕГ-даними вищеописані епізоди сміху розцінені як фокальні епілептичні напади.

З урахуванням етіології епілепсії (туберозний склероз), проведено повторне ЯМРТ-дослідження головного мозку, негативної динаміки вогнищевих змін речовини головного мозку не виявлено.

В плані корекції антиепілептичної терапії – збільшено дозу карбамазепіну до 25 мг/кг маси

тіла на добу. При оцінці клінічного стану дитини за 3 тижні мати відзначає помітну позитивну динаміку – дівчинка стала помітно спокійнішою, протягом останніх двох тижнів епізодів «сміху» не фіксували. Продовжується спостереження.

**Обговорення отриманих результатів.** Наведені приклади наочно ілюструють таку особливість перебігу епілепсії як «немотивована» втрата контролю над нападами. На теперішній час ми не можемо з впевненістю стверджувати, що саме наявність поліморфізмів генів системи цитохрому P450 є основною причиною такої своєрідної «нестійкості» стану, підвищеного ризику зриву ремісії. Не можливо повністю виключити вплив на метаболізм АЕП та ферментативну активність цитохромів таких чинників, як певні харчові продукти, супутні лікарські засоби, навіть прийняті ситуативно, та інших. Досліджень поліморфізмів генів системи цитохрому P450 з охопленням такої кількості алелей у дітей з резистентними епілепсіями, в контексті з детальним аналізом перебігу захворювання та електроенцефалографічними показниками, до теперішнього часу проведено не було, отримані результати розцінюються як аргумент на користь доцільності поглибленого вивчення даного питання. Положення про те, що за наявності генних мутацій, які визначають патологію функціонування відповідних ферментів, концентрація АЕП в крові пацієнтів може зазнавати значних коливань і саме нестабільність концентрації може призводити до втрати контролю над нападами, потребує перевірки і дослідження в цьому напрямку планується продовжити.

#### Висновки

1. Окремі одонуклеотидні поліморфізми та їх комбінації визначені нами у 75 пацієнтів (64,65%) з

резистентними формами епілепсій. Ізольовані поліморфізми гену CYP2C19 спостерігалися у 39 пацієнтів (33,62% загальної групи), гену CYP2C9 у 17 обстежених (14,65% загальної групи), гену CYP3A4 – у 5 дітей (4,31% обстежених загальної групи), у 14 пацієнтів (12,06% загальної групи) встановлено наявність комбінацій поліморфізмів різних генів.

2. В групі дітей з виявленими поліморфізмами генів, порівняно з пацієнтами з нормальним генотипом, достовірно частіше ( $p < 0,05$ ) спостерігалися сторонні ефекти антиепілептичної терапії (тяжкі небажані реакції та аграваціяпадів) і втрата контролю над нападами за відсутності впливу негативних зовнішніх чинників.
3. Пацієнтам з епілепсіями за наявності поліморфізмів генів системи цитохрому P450 показані: більш часті, порівняно з дітьми з відсутністю поліморфізмів, клінічні огляди та ЕЕГ-контроль; детальне опитування пацієнтів та їх батьків і родичів щодо повторенняпадів та/або «нових» видів епілептичних пароксизмів; обов'язкова корекція антиепілептичної терапії за умови виявлення негативної динаміки показників ЕЕГ (особливо – появи типових епілептичних патернів у пацієнтів з попередньо досягнутою нормалізацією картини ЕЕГ) навіть за відсутності клініки будь-яких пароксизмальних розладів.

**Перспективи подальших досліджень.** В подальшому, крім накопичення клінічних та параклінічних даних з тематики роботи, в тому числі – отриманих в ході тривалого динамічного спостереження дітей з резистентними епілепсіями, планується вивчення активності досліджуваних цитохромів, що дозволить ще чіткіше оцінити вплив поліморфізмів відповідних генів на ефективність та безпечність антиепілептичної терапії.

