

TRƯỜNG ĐẠI HỌC DƯỢC HÀ NỘI
BỘ MÔN HÓA SINH - KHOA CÔNG NGHỆ SINH HỌC
Chủ biên: PGS.TS. Phùng Thanh Hương - PGS.TS. Đỗ Hồng Quảng

GEN DƯỢC HỌC
ẢNH HƯỞNG CỦA GEN ĐẾN ĐÁP ỨNG THUỐC

Sách đào tạo sau đại học

**NHÀ XUẤT BẢN Y HỌC
HÀ NỘI - 2023**

CHỦ BIÊN:

PGS.TS. Phùng Thanh Hương

PGS.TS. Đỗ Hồng Quảng

CÁC TÁC GIẢ THAM GIA BIÊN SOẠN:

PGS.TS. Phùng Thanh Hương

PGS.TS. Đỗ Hồng Quảng

PGS.TS. Nguyễn Văn Rứ

PGS.TS. Nguyễn Thị Lập

TS. Nguyễn Quốc Bình

THƯ KÝ:

ThS. Mai Văn Hiên

LỜI NÓI ĐẦU

Cá thể hóa trong dùng thuốc và chăm sóc sức khỏe là một xu hướng mới của y học hiện đại, dựa trên thông tin cụ thể của từng bệnh nhân về lâm sàng, di truyền và môi trường để đưa ra các giải pháp về điều trị và chăm sóc sức khỏe phù hợp nhất cho từng người bệnh, nhằm giảm thiểu các tác dụng không mong muốn và tối ưu hóa hiệu quả điều trị. Quan điểm hướng đến cá thể người bệnh đã xuất hiện từ lâu trong lịch sử y học, nhưng đặc biệt phát triển trong những năm gần đây nhờ những tiến bộ quan trọng trong nghiên cứu Gen được - một chuyên ngành khoa học về sự ảnh hưởng của kiểu gen của mỗi bệnh nhân đến đáp ứng điều trị. Việc nghiên cứu các thông tin về ADN với các kỹ thuật sinh học phân tử và công nghệ sinh học hiện đại, cho phép sử dụng các thông tin về gen của bệnh nhân để đưa ra những quyết định điều trị phù hợp nhất nhờ dự đoán được đáp ứng thuốc ở mỗi bệnh nhân thông qua các yếu tố được động học, được lực học và các yếu tố liên quan khác.

Giáo trình *Gen được học - ảnh hưởng của gen đến đáp ứng thuốc* nhằm cung cấp cho học viên sau đại học của Trường Đại học Dược Hà Nội nói riêng và các đối tượng quan tâm khác những khái niệm cơ bản về Gen được, phân tích các mặt ảnh hưởng của kiểu gen lên đáp ứng thuốc và cuối cùng đưa ra những thông tin cập nhật về ứng dụng của gen được trong thực tế lâm sàng nhằm hướng đến cá thể hóa điều trị.

Cuốn sách được biên soạn theo chương trình đào tạo đã được Hiệu trưởng Trường Đại học Dược Hà Nội phê duyệt. Sách cũng có thể dùng làm tài liệu tham khảo cho học viên các trường khác cũng như các cán bộ nghiên cứu liên quan.

Chúng tôi rất mong nhận được những ý kiến đóng góp của các bạn đồng nghiệp và độc giả để lần xuất bản sau sẽ được hoàn thiện hơn.

THAY MẶT CÁC TÁC GIẢ

PGS.TS. Phùng Thanh Hương

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

5-FU	5-fluorouracil
ABCB1	ATP-binding cassette sub-family B member 1
ADN	Acid deoxyribonucleic
ADR	Adverse drug reaction
ALK	Anaplastic lymphoma kinase
APOE	Apolipoprotein E
ARN	Acid ribonucleic
ARS	Aspirin response signature
ATP	Adenosin triphosphat
AUC	Area under the curve
B2AR	β 2-adrenergic receptor
BCHE	Butyrylcholinesterase
BDNF	Brain-derived neurotrophic factor
CES1	Carboxyesterase 1
CPIC	Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium
CYP	Cytochrom P450
DDGI	Drug - drug - gene interaction
DPYD	Dihydropyrimidine dehydrogenase
DRESS	Drug Rash with Eosinophilia and Systemic Symptoms
DTD	Đái tháo đường
EGFR	Epidermal growth factor receptor
EM	Extensive metabolizer
FDA	Food & Drug Administration
GLP-1	Glucagon-like peptide-1
GSTM1	Glutathion transferase
GWAS	Genome-wide association study
HER2	Human epidermal growth factor receptor 2
HLA	Human Leukocyte Antigen

IM	Intermediate metabolizer
KRAS	Kirsten Rat Sarcoma Viral
MATE1	Multidrug and toxin extrusion 1
MDR1	Multiple drug resistance type 1
mtADN	Mitochondrial ADN
NAT	N-acetyl transferase
NGS	Next generation sequencing
NST	Nhiễm sắc thè
OATP1B1	Organic anion transporting peptide 1B1
OR	Odd ratio
OS	Overall survival
PCR	Polymerase chain reaction
PFS	Progression-free survival
Pgp	P-glycoprotein
PM	Poor metabolizer
RFLP	Restriction fragment length polymorphism
SCARs	Severe Cutaneous Adverse Reactions
SJS	Steven-Johnson syndrome
SNP	Single nucleotide polymorphism
TEN	Toxic epidermal necrolysis
TKI	Tyrosine kinase inhibitor
TPMT	Thiopurine S-methyltransferase
TZD	Thiazolidindion
UGT	UDP-Glucuronosyltransferase
UM	Ultra metabolizer
UTPKTBN	Ung thư phổi không tế bào nhỏ
VKOR	Vitamin K epoxid reductase

MỤC LỤC

PHẦN 1. ĐẠI CƯƠNG VỀ GEN DƯỢC	11
Chương 1. HỆ GEN CỦA NGƯỜI, DỰ ÁN HỆ GEN NGƯỜI	12
<i>PGS.TS. Nguyễn Văn Ru, PGS. TS. Phùng Thanh Hương</i>	
1. Khái niệm hệ gen	12
2. Đặc điểm hệ gen của người	14
2.1. Quy mô của hệ gen người	14
2.2. Thành phần của hệ gen người	15
3. Dự án hệ gen người	17
3.1. Giới thiệu về dự án hệ gen người	17
3.2. Ý nghĩa của dự án hệ gen người	18
CHƯƠNG 2. CÁC KIỀU ĐA HÌNH VÀ ĐỘT BIẾN GEN	22
<i>PGS.TS. Đỗ Hồng Quảng</i>	
1. Khái niệm đột biến và kiểu đa hình gen	22
2. Phân loại đột biến theo cấu trúc	22
2.1. Đột biến điểm	22
2.2. Đột biến thêm đoạn hoặc mất đoạn (deletion, insertion)	26
3. Phân loại đột biến theo chức năng	28
3.1. Các đột biến làm mất chức năng	28
3.2. Các đột biến làm tăng cường chức năng	29
3.3. Các đột biến làm giảm chức năng (dominant negative effect)	29
4. Cách gọi tên, ký hiệu kiểu đa hình gen	30
4.1. Gọi tên kiểu đa hình gen theo thứ tự nucleotid	30
4.2. Tên kiểu đa hình theo thứ tự acid amin	30
Chương 3. GIỚI THIỆU CÁC KHÁI NIỆM LIÊN QUAN ĐẾN GEN DƯỢC HỌC	32
<i>PGS.TS. Nguyễn Thị Lập</i>	
1. Các khái niệm liên quan đến gen dược học	32

1.1. Gen dược học (pharmacogenetics)	32
2. Mục đích chính, các thành tựu đạt được và hạn chế trong ứng dụng của gen dược học	40
2.1. Mục đích chính của gen dược học	40
2.2. Các thành tựu đạt được và hạn chế trong ứng dụng của gen dược học	40
3. Hệ gen dược học (pharmacogenomics)	42
3.1. Khái niệm	42
3.2. Phân biệt giữa gen dược học và hệ gen dược học	42
Chương 4. PHƯƠNG PHÁP ĐÁNH GIÁ VÀ NGHIÊN CỨU GEN DƯỢC HỌC	47

PGS.TS. Nguyễn Thị Lập, PGS.TS. Phùng Thành Hương

1. Ý nghĩa SNP, haplotype trong nghiên cứu gen dược học	47
2. Các cách tiếp cận trong nghiên cứu gen dược	49
3. Các công nghệ xác định kiểu gen	51
3.1. Công nghệ xác định kiểu gen hiệu năng thấp	52
3.2. Công nghệ xác định kiểu gen hiệu năng trung bình	53
3.3. Công nghệ xác định kiểu gen hiệu năng cao	56
3.4. Công nghệ xác định kiểu gen hiệu năng siêu cao	57
3.5. Các công nghệ giải trình tự song song quy mô lớn	58
4. Xét nghiệm kiểu hình	59
5. Ứng dụng công nghệ dữ liệu lớn trong nghiên cứu gen dược	60
PHẦN 2. ẢNH HƯỞNG CỦA KIỂU GEN LÊN ĐÁP ỨNG THUỐC	63
Chương 5. ẢNH HƯỞNG CỦA KIỂU GEN LÊN DƯỢC ĐỘNG HỌC CỦA THUỐC	64

PGS.TS. Phùng Thành Hương

1. Ảnh hưởng của kiểu gen lên sự hấp thu, phân bố, vận chuyển và thải trừ thuốc	64
2. Ảnh hưởng của kiểu gen lên chuyển hóa thuốc	71
2.1. Các giai đoạn của quá trình chuyển hóa thuốc	71
2.2. Ảnh hưởng của kiểu gen lên sự chuyển hóa thuốc I	74
2.3. Ảnh hưởng của kiểu gen lên chuyển hóa thuốc ở pha II	87

**Chương 6. ẢNH HƯỞNG CỦA KIỀU GEN LÊN QUÁ TRÌNH DƯỢC LỰC
HỌC CỦA THUỐC 91**

PGS.TS. Phùng Thanh Hương

1. Ảnh hưởng của kiểu gen lên đáp ứng thuốc thông qua receptor 91
2. Ảnh hưởng của kiểu gen lên đáp ứng thuốc thông qua các enzym đích 93
3. Ảnh hưởng của kiểu gen lên đáp ứng thuốc thông qua các protein truyền tín hiệu 96

**Chương 7. ẢNH HƯỞNG CỦA KIỀU GEN LÊN CÁC YẾU TỐ GIÁN TIẾP
LIÊN QUAN ĐẾN ĐÁP ỨNG THUỐC 98**

PGS.TS. Phùng Thanh Hương

1. Đa hình của gen apoe liên quan đến đáp ứng thuốc 98
2. Đa hình gen liên quan đến dị ứng thuốc 100

CHƯƠNG 8. ẢNH HƯỞNG CỦA KIỀU GEN ĐẾN TƯƠNG TÁC THUỐC ...106

PGS.TS. Phùng Thanh Hương

1. Khái niệm tương tác thuốc 106
2. Ảnh hưởng của kiểu gen đến tương tác trong quá trình chuyển hóa thuốc 107
3. Ảnh hưởng của kiểu gen đến tương tác trong quá trình vận chuyển thuốc qua màng sinh học 111
4. Ảnh hưởng của kiểu gen đến tương tác thuốc liên quan đến nhiều gen/protein khác nhau 113

**PHẦN 3. DÙNG THUỐC THEO CÁ THỂ - ỨNG DỤNG CỦA GEN DƯỢC
TRONG ĐIỀU TRỊ 119**

Chương 9. ĐẠI CƯƠNG VỀ DÙNG THUỐC THEO CÁ THỂ 120

PGS.TS. Phùng Thanh Hương, TS. Nguyễn Quốc Bình

1. “Dùng thuốc theo cá thể” và các khái niệm liên quan 120
2. Ý nghĩa của dùng thuốc theo cá thể 122
3. Các điều kiện cần thiết để triển khai việc dùng thuốc theo cá thể 123
4. Các lĩnh vực lâm sàng đang áp dụng dùng thuốc theo cá thể 125

**Chương 10. DÙNG THUỐC THEO CÁ THỂ ĐỐI VỚI THUỐC CHỐNG ĐÔNG
VÀ CHỐNG KẾT TẬP TIỀU CẦU 128**

PGS.TS. Phùng Thanh Hương

1. Dùng thuốc theo cá thể đối với các thuốc chống đông 128

1.1. Warfarin	128
1.2. Các thuốc chống đông đường uống mới	132
2. Dùng thuốc theo cá thể đối với các thuốc chống kết tập tiểu cầu	132
2.1. Clopidogrel	132
2.2. Aspirin	136
2.3. Các thuốc ức chế p2y12 thế hệ mới	136

Chương 11. DÙNG THUỐC THEO CÁ THỂ ĐỐI VỚI THUỐC ĐIỀU TRỊ ĐÁI THÁO ĐƯỜNG 139

PGS.TS. Phùng Thanh Hương

1. Metformin	139
2. Sulfonylurea	143
3. Thiazolidindion	146
4. Các thuốc hạ glucose máu đường uống khác	150

Chương 12. DÙNG THUỐC THEO CÁ THỂ ĐỐI VỚI THUỐC HƯỚNG THẦN 152

PGS.TS. Phùng Thanh Hương

1. Dùng thuốc theo cá thể đối với các thuốc chống loạn thần	153
2. Dùng thuốc theo cá thể đối với các thuốc chống trầm cảm	157

Chương 13. DÙNG THUỐC THEO CÁ THỂ ĐỐI VỚI THUỐC TIM MẠCH ... 163

PGS.TS. Đỗ Hồng Quảng

1. Các gen liên quan đến được động học của thuốc	164
1.1. Các enzym chuyển hóa thuốc	164
1.2. Các protein vận chuyển	165
2. Các gen liên quan đến được lực của thuốc	170
3. Thuốc chống kết tập tiểu cầu	172
4. Thuốc chống đông	173
5. Thuốc điều trị rối loạn lipid máu	173
5.1. Statin	173
5.2. Các fibrat	176
6. Các thuốc hạ huyết áp	177

6.1. Hệ renin-angiotensin-aldosteron	177
6.2. Các thuốc lợi tiểu	179
6.3. Các thuốc chẹn kênh calci	179

**Chương 14. DÙNG THUỐC THEO CÁ THỂ ĐỐI VỚI THUỐC ĐIỀU TRỊ
UNG THƯ180**

PGS.TS. Phùng Thanh Hương

1. Các chỉ dấu sinh học giúp dự đoán đáp ứng điều trị ung thư	180
2. Ứng dụng trong lâm sàng của các chỉ dấu sinh học dự đoán đáp ứng thuốc	182
3. Cá thể hóa trong điều trị ung thư phổi	183
4. Cá thể hóa trong điều trị ung thư vú	186
5. Cá thể hóa trong điều trị ung thư đại trực tràng	188

Phần 1

ĐẠI CƯƠNG VỀ GEN DƯỢC

Chương 1

HỆ GEN CỦA NGƯỜI, DỰ ÁN HỆ GEN NGƯỜI

MỤC TIÊU HỌC TẬP

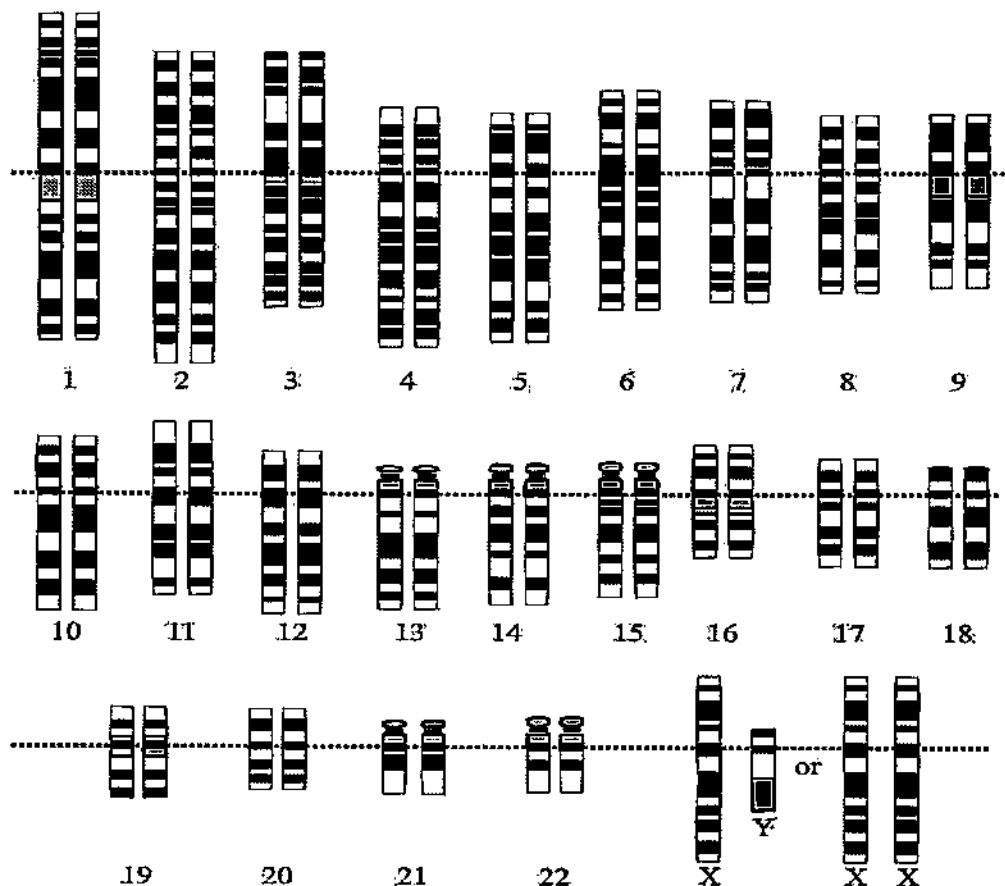
1. *Phân tích được khái niệm, đặc điểm của hệ gen người và ý nghĩa của việc nghiên cứu hệ gen người.*
2. *Phân tích được ý nghĩa của Dự án Hệ gen người.*

1. KHÁI NIỆM HỆ GEN

Gen: Là đơn vị cấu trúc và chức năng của di truyền. Mỗi gen là một đoạn ADN với kích thước trung bình khoảng vài nghìn cặp nucleotid (cặp base - bp), sẽ có thể phiên mã thành các loại ARN có chức năng khác nhau bao gồm chức năng mã hóa (mARN) và các chức năng khác. Do đó, gen cũng bao gồm gen mã hóa và gen không mã hóa. Mỗi gen nằm ở một vị trí nhất định trên nhiễm sắc thể (NST) gọi là locus. Do NST trong tế bào lưỡng bội tồn tại thành một cặp nên ở mỗi locus, gen cũng tồn tại thành cặp gồm 2 alen, trong đó 1 alen nguồn gốc từ bố và 1 alen nguồn gốc từ mẹ.

Hệ gen (genome): Là toàn bộ các phân tử ADN trong tế bào của một loài sinh vật, bao gồm cả vùng mã hóa và vùng không mã hóa của ADN. Hệ gen nhân (nuclear DNA) chỉ toàn bộ các đơn vị di truyền chứa trong một bộ đơn bội (n) nhiễm sắc thể của loài. Mỗi giao tử bình thường chứa một hệ gen đơn bội, mỗi tế bào sinh dưỡng chứa hệ gen lưỡng bội. Hệ gen của người là sự phân bố ở các vị trí xác định của các gen trên chuỗi ADN trên 24 NST của người (22 NST thường và NST giới X, Y). Bên cạnh hệ gen nhân còn có hệ gen ty thể (mtDNA) mã hóa cho ARN ty thể và mã hóa khoảng 5% protein của ty thể.

Hệ gen nhân - ADN nhân tế bào: Là bộ hoàn chỉnh các trình tự ADN trên 23 cặp nhiễm sắc thể trong nhân tế bào. Hệ gen người bao gồm cả các ADN mã hóa protein và ADN không mã hóa. Hệ gen người, được chứa đựng trong các tế bào mầm (2 tế bào giới tính gồm một tinh trùng và một trứng được tạo ra trong giai đoạn giảm phân của quá trình sinh sản hữu tính trước khi thụ tinh để tạo ra một hợp tử) bao gồm ba tỷ cặp base, trong khi hệ gen lưỡng bội (tìm thấy trong các tế bào sinh dưỡng) có số lượng ADN gấp 2 lần. Kích thước hệ gen người đã được biết là 3234,83 Mb (Mega basepairs) và như vậy, mỗi hệ gen lưỡng bội có kích thước 6469,66 Mb.



Hình 1.1. Tổ chức hệ gen người trên 23 cặp NST

Hệ gen ngoài nhân - ADN ty thể (mtADN): Ngày nay người ta còn quan tâm đến các gen ngoài nhân, các gen nằm trên ADN của ty thể. Trong một tế bào sinh trưởng bình thường, gen trong nhân chỉ có hai bản nhưng gen trong ty thể có hàng nghìn bản, vì mỗi tế bào chỉ có một nhân nhưng có tới trên một nghìn ty thể.