#### References

1. Fisher RS, Acevedo C, Arzimanoglou A, Bogacz A, Cross HJ, Elger ChE, et al. A practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*. 2014; 55(4): 475–82. PMID: 24730690. doi: 10.1111/epi.12550
2. Gromov SA, Sivakova NA, Korsakova EA, Kataeva MF Epilepsiya: klassifikaciya remissij pripadkov bolezni, ih kliniko-psihologo-nejrofiziologicheskoe obosnovanie, voprosy diagnostiki i farmakoterapii. *Obozrenie psixiatrii i medicinskoj psihologii*. 2017; 3: 34–40.
3. Berg AT, Shinnar S, Levy SR, Testa FM, Smith–Rapaport S, Beckerman B, et al. Two–year remission and subsequent relapse in children with newly diagnosed epilepsy. *Epilepsia*. 2001 Dec; 42(12): 1553–62. PMID: 11879366. doi: 10.1046/j.1528-1157.2001.21101.x
4. Sillanpää M, Schmidt D. Prognosis of seizure recurrence after stopping antiepileptic drugs in seizure–free patients: A long–term population–based study of childhood–onset epilepsy. *Epilepsy and Behavior*. 2006; 8: 713–9. PMID: 16616648. Doi: 10.1016/j.yebeh.2006.02.014
5. Geerts A, Arts WF, Stroink H, Peeters E, Brouwer O, Peters B, et al. Course and outcome of childhood epilepsy: A 15–year follow–up of the follow–up of the Dutch Study of Epilepsy in Childhood. *Epilepsia*. 2010; 51(7): 1189–97. PMID: 20557350. doi: 10.1111/j.1528-1167.2010.02546.x
6. Rogacheva TA. *Zakonomernosti stanovleniya i techeniya remissii pri epilepsii*. Abstr. Dr. Sci. (Med.). M; 2006. 319 s. [Russian]
7. Löscher W, Klotz U, Zimprich F, Schmidt D. The clinical impact of pharmacogenetics on the treatment of epilepsy. *Epilepsia*. 2009 Jan; 50(1): 1–23. PMID: 18627414. doi: 10.1111/j.1528-1167.2008.01716.x