ADN ty thể (mitochondrial ADN, mtADN): Là ADN nằm trong ty thể, loại bào quan của các tế bào nhân chuẩn, thực hiện chức năng chuyển đổi năng lượng hóa học từ chất dinh dưỡng thành dạng năng lượng tế bào có thể sử dụng là ATP. ADN ty thể của người là một phần quan trọng đầu tiên của hệ gen người được giải mã. Trình tự ADN của mtADN cũng đã được xác định cho một số lượng lớn các sinh vật và cá thể, bao gồm cả một số sinh vật đã tuyệt chủng.

Trong hầu hết các loài, kể cả loài người, mtADN được thừa kế duy nhất từ mẹ. Đó là do khi thụ tinh thì hợp tử thừa kế bào tương và các bào quan chỉ có nguồn gốc từ tế bào trứng của mẹ, trong đó có mtADN, còn tinh trùng chỉ đóng góp vào ADN nhân và bỏ lại các bào quan bên ngoài hợp tử.

Đối với hệ gen ty thể, các sinh vật đa bào thường có mtADN dạng vòng, tuy nhiên đã phát hiện cấu trúc mtADN thẳng ở nhiều sinh vật đơn bào, như Trùng lông (*Ciliate Tetrahymena*) hoặc các loại Tảo xanh (*Chlamydomonas reinhardtii*), và một số sinh vật đa bào như một số loài có ty bào (*Cnidaria*). Mỗi ty thể được ước tính có chứa 2 - 10 bản mtADN.

2. ĐẶC ĐIỂM HỆ GEN CỦA NGƯỜI

2.1. Quy mô của hệ gen người

Hệ gen nhân đơn bội của người ước tính có kích thước khoảng hơn ba tỷ cặp base. Trong mỗi tế bào lưỡng bội, tổng kích thước của các phân tử ADN nhân vào khoảng 206,62 cm và với số tế bào có nhân trung bình là $3 \cdot 10^{12}$, kích thước của toàn bộ ADN nhân trong một cơ thể người ước tính khoảng 6,2 tỷ km, gấp khoảng 41 lần khoảng cách từ trái đất tới mặt trời. Trong khi đó, trọng lượng của toàn bộ số ADN này chỉ vào khoảng 19,39 g, tương đương kích thước một viên kim cương 100 carat. Trong toàn hệ gen người, các gen mã hóa chiếm khoảng 1,5%. Tuy chi chiếm tỷ lệ nhỏ nhưng hơn 85% đột biến gây bệnh xảy ra ở vùng mã hóa.

Kích thước của các gen nói chung rất biến thiên, có gen có thể lớn hơn 2 triệu bp (gen Dystrophin), phần lớn gen khoảng vài nghìn bp. Không có mối tương quan trực tiếp giữa kích thước của protein với chiều dài của gen mã hóa nó, mặc dù người ta thấy các chuỗi peptid lớn tương ứng với những gen lớn. Số lượng gen trên mỗi NST cũng rất khác nhau. NST số 1 là NST lớn nhất chứa 2079 gen, trong khi đó NST X chỉ chứa 830 gen, NST Y nhỏ nhất chứa 72 gen.

Đối với hệ gen ty thể, một tế bào người chứa lượng mtADN trung bình có kích thước dao động từ 2,85 triệu bp - 0,09 cm tới 110,7 triệu bp - 3,62 cm, tùy theo số lượng phân tử ADN trong ty thể. mtADN chiếm khoảng 0,90 - 1,21% tổng số ADN trong một tế bào lưỡng bội.

Hệ gen người là một trong những hệ gen phức tạp nhất. Trước kia, trong nhiều thập kỷ, người ta cho rằng mỗi tế bào người chứa khoảng 100.000 gen, trải dài trên 3,2 tỷ bp của toàn bộ ADN. Tuy nhiên, ngày nay khoa học đã chứng minh được rằng số nucleotid trong hệ gen của một sinh vật không nhất thiết phải tỷ lệ với số vùng mã hóa. Trong thực tế, hệ gen người chứa khoảng 21.000 gen mã hóa, ít hơn so với cây lúa gạo (51.000) và không cao hơn nhiều so với loài giun tuyền trùng (18.000).

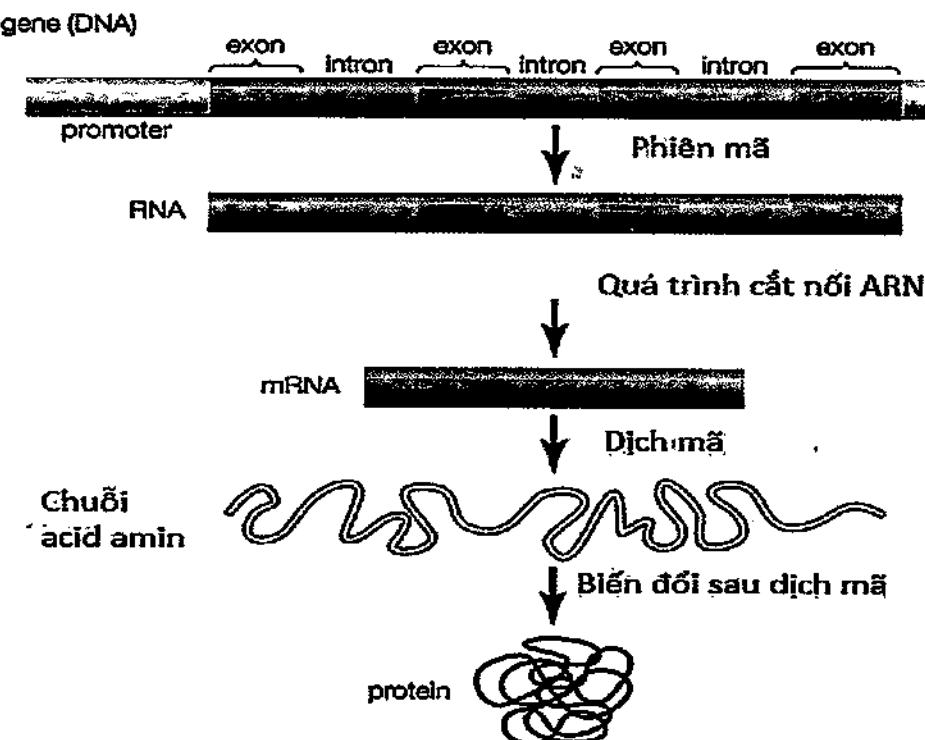
So với loài gần nhất về mặt tiến hóa là tinh tinh, hệ gen người tương đồng tới 99%. Trong khi đó, khi so sánh hệ gen của những cá thể người giống nhau thì mức độ tương đồng lên tới 99,6%. Mặc dù các cá thể người chi khác nhau ở 0,4% hệ gen nhưng đã bao gồm hơn 4 triệu loại biến thể, mang lại sự đa dạng về đặc điểm di truyền. Hầu như ít có 2 cá thể người có hệ gen hoàn toàn giống nhau.

2.2. Thành phần của hệ gen người

ADN của người và của tế bào sinh vật nhân chuẩn (*Eukaryota*) gồm các trình tự mã hóa protein (*exon*) xen kẽ với những trình tự không mã hóa protein (*intron*). Các trình tự ADN trong hệ gen được chia làm các loại sau:

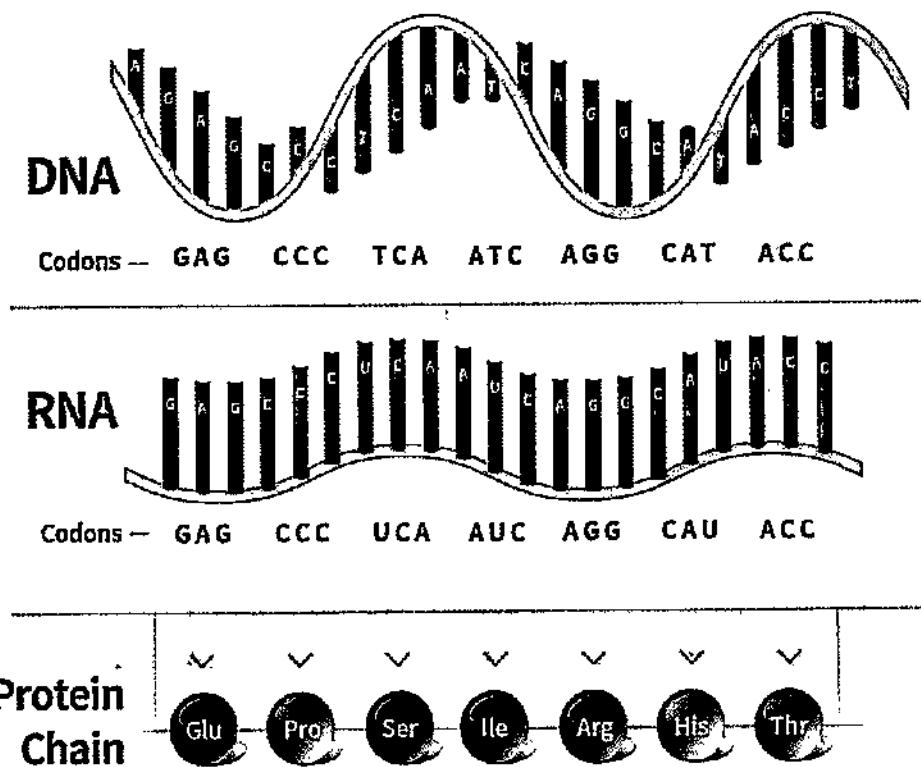
- ADN có trình tự duy nhất: là các gen mã hóa cho các protein, chiếm khoảng 1,5% hệ gen. Thuật ngữ gen đã có gần một thế kỷ (Johansen, 1909) nhưng sự khám phá về gen vẫn còn tiếp tục. Theo định nghĩa truyền thống, gen là vật chất di truyền quyết định một tính trạng xác định, hay chính xác hơn, theo Mendel, gen là một đoạn ADN mã hóa một protein xác định. Nhưng sau này người ta thấy không nhất thiết một gen quyết định một tính trạng mà có thể có nhiều gen cùng quyết định một tính trạng và sự biểu hiện của gen phụ thuộc nhiều nhân tố nên hình thành loại tính trạng di truyền đa nhân tố.