8. Sánchez MB, Herranz JL, Leno C, Arteaga R, Oterino A, Valdizán EM, et al. Genetic factors associated with drug-resistance of epilepsy: relevance of stratification by patient age and aetiology of epilepsy. *Seizure*. 2010 Mar; 19(2): 93–101. PMID: 20064729. doi: 10.1016/j.seizure.2009.12.004
9. Lewis DF. 57 varieties: The human cytochromes P450. *Pharmacogenomics*. 2004; 5(3): 305–18. PMID: 15102545. doi: 10.1517/phgs.5.3.305.29827
10. Ingelman-Sundberg M. Human drug metabolising cytochrome P450 enzymes: Properties and polymorphisms. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*. 2004; 369(1): 89–104. PMID: 14574440. doi: 10.1007/s00210-003-0819-z
11. Anderson GD. Pharmacogenetics and enzyme induction/inhibition properties of antiepileptic drugs. *Neurology*. 2004; 63: 3–8. PMID: 15557548. doi: 10.1212/WNL.63.10\_suppl\_4.S3
12. Saruwatari J, Ishitsu T, Seo T, Shimomasuda M, Okada Y, Goto S, et al. The clinical impact of cytochrome P450 polymorphisms on the anti-epileptic drug therapy. *Epilepsy Seizure*. 2010; 3: 34–50. doi: 10.3805/eands.3.34
13. Kang P, Liao M, Wester MR, Leeder JS, Pearce RE, Correia MA. CYP3A4-Mediated carbamazepine (CBZ) metabolism: formation of a covalent CBZ-CYP3A4 adduct and alteration of the enzyme kinetic profile. *Drug Metab Dispos*. 2008; 36: 490–9. PMID: 18096676. PMID: 18096676. PMID: 18096676. PMID: 18096676. doi: 10.1124/dmd.107.016501
14. Seo T, Nagata R, Ishitsu T, Murata T, Takaishi C, Hori M, et al. Impact of CYP2C19 polymorphisms on the efficacy of clobazam therapy. *Pharmacogenomics*. 2008; 9: 527–37. PMID: 18466100. doi: 10.2217/14622416.9.5.527
15. Bajpai M, Roskos LK, Shen DD, Levy RH. Roles of cytochrome P450 2C9 and cytochrome P450 2C19 in the stereoselective metabolism of phenytoin to its major metabolite. *Drug Metab Dispos*. 1996; 24: 1401–3.
16. Van der Weide J, Steijns LS, van Weelden MJ, de Haan K. The effect of genetic polymorphism of cytochrome P450 CYP2C9 on phenytoin dose requirement. *Pharmacogenetics*. 2001; 11: 287–91. PMID: 11434505. doi: 10.1097/00008571-200106000-00002
17. Silvado CE, Terra VC, Twardowsky CA. CYP2C9 polymorphisms in epilepsy: influence on phenytoin treatment. *Pharmacogenomics Pers Med*. 2018; 11: 51–8. PMID: 29636628 PMID: 29636628 PMID: 29636628. doi: 10.2147/PGPM.S108113
18. Hung CC, Lin CJ, Chen CC, Chang CJ, Liou HH. Dosage recommendation of phenytoin for patients with epilepsy with different CYP2C9/CYP2C19 polymorphisms. *Ther Drug Monit*. 2004; 26: 534–40. PMID: 15385837. doi: 10.1097/00007691-200410000-00012
19. Goto S, Seo T, Murata T, Nakada N, Ueda N, Ishitsu T, et al. Population estimation of the effects of cytochrome P450 2C9 and 2C19 polymorphisms on phenobarbital clearance in Japanese. *Ther Drug Monit*. 2007; 29: 118–21. PMID: 17304159. doi: 10.1097/FTD.0b013e318030def0
20. Jiang D, Bai X, Zhang Q, Lu W, Wang Y, Li L, et al. Effects of CYP2C19 and CYP2C9 genotypes on pharmacokinetic variability of valproic acid in Chinese epileptic patients: nonlinear mixed-effect modeling. *Eur J Clin Pharmacol*. 2009; 65: 1187–93. PMID: 19756559. doi: 10.1007/s00228-009-0712-x
21. Monostory K, Nagy A, Tóth K, Búdi T, Kiss Á, Déri M, et al. Relevance of CYP2C9 Function in Valproate Therapy. *Curr Neuropharmacol*. 2019 Jan; 17(1): 99–106. PMID: 29119932. PMID: 29119932. PMID: 29119932. doi: 10.2174/1570159X15666171109143654
22. Hachad H, Ragueneau-Majlessi I, Levy RH. New antiepileptic drugs: review on drug interactions. *Ther Drug Monit*. 2002; 24: 91–103. PMID: 11805729. doi: 10.1097/00007691-200202000-00016
23. Orsini A, Esposito M, Perna D, Bonuccelli A, Peroni D, Striano P. Personalized medicine in epilepsy patients. *Transl Genet Genom*. 2018; 2: 16. doi: 10.20517/jtgg.2018.14
24. Baulac M. Introduction to zonisamide. *Epilepsy Res*. 2006; 68: 3–9. PMID: 16413170. doi: 10.1016/j.eplepsyres.2005.11.004

УДК 577.151:575.174.015.3:616.853–056.7

### ИССЛЕДОВАНИЕ СВЯЗИ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ СИСТЕМЫ ЦИТОХРОМА P450 И ТЕЧЕНИЯ РЕЗИСТЕНТНЫХ ЭПИЛЕПСИЙ У ДЕТЕЙ (КЛИНИКО–ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКОЕ СОПОСТАВЛЕНИЕ)

**Танцура Л. Н., Пилипец Е. Ю., Танцура Е. А., Третьяков Д. В.**

**Резюме.** Было проведено исследование частоты полиморфизмов генов системы цитохромов P450 CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4 у детей с резистентными формами эпилепсий и клинико–фармакогенетические сопоставления.