Gen cấu trúc ở người là một đoạn ADN gồm các đoạn exon xen kẽ intron. Toàn bộ các đoạn intron và exon này sẽ phiên mã thành phân tử mARN tiền thân. Phân tử mARN tiền thân này sẽ cắt loại các đoạn intron và nối các đoạn mARN phiên mã từ exon để tạo thành phân tử mARN thuần thực và tiếp tục tham gia dịch mã thành phân tử protein đặc hiệu tương ứng (Hình 1.2). Số lượng các intron và exon trong một gen không giống nhau ở các gen.



Hình 1.2. Các thành phần của gen tham gia vào quá trình biểu hiện thành phân tử protein đặc hiệu

Sở dĩ gen mã hóa cho protein là bởi cứ 3 nucleotid liên tiếp trên gen (gọi là 1 bộ ba mã hóa - codon) sẽ quy định 1 bộ ba ribonucleotid trên phân tử mARN tương ứng và 1 acid amin tương ứng của phân tử protein đặc hiệu (Hình 1.3). Vì vậy, trình tự nucleotid của gen sẽ quy định trình tự acid amin của phân tử protein tương ứng.



Hình 1.3. Mỗi codon gồm 3 nucleotid liên tiếp trên ADN, mã hóa cho 1 acid amin tương ứng trên phân tử protein đặc hiệu

- Các trình tự lặp: Trong số các trình tự không mã hóa của hệ gen người (chiếm khoảng hơn 98%), có khoảng 3% là các đoạn nucleotid lặp lại được gọi là các trình tự lặp đơn giản (simple sequence repeats - SSRs hoặc short tandem repeats) hoặc các ADN vệ tinh (satellite DNA). Tùy theo kích thước mà chúng được chia thành 3 loại: Microsatellite (1 - 5 bp) lặp lại khoảng 10 - 50 lần trong một đơn vị, minisatellite (12 - 100 bp) lặp lại vài nghìn lần và satellite (5 - 50 bp) hay tandem repeat lặp lại khoảng 1 triệu lần trên 1 sợi ADN. Ngoài ra, có các đoạn trình tự lặp có thể chiếm tỷ lệ khá lớn, tới trên 5% hệ gen, có tính bảo tồn cao.

- Ngoài ra, hệ gen người còn có các gen nhảy (*transposon*), là những đoạn ADN có khả năng tích hợp vào bất cứ vị trí nào của hệ gen.

3. DỰ ÁN HỆ GEN NGƯỜI

Genomics là ngành khoa học nghiên cứu về hệ gen của một loài hoặc một cá thể bao gồm từ cấu trúc đến chức năng các thành phần trong hệ gen, biểu hiện gen, điều hòa gen, lập bản đồ gen, sửa chữa gen, vai trò của hệ gen trong tiến hóa... và các kỹ thuật trong nghiên cứu về gen. Các nghiên cứu genomics có những đóng góp quan trọng trong sự phát triển của công nghệ sinh học, y sinh học và các thành tựu trong y dược, giúp phát triển những công cụ phòng bệnh, chẩn đoán, điều trị tiên tiến, an toàn, hợp lý và hiệu quả.

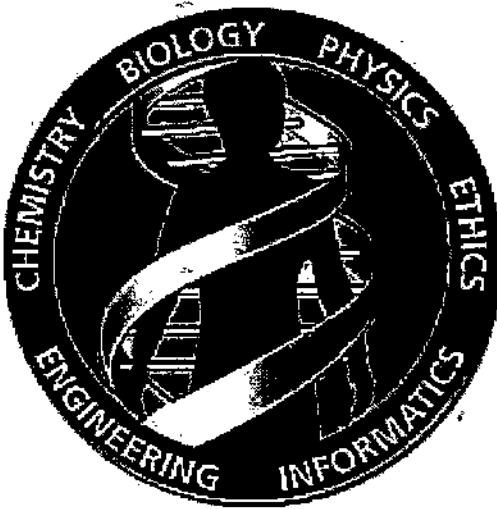
Bên cạnh các nghiên cứu về hệ gen của nhiều loại sinh vật thuộc các bậc khác nhau trong sinh giới, những dự án nghiên cứu genomics quy mô lớn nhất, với sự phối hợp của các trung tâm genomics lớn trên thế giới thường về hệ gen người. Khởi đầu với Dự án Hệ gen người (Human Genome Project - HGP) vào năm 1990 và kết thúc năm 2003 như một nền móng vững chắc để khởi động một số dự án toàn cầu tiếp theo về hệ gen người như Dự án Hapmap (năm 2002) và Dự án 1000 hệ gen (năm 2008). Kết quả của các dự án này không chỉ giúp giải mã hệ gen con người mà còn làm sáng tỏ sự khác biệt về di truyền giữa các cá thể và dẫn đến những sự phát triển đột phá trong nhiều lĩnh vực liên quan. Tiếp nối những dự án toàn cầu đó, nhiều quốc gia cũng đã có những dự án 1000 hệ gen của riêng mình để làm rõ các đặc điểm di truyền đặc trưng và ứng dụng đặc hiệu cho từng quốc gia, từng chủng tộc.

Dưới đây là giới thiệu về Dự án toàn cầu đầu tiên, có những ảnh hưởng mạnh mẽ nhất: Dự án Hệ gen người (HGP).

3.1. Giới thiệu về Dự án Hệ gen người

Dự án hệ gen người (Human Genome Project - HGP) là một trong những công trình to lớn nhất và là nhiệm vụ đầy tham vọng trong lịch sử nghiên cứu y sinh học. Khởi đầu năm 1990, dự án thực hiện trong 13 năm với sự tham gia của hàng nghìn nhà khoa học thuộc 20 viện và trung tâm hàng đầu về nghiên cứu hệ gen ở 6 quốc gia. Mục tiêu ban đầu của dự án bao gồm:

- Xác định khoảng 100.000 gen trong hệ gen người.
- Xác định trình tự của 3 tỷ bp trong hệ gen người.
- Lưu giữ kết quả trong các cơ sở dữ liệu.
- Phát triển các công cụ phân tích dữ liệu.
- Giải quyết các vấn đề về đạo đức, pháp lý và xã hội phát sinh trong nghiên cứu hệ gen.



Hình 1.4. Logo của Dự án Hệ gen người - HGP

Dự án HGP tạo ra trình tự hoàn chỉnh đầu tiên của hệ gen người, với trình tự dự thảo đầu tiên và phân tích ban đầu được công bố vào ngày 12 tháng 02 năm 2001. Hệ gen của con người là hệ gen đầu tiên của tất cả các loài động vật có xương sống được giải trình tự gần như hoàn toàn. Vào tháng 4 năm 2003, dự án đã công bố kết quả giải mã 92% hệ gen người với độ chính xác 99%, vẫn còn gần 400 chỗ trống (gaps) chưa được giải mã, trong đó chủ yếu là các đoạn lặp phức tạp. Do đó, sau khi kết thúc dự án HGP, các nỗ lực vẫn tiếp tục để làm sáng tỏ các khoảng trống đó. Vào ngày 31/3/2022, Dự án Telomere-to-Telomere (T2T) đã công bố việc giải mã hoàn toàn các khoảng trống còn lại và lần đầu tiên toàn bộ hệ gen hoàn chỉnh của con người được giải trình tự hoàn toàn.

Có khoảng 19.000 - 20.000 gen mã hóa protein ở người. Ước tính số lượng gen của con người đã được điều chỉnh nhiều lần so với dự đoán ban đầu từ 100.000 hoặc nhiều hơn khi chất lượng phân tích chuỗi gen và phương pháp xác định gen đã được cải thiện, và có thể tiếp tục giảm hơn nữa. Chuỗi mã hóa protein chỉ chiếm một phần rất nhỏ của hệ gen (khoảng 1,5%), và phần còn lại được liên kết với các phân tử ARN không mã hóa, trình tự ADN điều hòa, LINE, SINE, intron và các trình tự không mã hóa chưa xác định.

3.2. Ý nghĩa của dự án hệ gen người

Ảnh hưởng đối với công nghệ sinh học

Trước hết, một trong những di sản quan trọng nhất của Dự án HGP là tất cả các trình tự gen người sau khi giải mã đều nhanh chóng được công bố rộng rãi cho cộng đồng khoa học dưới dạng cơ sở dữ liệu mở. Đây cũng là sự mở đầu của việc chia sẻ rộng rãi các dữ liệu nghiên cứu y sinh học.

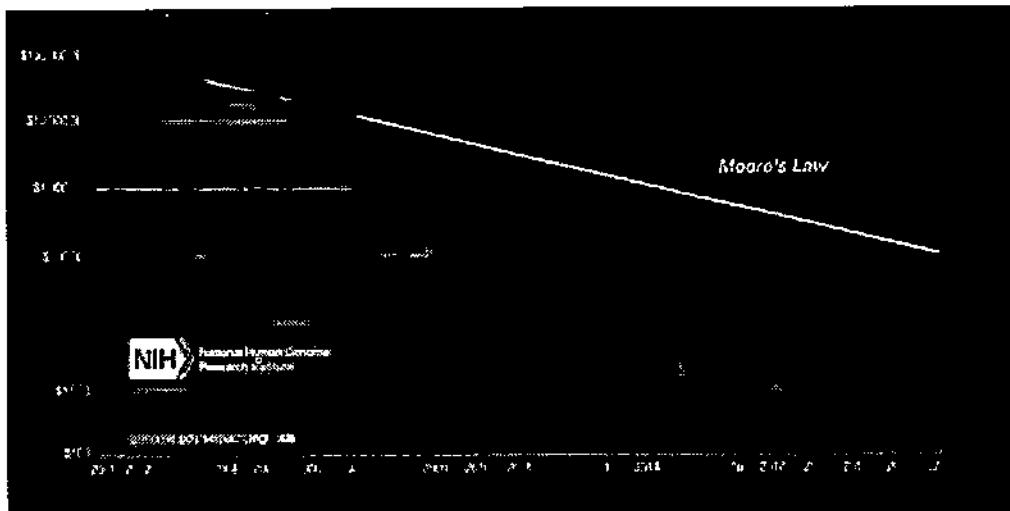
Thứ hai, Dự án HGP mở ra sự phát triển vượt bậc của ngành khoa học proteomics, giúp xác định cấu trúc, chức năng và định lượng các protein của người.

Thứ ba, Dự án HGP mở ra sự hiểu biết hoàn toàn mới về tiến hóa trong sinh giới. Cùng với việc hoàn thành giải mã hệ gen người, hàng nghìn loài khác cũng đã được giải mã hệ gen, việc so sánh dữ liệu hệ gen của các loài giúp hoàn thiện việc xây dựng cây tiến hóa của sinh giới.

Thứ tư, Dự án HGP thúc đẩy sự phát triển ứng dụng của các công cụ tính toán tin sinh học trong nghiên cứu y sinh học, giúp hình thành và quản lý những bộ dữ liệu khổng lồ về trình tự của các hệ gen. Ngày nay, tin sinh học đã trở thành một công cụ không thể thiếu trong nghiên cứu hệ gen và giải trình tự gen.

Thứ năm, dự án HGP khởi động cho sự khám phá các phần khác nhau trong hệ gen người, làm sáng tỏ cấu trúc, chức năng và sự tương tác giữa các phần đó. Ví dụ như tiếp nối dự án HGP, dự án ENCODE (Encyclopedia Of DNA Elements) được khởi động từ năm 2003 bởi Bộ Y tế Hoa Kỳ nhằm mục đích khám phá các vùng chức năng của hệ gen người, tạo ra cơ sở dữ liệu quan trọng về mạng lưới điều hòa biểu hiện gen. Cũng từ Dự án HGP, đã ra đời các hệ gen quy chiếu của người, giúp làm đối chứng chuẩn cho các nghiên cứu tiếp theo về gen người.

Cuối cùng, các dự án khám phá hệ gen người đã thúc đẩy sự phát triển vượt bậc của công nghệ giải trình tự gen, theo thời gian, đã có sự tăng đáng kể về độ chính xác của kết quả giải trình tự ADN trong khi giảm đáng kể về thời gian và chi phí cho xét nghiệm gen và giải trình tự gen (Hình 1.4).

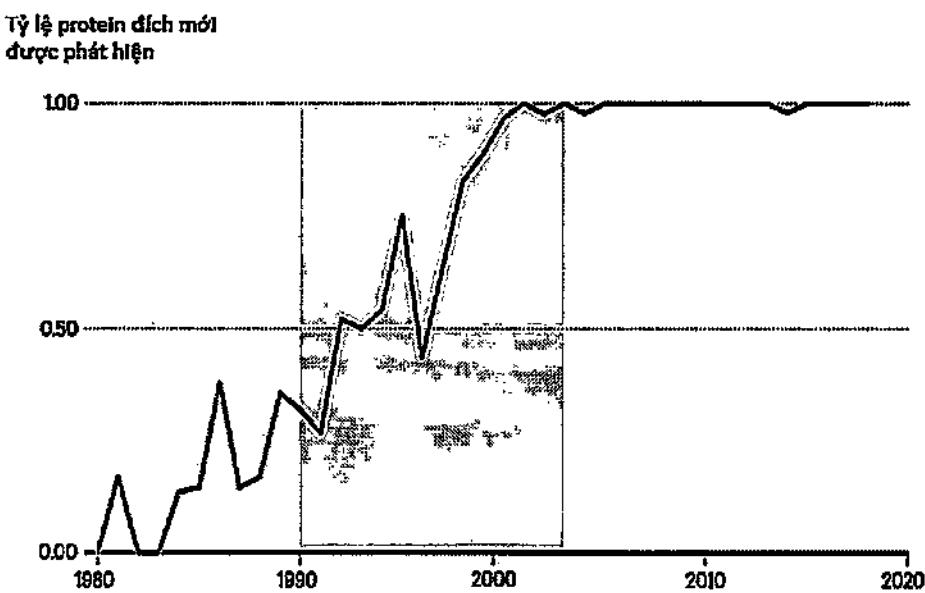


Hình 1.5. Tốc độ giảm nhanh chóng về chi phí giải trình tự toàn bộ gen

Đường thẳng màu trắng là ước tính mức giảm chi phí giải trình tự 1 hệ gen theo định luật Moore; Đường cong màu xanh là chi phí giải trình tự 1 hệ gen trong thực tế

Ảnh hưởng đối với y sinh dược học

Dự án HGP đã khởi động việc khám phá hệ gen của hàng chục nghìn người khác nhau, tạo ra những bộ dữ liệu khổng lồ, trên cơ sở đó, các nhà khoa học tiếp tục khám phá và so sánh hệ gen người trong trạng thái bình thường khỏe mạnh và trong các bệnh lý để tìm hiểu và khám phá các chỉ dấu sinh học giúp cho việc chẩn đoán, theo dõi điều trị và tiên lượng của nhiều bệnh khác nhau bao gồm cả các bệnh di truyền và bệnh không di truyền. Nhiều bệnh hiếm trước kia rất khó để chẩn đoán và tìm nguyên nhân thì nhờ những khám phá về hệ gen người, đã có thể biết được nguyên nhân do đột biến gen, từ đó một mặt phát triển thành các bộ kit chẩn đoán, sàng lọc di truyền, mặt khác dẫn tới những giải pháp điều trị phù hợp, bao gồm cả những biện pháp trị liệu công nghệ cao để sửa chữa/ thay thế các khuyết điểm khuyết về gen như gen trị liệu hay công nghệ tế bào gốc. Bên cạnh các bệnh di truyền, sự hiểu biết về hệ gen người có những đóng góp to lớn cho các tiến bộ trong lĩnh vực điều trị ung thư. Ví dụ như các dự án về hệ gen ung thư (International Cancer Genome Consortium và Cancer Genome Atlas) đem lại những hiểu biết sâu sắc lần đầu tiên về sự khác biệt giữa tế bào ung thư và tế bào khỏe mạnh, các cơ chế bệnh sinh của nhiều loại ung thư khác nhau. Sàng lọc gen gây ung thư, giúp phát hiện và điều trị sớm ung thư, đặc biệt đối với những người có tiền sử mắc ung thư trong gia đình đã được ứng dụng rộng rãi hiện nay, đem lại cơ hội sống khỏe mạnh cho rất nhiều người. Mặt khác, từ hiểu biết về cơ chế bệnh sinh của các bệnh đã dẫn đến sự khám phá của nhiều đích phân tử, dẫn tới sự ra đời của nhiều nhóm thuốc điều trị tiên tiến như các thuốc điều trị đích, giúp cải thiện đáng kể hiệu quả điều trị, kéo dài thời gian sống và giảm các tác dụng không mong muốn trong điều trị ung thư.



Hình 1.6. Số lượng đích phân tử của thuốc được phát hiện tăng vọt sau khi hoàn thành Dự án Hệ gen người

Một ứng dụng quan trọng khác của các khám phá về hệ gen người là hiểu biết về ảnh hưởng của gen tới đáp ứng của từng cá thể bệnh nhân đối với thuốc điều trị, với sự phát hiện của các biến thể gen ảnh hưởng tới được động học, được lực học của thuốc. Lần đầu tiên, xét nghiệm gen được ứng dụng trong việc lựa chọn thuốc phù hợp cho từng cá thể bệnh nhân để nhằm đem lại hiệu quả tốt nhất và an toàn nhất cho người bệnh. Từ đó ra đời xu hướng mới của y học hiện đại mà ngày nay đang phát triển nhanh chóng trong nhiều nhóm điều trị khác nhau: cá thể hóa điều trị.

Ảnh hưởng trong các lĩnh vực khác

Bên cạnh những giá trị to lớn đối với sự phát triển của y sinh dược học và công nghệ sinh học, Dự án HGP còn có những ảnh hưởng đối với nhiều lĩnh vực khác. Ví dụ như trong pháp y, xét nghiệm ADN đã trở thành một công cụ quan trọng và hiệu quả bên cạnh các dấu vân tay hay các xét nghiệm truyền thống khác.

Ngoài ra, Dự án HGP làm thay đổi nhận thức và hệ thống pháp luật về các vấn đề như sự bảo mật riêng tư đối với dữ liệu di truyền, quyền con người, chống lại nạn phân biệt chủng tộc khi biết rằng, không có sự khác biệt đáng kể về trình tự gen giữa các màu da khác nhau...

KẾT LUẬN

Trên cơ sở phân tích khái niệm, đặc điểm của hệ gen người và ý nghĩa của việc nghiên cứu hệ gen người giúp hiểu biết và nghiên cứu về nguồn gốc sự sống và đặc biệt nghiên cứu về nguyên nhân gây bệnh cũng như cơ sở khoa học trong việc điều trị. Trên cơ sở đó các nhà khoa học có thể nghiên cứu khám phá ra những phương pháp điều trị và thuốc điều trị đặc hiệu và trúng đích.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Alexander J. Gates et al. A wealth of discovery built on the Human Genome Project - by the numbers *Nature* | Vol 590 | 11 February (2021).
2. Allison Piovesan et al, On the length, weight and GC content of the human genome *BMC Res Notes* (2019) 12:106.
3. Leroy Hood and Lee Rowen, The uman enome roject: big science transform biology and medicine. *Genome Medicine* (2013), 5:79.
4. Nurk et al., The complete sequence of a human genome *Science* 376, 44-53 (2022).

Chương 2

CÁC KIỂU ĐA HÌNH VÀ ĐỘT BIẾN GEN

MỤC TIÊU HỌC TẬP

Phân tích được các kiểu đa hình và đột biến gen.

1. KHÁI NIỆM ĐỘT BIẾN VÀ KIỂU ĐA HÌNH GEN

Đột biến có thể được định nghĩa là sự thay đổi cấu trúc trong ADN có thể truyền từ thế hệ tế bào này sang các thế hệ tế bào khác. Một đột biến được coi là đột biến dòng tế bào mầm (germline) nếu nó xuất hiện trong giao tử được thụ tinh dẫn đến hình thành cá thể mà đột biến đó xuất hiện trong tất cả các tế bào. Đột biến được gọi là đột biến tế bào sinh dưỡng (somatic) nếu xảy ra sau khi thụ thai và chỉ xuất hiện trong một số các tế bào cơ thể.

Kiểu đa hình gen là biến đổi gen xảy ra với tần suất lớn (> 1%).

2. PHÂN LOẠI ĐỘT BIẾN THEO CẤU TRÚC

Sự thay đổi cấu trúc trong hệ gen có thể được phân loại thấp hơn nữa tùy thuộc thay đổi đó có liên quan đến tất cả hoặc một phần của nhiễm sắc thể (đột biến lớn), hay có liên quan đến một phân đoạn nhỏ của ADN di truyền (đột biến nhỏ).

2.1. Đột biến điểm

Đột biến điểm là sự thay đổi một nucleotid duy nhất và cũng được gọi là sự thay thế nucleotid. Nếu sự thay thế purin cho purin (thay đổi A thành G hoặc G thành A) hoặc một pyrimidin cho một pyrimidin (thay đổi từ C sang T hoặc T sang C) thì đột biến đó gọi là đột biến đồng hoán (transition). Nếu sự thay thế purin cho một pyrimidin, hoặc ngược lại, được gọi là đột biến đảo hoán hay dị hoán (transversion). Các đột biến trong tự nhiên có khoảng hai phần ba là đột biến đồng hoán và một phần ba là đột biến đảo hoán. Đột biến phổ biến nhất quan sát thấy ở con người là quá trình đồng hoán C của một cặp dinucleotide CpG để tạo thành TpG. Loại đột biến này xảy ra nhiều hơn ở dòng tế bào gốc ở nam hơn ở nữ, có lẽ bởi số lượng phân chia tế bào liên quan đến sự hình thành tinh trùng lớn hơn

nhiều so với sự phân chia tế bào để hình thành trứng, do đó có nhiều cơ hội để xảy ra sai sót trong quá trình nhân bản ADN ở nam giới hơn.