Комплексно обследовано 116 детей с истинно резистентными эпилепсиями в возрасте от 11 месяцев до 18 лет (мальчиков – 67, девочек – 49). Длительность заболевания эпилепсией у детей колебалась от 7 месяцев до 17 лет, возраст дебюта заболевания – от нескольких дней от рождения до 13 лет.

Нами было исследовано носительство таких аллелей: CYP2C9\*1, CYP2C9\*2, CYP2C9\*3, CYP2C19\*1, CYP2C19\*2, CYP2C19\*3, CYP3A4\*1, CYP3A4\*1B. Наличие генных полиморфизмов установлено у 75 детей (64,65%), при этом изолированные полиморфизмы CYP3A4 – у 5 детей (4,31%), CYP2C9 – у 17 детей (14,65%), CYP2C19 – у 39 детей – 33,62%. В 14 случаях (12,06%) было установлено сочетание нескольких генных полиморфизмов у одного ребенка.

В процессе наблюдения был зафиксирован феномен «немотивированной» потери контроля припадков (без влияния каких-либо провоцирующих факторов). Представлены клинические примеры, иллюстрирующие данный феномен.

Проведено сопоставление по ряду клинических и параклинических показателей между группой детей с установленными генетическими мутациями и без них.

Сформированные группы не отличались по таким показателям как возраст, гендерный состав, частота и тип припадков, вообще по большинству показателей достоверных отличий выявлено не было. Однако достоверно чаще ( $p < 0,05$ ) в группе пациентов с выявленными полиморфизмами генов, в сравнении с группой без мутаций, отмечались побочные эффекты терапии, причем это касается именно таких показателей как тяжелые побочные эффекты и аггравация припадков, случаев, когда речь шла не только об отмене антиэпилептических препаратов, который вызвал нежелательную побочную реакцию, но и об оказании пациентам помощи в условиях стационара. Феномен «немотивированной» потери контроля припадков у пациентов с установленными генными мутациями также наблюдался чаще ( $p < 0,05$ ). Разница между группами по частоте нетяжелых побочных эффектов оказалась недостоверной ( $p > 0,05$ ).

Выявленные отличия являются аргументом в пользу роли исследуемых генных полиморфизмов в метаболизме антиэпилептических препаратов, которая клинически реализуется (через нестабильность, колебания концентрации антиэпилептических препаратов) в виде побочных эффектов, в первую очередь, тяжелых, и потери контроля припадков, не связанной с внешними факторами.

Показано, что пациентам с эпилепсиями при наличии полиморфизмов генов системы цитохрома P450 необходимо проводить: более частые, по сравнению с детьми без полиморфизмов, клинические осмотры и контроль электроэнцефалографической картины; подробный опрос пациентов и их родителей и родственников относительно повтора припадков и/или «новых» видов эпилептических пароксизмов; обязательную коррекцию антиэпилептической терапии при условии негативной динамики показателей электроэнцефалографической картины (особенно – появлении типичных эпилептических паттернов у пациентов с достигнутой нормализацией картины электроэнцефалографической картины) даже при отсутствии клиники каких-либо пароксизмальных расстройств.