Tùy thuộc vào ảnh hưởng của đột biến đối với sản phẩm protein, sự thay thế nucleotid có thể được chia thành đột biến câm (silent mutation), đột biến sai nghĩa (missense mutation), đột biến vô nghĩa (nonsense mutation), đột biến điều hòa (regulatory mutation) và đột biến quá trình xử lý ARN (RNA processing mutation).

- *Đột biến câm (silent mutations)*: Đây là những đột biến do sự thay đổi của mã di truyền nhưng không làm thay đổi acid amin được mã hóa. Ví dụ: Valin được mã hóa bởi 4 codon khác nhau GUU, GUA, GUC và GUG (Hình 2.1) và bất kỳ sự thay thế nào của nucleotid thứ ba sẽ là đột biến câm.

- *Đột biến sai nghĩa (missense mutation)*: Đột biến sai nghĩa làm thay đổi một acid amin này bằng một acid amin khác. Đột biến sai nghĩa bảo tồn (conservative) không ảnh hưởng đến chức năng protein, trong khi đó đột biến sai nghĩa không bảo tồn (non-conservative) làm thay đổi chức năng của protein, thường làm mất chức năng của protein. Ví dụ về đột biến loại này là đột biến gây ra bệnh hồng cầu liềm liên quan đến sự thay thế nucleotid A thành T, kết quả là sự thay đổi acid glutamic bằng valin. Đột biến sai nghĩa chiếm từ 45 - 50% tổng số các đột biến gây bệnh ở người.

- *Đột biến vô nghĩa (nonsense mutation)*: Đột biến vô nghĩa tạo ra mã kết thúc mới (UAA, UAG hoặc UGA) do đó làm kết thúc quá trình dịch mã sớm. Đột biến vô nghĩa chiếm 11% các đột biến gây bệnh. Đột biến loại này thường gây hậu quả làm mRNA bị phân hủy sớm trước khi diễn ra quá trình dịch mã.

- *Đột biến điều hòa (regulatory mutation)*: Là loại đột biến xảy ra ở vùng promoter hoặc vùng chức năng điều hòa khác như: enhancer, silencer... Các đột biến loại này còn được gọi tên là đột biến phiên mã (transcription mutation). Hầu hết các đột biến loại này làm giảm mRNA, một số có khả năng làm tăng phiên mã.

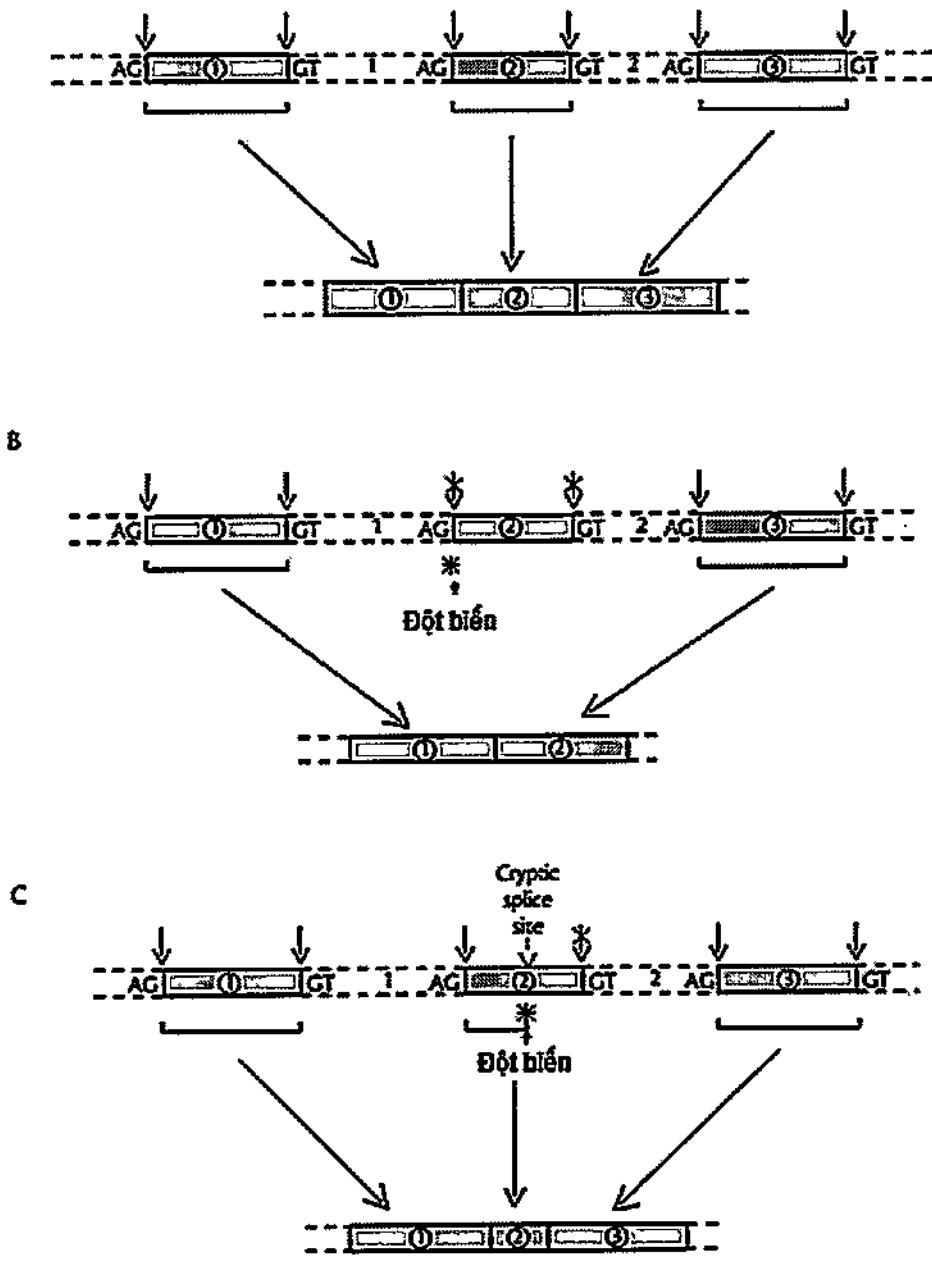
Base thứ hai				
	U	C	A	
U	UUU UUC UUA UUG	UCU UCC UCA UCG	UAU UAC UAA UAG	UGU UGC UGA UGG
	Phe	Ser	Tyr Stop	Cys Stop Trp
C	CUU CUC CUA CUG	CCU CCC CCA CCG	CAU CAC CAA CAG	CGU CGC CGA CGG
		Pro		
A	AUU AUC AUA AUG	ACU ACC ACA ACG	AAU AAC AAA AAG	AGU AGC AGA AGG
	Ile	Thr		Ser
	Met		Lys	Arg
G	GUU GUC GUA GUG	GCU GCC GCA GCG	GAU GAC GAA GAG	GGU GGC GGA GGG
		Ala		
Ala - alanine Arg - arginine Asn - asparagine Asp - aspartic acid Cys - cysteine Gln - glycine Glu - glutamine Gly - glutamic acid				
His - histidine Ile - isoleucine Leu - leucine Lys - lysine Met - methionine Phe - phenylalanine Pro - proline Ser - serine				
Thr - threonine Trp - tryptophan Tyr - tyrosine Val - valine				

Hình 2.1. Bộ ba mã hóa của các acid amin

Bảng 2.1. Tỷ lệ biểu hiện của các kiểu đột biến

Kiểu đột biến	Tỷ lệ biểu hiện (%)
<i>Đột biến điểm</i>	
Đột biến sai nghĩa (missense)	47
Đột biến vô nghĩa (non-sense)	11
Đột biến trượt gen (splice-site)	10
Đột biến điều hòa (regulatory)	1
<i>Đột biến thêm đoạn và mất đoạn</i>	
Đột biến mất đoạn lớn	5
Đột biến mất đoạn nhỏ	16
Đột biến thêm đoạn và lặp đoạn lớn	1
Đột biến thêm đoạn nhỏ	6
Các đột biến khác	3

- *Đột biến quá trình hoàn thiện ARN (RNA processing mutation)*: Các đột biến loại này xảy ra trong quá trình hoàn thiện ARN nguyên sơ để hình thành mARN trưởng thành, thường làm thay đổi quá trình cắt intron (splicing) hoặc ngăn cản quá trình gắn bảo vệ đầu 3' và 5'. Đột biến làm thay đổi quá trình cắt intron thường xảy ra ở trình tự GT hoặc AG ở đầu hoặc cuối mỗi intron, kết quả làm mất hoàn toàn một exon hoặc làm xuất hiện vị trí phân cắt mới làm mất một phần exon. Đột biến loại này thường thấy trong bệnh β-thalassaemia.



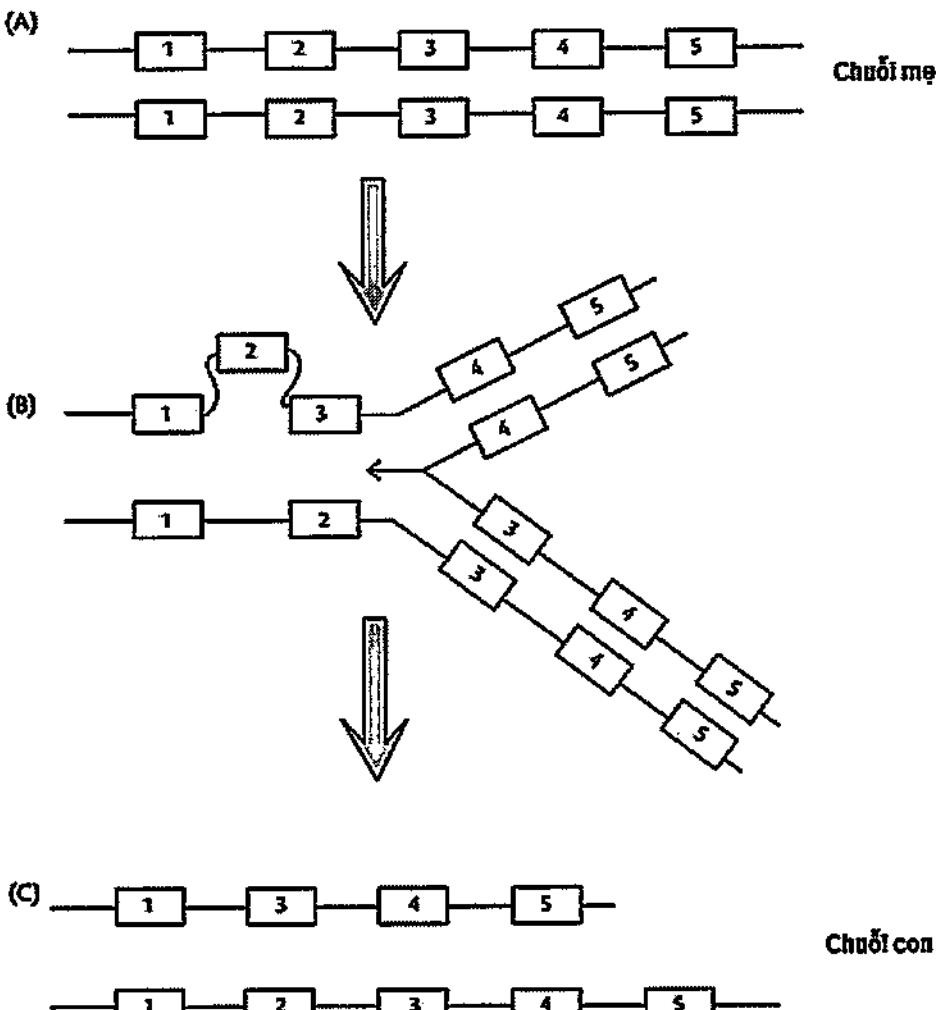
Hình 2.2. Đột biến ảnh hưởng đến quá trình splicing

2.2. Đột biến thêm đoạn hoặc mất đoạn (deletion, insertion)

Đột biến loại này có thể được phân loại theo kích thước vùng đột biến.

- **Đột biến thêm đoạn hay mất đoạn nhỏ:** Đột biến loại này do thêm hay mất một vài nucleotid thường xảy ra trong quá trình tái bản ADN làm sai lệch quá trình bắt cặp giữa các nucleotid bổ sung của hai chuỗi. Nếu số lượng nucleotid thêm vào hoặc mất đi

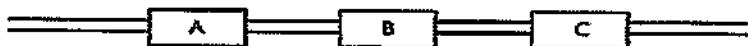
không là bội số của 3 sẽ làm sai lệch trình tự khung đọc mã (đột biến dịch khung frame-shift) hậu quả thường làm cắt ngắn trình tự acid amin của protein. Nếu số nucleotid thêm vào hay mất đi là bội số của 3 tức là bớt hay thêm mã sẽ không ảnh hưởng đến quá trình đọc mã và hậu quả ít nghiêm trọng hơn. Đột biến thêm hoặc mất đoạn nhỏ chiếm khoảng 22% các loại đột biến.



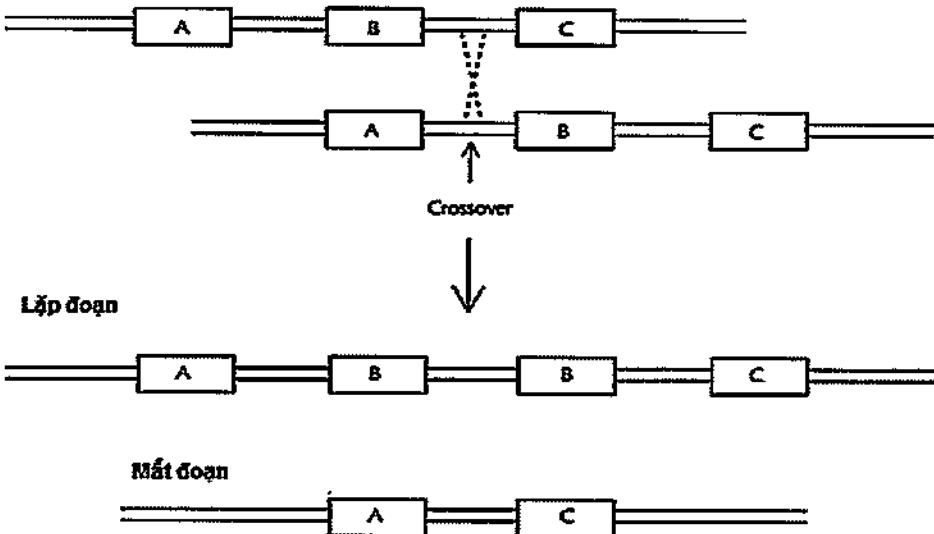
Hình 2.3. Đột biến mất đoạn nhỏ

- **Đột biến thêm hoặc mất đoạn lớn:** Thường thêm hoặc mất đoạn có kích thước từ 20bp đến 10Mb. Nếu thêm hoặc mất đoạn lớn hơn 10Mb thì có thể quan sát được dưới kính hiển vi và được gọi là bất thường về nhiễm sắc thể. Đột biến mất hoặc thêm đoạn lớn chiếm khoảng 5 - 6% các loại đột biến gây bệnh. Hầu hết các đột biến mất hoặc thêm đoạn lớn được gây ra bởi sự nhầm lẫn trong bắt cặp bổ sung của các trình tự giống nhau.

Cặp đôi bình thường



Cặp đôi sai



Hình 2.4. Đột biến mất và lặp đoạn lớn

3. PHÂN LOẠI ĐỘT BIẾN THEO CHỨC NĂNG

Có thể phân chia làm 3 loại như sau:

3.1. Các đột biến làm mất chức năng

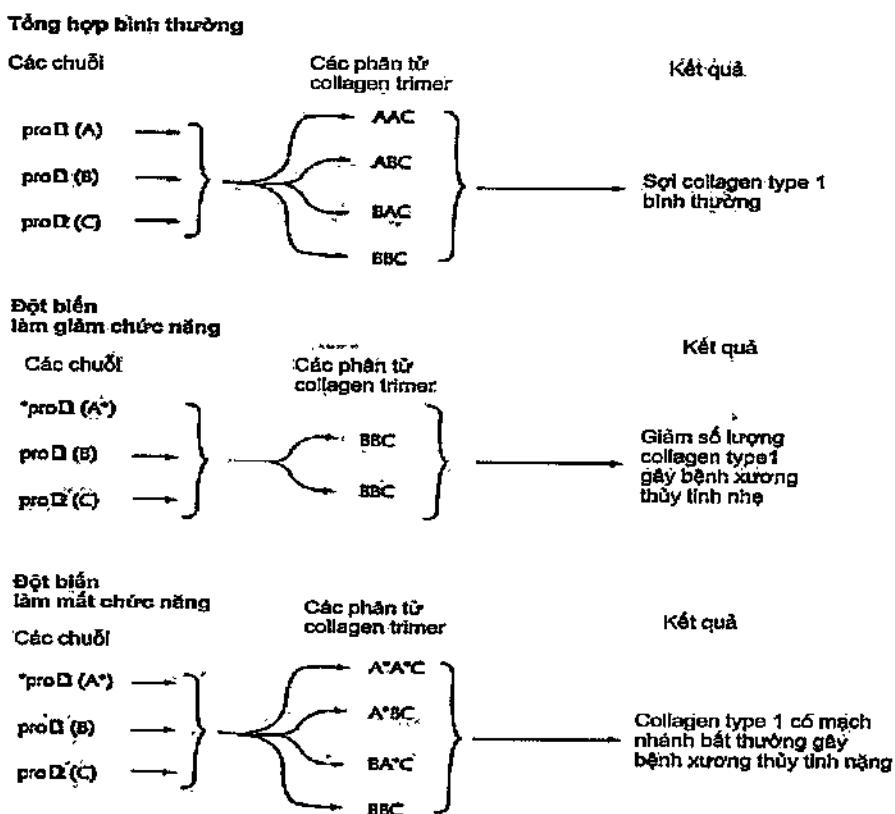
Là những đột biến làm giảm hoạt tính hoặc chức năng hoặc số lượng của protein. Trừ các đột biến sai nghĩa, hầu hết các đột biến còn lại đều thuộc loại làm mất chức năng protein tương ứng. Đột biến làm mất chức năng có thể có mặt trong di truyền tính trạng trội hoặc tính trạng lặn. Hầu hết các sai lệch trong chuyển hóa bẩm sinh đều do các đột biến làm mất chức năng và vô hại khi ở dạng dị hợp tử. Điều đó cho thấy, chỉ cần 50% hoạt tính bình thường của enzym là đủ cho hoạt động bình thường của cơ thể. Đây là hiện tượng di truyền tính trạng lặn nhiễm sắc thể thường (gen đột biến ở thể lặn). Tuy nhiên, một số trường hợp như bệnh rối loạn chuyển hóa porphirin, khi mất 50% hoạt tính enzym là mất hoàn toàn chức năng, đây là hiện tượng (di truyền tính trạng trội nhiễm sắc thể thường) gen đột biến ở thể trội.

3.2. Các đột biến làm tăng cường chức năng

Là các đột biến làm tăng hoạt tính hoặc số lượng protein. Các đột biến loại này ít gặp hơn loại đột biến làm mất chức năng. Đột biến làm tăng cường chức năng thường làm tăng cường tính trạng trội. Một dạng hiếm hoi nữa là khi gen đột biến tạo ra sản phẩm có hoạt tính mới hoàn toàn thường gặp trong ung thư. Các đột biến kiểu này thường là kết quả của sự chuyển vị làm xuất hiện một trình tự mới hoặc lặp lại một trình tự cũ trong gen.

3.3. Các đột biến làm giảm chức năng (dominant negative effect)

Một đột biến làm giảm chức năng xuất hiện khi sản phẩm protein của allele đột biến ảnh hưởng đến việc sản xuất protein của allele bình thường. Đột biến loại này thường xảy ra với các protein có nhiều chuỗi, nếu một trong các chuỗi bị đột biến sẽ làm mất chức năng của cả phân tử. Ví dụ điển hình của đột biến loại này là bệnh xương thủy tinh (brittle bone disease hay osteogenesis imperfecta). Bệnh này gây ra do đột biến một hoặc hai gen *COLIA1* và *COLIA2* mã hóa cho những chuỗi để tạo thành phân tử trimer là collagen type I.



Hình 2.5. Đột biến gây bệnh xương thủy tinh

4. CÁCH GỌI TÊN, KÝ HIỆU KIẾU ĐA HÌNH GEN

Có thể gọi tên kiểu đa hình gen theo thứ tự nucleotid hoặc theo thứ tự acid amin.

4.1. Gọi tên kiểu đa hình gen theo thứ tự nucleotid

Tên kiểu đa hình được viết lần lượt: Bắt đầu bằng tên gen, thứ tự nucleotid bị biến đổi, nucleotid bình thường (wt), dấu > hoặc /, nucleotid bị thay thế (m).

Ví dụ: APOA1 75G/A hoặc APOA1 75G>A.

Nếu nucleotid bị biến đổi nằm ở phần promoter thì có thêm dấu trừ “-” ở trước thứ tự nucleotid.

Nếu nucleotid không bị thay thế mà bị mất thì viết như sau: Tên gen thứ tự nucleotid bị mất + “del” + nucleotid mất.

Ví dụ: CETP 267delA.

Nếu nucleotid bị lặp thì thay “del” bằng “dup”.

Ví dụ: GENDUOC 2020dupC.

Nếu nucleotid bị thêm vào thì ký hiệu: Tên gen + “_” + thứ tự nucleotid bị thêm + “ins” + nucleotid bị thêm.

Ví dụ: GENDUOC_2020insG.

Tên kiểu đa hình luôn dùng chữ in nghiêng.

4.2. Tên kiểu đa hình theo thứ tự acid amin

Tên kiểu đa hình được viết lần lượt: Bắt đầu bằng tên gen, acid amin bình thường (wt), thứ tự acid amin bị biến đổi, acid amin bị biến đổi (m).

Ví dụ: CETP A442P.

Mỗi kiểu đa hình được ký hiệu bằng mã số rs trong ngân hàng dữ liệu SNP (dbSNP).

KẾT LUẬN

Gen được chủ yếu nghiên cứu về ảnh hưởng của các kiểu đa hình đơn nucleotid thường có tần suất xuất hiện lớn hơn 1% lên đáp ứng thuốc. Tùy thuộc vào bản chất sự thay đổi nucleotid của kiểu đa hình mà có thể phân chia thành các loại khác nhau và có các ảnh hưởng khác nhau đến đáp ứng thuốc.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. International Human Genome Sequencing Consortium (2001). Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*, 409, 860-921.
2. Johan T.den Dunnen et al. (2000). Mutation Nomenclature Extensions and suggestions to describe Complex mutations: A Discussion. *Human Mutation* 15:7-12 2000.
3. Shuji Ogino, Margaret L. Gulley et al. (2007). Standard Mutation Nomenclature in Molecular Diagnostics - Practical and Educational Challenges. *Journal of Molecular Diagnostics*, Vol. 9, No. 1, February 2007.
4. Venter JC, Adams MD, Myers EW et al. (2001). The sequence of the human genome. *Science*, 291, 1304-1351.

Chương 3

GIỚI THIỆU CÁC KHÁI NIỆM LIÊN QUAN ĐẾN GEN DƯỢC HỌC

MỤC TIÊU HỌC TẬP

1. *Phân tích được các khái niệm liên quan đến Gen dược học.*
2. *Phân biệt được Hệ gen dược học và Gen dược học.*

Các cá thể khác nhau có sự khác biệt lớn đến đáp ứng với thuốc. Một số bệnh nhân cho thấy đáp ứng điều trị rõ rệt với một loại thuốc nhất định, trong khi những người khác thì không. Ngoài ra, một số bệnh nhân có thể cần liều cao hơn hoặc thấp hơn đáng kể của thuốc để đạt được lợi ích tối đa hoặc để tránh phản ứng bất lợi. Sự khác biệt giữa các cá thể với đáp ứng thuốc có thể do nhiều yếu tố nhưng đóng góp quan trọng nhất là sự khác biệt về gen. Bên cạnh các yếu tố ảnh hưởng đến sự đáp ứng với thuốc như giới tính, tuổi, chế độ ăn uống, phơi nhiễm môi trường (ví dụ: hóa chất độc hại hoặc khói thuốc lá), tương tác thuốc..., sự biến đổi gen hoặc đa hình gen có vai trò rất quan trọng, quyết định đến hiệu quả điều trị và độ an toàn của một thuốc. Do vậy, lĩnh vực khoa học nghiên cứu về sự khác biệt của gen ảnh hưởng đến sự khác biệt về đáp ứng thuốc ngày càng được quan tâm và chú trọng.

1. CÁC KHÁI NIỆM LIÊN QUAN ĐẾN GEN DƯỢC HỌC

1.1. Gen dược học (Pharmacogenetics)

1.1.1. Lịch sử nghiên cứu Gen dược học

Vào khoảng năm 1898, nhà khoa học, bác sĩ người Anh, Archibald Garrod đã nhận thấy có sự khác biệt giữa các bệnh nhân về hiệu quả và chuyển hóa thuốc được thể hiện qua sự khác biệt về sắc tố nước tiểu của bệnh nhân tại Bệnh viện St. Bartholomew. Nền móng đầu tiên của Gen dược học được xây dựng từ cuối thế kỷ 19, đầu thế kỷ 20 với những định luật di truyền của Mendel về quy luật truyền các đặc tính bên ngoài (hiện nay được gọi là kiểu hình) từ thế hệ này sang thế hệ khác và về vai trò của gen, nhiễm sắc thể trong việc quy định các đặc tính đó. Một dấu mốc quan trọng mở ra sự phát triển nhanh chóng của Gen dược học là sự khám phá cấu trúc ADN của Watson và Crick năm 1953. Chỉ sau đó ít năm, năm 1956, lần đầu tiên ảnh hưởng của gen đến đáp ứng thuốc được ghi nhận với những trường hợp đột biến gen mã hóa glucose 6 phosphat

dehydrogenase (G6PD) dẫn đến nguy cơ vỡ hồng cầu khi dùng thuốc chống sốt rét primaquin; nguy cơ chuyển hóa chậm trên các bệnh nhân sử dụng isoniazid ở bệnh nhân lao làm tăng nguy cơ bệnh thần kinh ngoại biên, ngưng thở kéo dài sau khi dùng succinylcholin, liên quan đến các yếu tố di truyền. Ngay sau đó, năm 1957, A. Motulsky công bố lần đầu tiên về yếu tố di truyền liên quan đến phản ứng có hại của thuốc, ông được coi là cha đẻ của Gen dược học. Khái niệm “pharmacogenetics” - Gen dược học, được đưa ra bởi F. Vogel chỉ 2 năm sau đó (1959) trong công bố nghiên cứu về “sự quyết định về gen đến sự khác biệt giữa các cá thể làm thay đổi đáp ứng thuốc”. Chuyên luận đầu tiên về Gen dược học: “Gen dược học: gen và đáp ứng với thuốc” (1962) của W. Kalow, dựa trên công trình tiên phong về mối quan hệ giữa sự đa hình gen mã hóa butyrylcholinesterase và nguy cơ ngưng thở kéo dài khi sử dụng succinylcholin ở mức liều thường dùng.

Tuy nhiên, nghiên cứu về Gen dược học chỉ thực sự phát triển sau khi dự án xây dựng bản đồ hệ gen người (Human genome project) được khởi động năm 1990 và hoàn thành vào tháng 4 năm 2003. Kết quả của dự án, một bản đồ chi tiết về trình tự ADN của hệ gen người, là cơ sở dữ liệu quan trọng cho các nghiên cứu về Gen dược học. Theo kết quả của dự án này, có khoảng 3 tỷ cặp nucleotid nhưng hệ gen người lại giống nhau đến 99,9%; chính những khác biệt rất nhỏ nằm trong 0,1% còn lại đã quy định và nắm giữ các hoạt động sinh lý, các vấn đề sức khỏe của cơ thể. Sự khác biệt hệ gen tiếp tục được khám phá nhờ dự án Hapmap khởi động vào năm 2002. Dự án Hapmap nhằm xác định các tập hợp biến thể thường gặp trong hệ gen người, những kiểu đa hình của mỗi gen, tần suất xuất hiện trong từng chủng tộc nhất định, mối liên quan với các gen khác. Các kết quả này là cơ sở để tìm ra những đa hình liên quan tới dao động về đáp ứng thuốc trong mỗi quần thể, một mục tiêu quan trọng của các nghiên cứu phối hợp toàn thể hệ gen (Genome-wide association studies (GWAS)). Cho đến nay, một mạng lưới các nhà nghiên cứu Gen dược học trên thế giới đã được hình thành và ngày càng phát triển, kết nối nhiều quốc gia, nhiều trung tâm nghiên cứu, tạo thành cơ sở dữ liệu phong phú với hàng loạt gen và biến thể khác nhau đã được phát hiện có liên quan đến đáp ứng điều trị. Khái niệm “Cá thể hóa điều trị” (personalized medicine) đã trở nên phổ biến rộng rãi với mục đích ứng dụng các kết quả nghiên cứu trên trong lâm sàng để có những quyết định điều trị phù hợp nhất cho từng cá thể người bệnh. Do đó, cần nắm bắt được trước thông tin và khai thác tối đa sự khác biệt trong mỗi hệ gen để từ đó có thể dự đoán được những tác dụng không mong muốn có nguy cơ mắc phải và đáp ứng của các loại thuốc cho từng bệnh nhân. Tức là, dựa trên thông tin về gen của mỗi người có thể biết trước được người đó sẽ có nguy cơ mắc những bệnh gì; sẽ kháng, nhạy cảm hay không đáp ứng với những nhóm, loại thuốc nào cũng như khả năng thích ứng cho từng môi trường ra sao. Dựa vào đó, thầy thuốc sẽ đưa ra cách điều trị cụ thể, phù hợp với từng đối tượng.

1.1.2. Định nghĩa

Năm 1959, Friedrich Vogel (nhà khoa học người Đức) đưa ra khái niệm “Pharmacogenetics”, tạm dịch là “Gen dược học”. Gen dược học là chuyên ngành nghiên cứu ảnh hưởng của sự khác biệt giữa các cá thể về cấu trúc của ADN (phổ biến là sự đa hình gen, có tính di truyền), đến sự khác biệt về mức độ đáp ứng thuốc, cả về tác dụng điều trị cũng như tác dụng không mong muốn.

Hiện nay chúng ta biết rằng sự thất bại trong điều trị cũng như tác dụng không mong muốn nghiêm trọng của thuốc đối với cá thể hoặc quần thể bệnh nhân có thể do khác biệt về gen. Biết các biến thể gen gây ra sự khác biệt về đáp ứng thuốc giữa các bệnh nhân cho phép cá thể hóa điều trị thuốc, giúp tránh thất bại trong điều trị và các tác dụng không mong muốn nghiêm trọng.