**Ключевые слова:** дети, резистентные эпилепсии, полиморфизмы генов, цитохром P450.

UDC 577.151:575.174.015.3:616.853–056.7

### Investigation of Connection of Polymorphism Genes of the Cytochrome P450 System and the Course of Resistant Epilepsy in Children (Clinical–Pharmacogenetic Comparison)

*Tantsura L. M., Pylypets O. Yu., Tantsura Ye. O., Tretiakov D. V.*

**Abstract.** In order to find out the connection between the polymorphism of P450 cytochrome genes and the course of resistant epilepsy in children (first of all, with the loss of achieved control), we conducted investigation of the frequency of polymorphisms of cytochrome P450 system genes *CYP2C9*, *CYP2C19* and *CYP3A4* in children with resistant forms of epilepsy and clinical–pharmacogenetic comparisons.

**Material and methods.** 116 children with truly resistant epilepsy aged from 11 months to 18 years were examined comprehensively (boys – 67, girls – 49). In the course of study we used: clinical anamnestic; clinical and neurological; clinical and psychopathological; neurophysiological (electroencephalographic) methods, method of neuroimaging (nuclear magnetic resonance imaging of the brain); genetic (allelespecific polymerase–chain reaction); methods of mathematical statistics. The duration of epilepsy in children ranged from 7 months to 17 years, the age of onset of epilepsy ranged from several days from birth to 13 years.

**Results and discussion.** The selection of alleles for pharmacogenetic research was based on literature sources on the role of these polymorphisms in antiepileptic drugs metabolism, population data on their prevalence in various regions and countries both in healthy volunteers and in patients with epilepsy, we investigated the carrier of the following alleles: *CYP2C9\*1*, *CYP2C9\*2*, *CYP2C9\*3*, *CYP2C19\*1*, *CYP2C19\*2*, *CYP2C19\*3*, *CYP3A4\*1*, *CYP3A4\*1B*. The presence of gene polymorphisms was found in 75 children (64.65%), with isolated *CYP3A4* polymorphisms in 5 children (12.05%), *CYP2C9* in 17 children (14.65%), *CYP2C19* – in 39 children (33.62%) of the total patient group. In 14 cases (12.06%) we found a combination of multiple gene polymorphisms in one child.

In the process of observation, the phenomenon of "non–motivated" loss of control of seizure attacks (without the influence of any provocative factors) was recorded. Clinical examples are presented to illustrate this phenomenon. We conducted the comparison of a number of clinical and paraclinical parameters between a group of children with and without established gene mutations.



The formed groups did not differ in such indicators as age, gender composition, frequency and types of attacks, in general, no significant differences were found in most indicators. However, side effects of therapy were observed significantly more frequently ( $p < 0.05$ ) in the group of patients with detected gene polymorphisms than in the group without gene mutations, with this being true for such indicators as severe side effects and aggravation of seizures, when it was not only about the cancelation of the antiepileptic drugs, which caused an undesirable side reaction, but also about helping patients in the hospital. The phenomenon of "non-motivated" loss of seizure control in patients with established gene mutations was also observed more frequently ( $p < 0.05$ ). The difference between the groups in the frequency of non-severe side effects was not significant ( $p > 0.05$ ).

The identified differences are arguments in favor for the role of the investigated gene polymorphisms in the metabolism of antiepileptic drugs, which is clinically implemented (due to instability, fluctuations in antiepileptic drugs concentrations) in the form of extraneous effects, first of all, severe side effects, and loss of control of attacks, which are not related to external factors.

*Conclusion.* The obtained results showed that patients with epilepsy in the presence of polymorphisms of genes of the cytochrome P450 system should be performed: more often, in comparison with children with no polymorphisms, clinical examinations and electroencephalographic picture control; a detailed survey of patients and their parents and relatives on the recurrence of seizures and/or "new" types of epileptic paroxysms; obligatory correction of antiepileptic therapy, provided that negative dynamics of electroencephalographic picture indicators were detected (especially the appearance of typical epileptic patterns in patients with previously achieved normalization of the electroencephalographic picture), even in the absence of any paroxysmal disorders clinic.

**Keywords:** children, resistant epilepsies, genes polymorphism, P450 cytochrome.

*The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.*

Стаття надійшла 02.08.2019 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування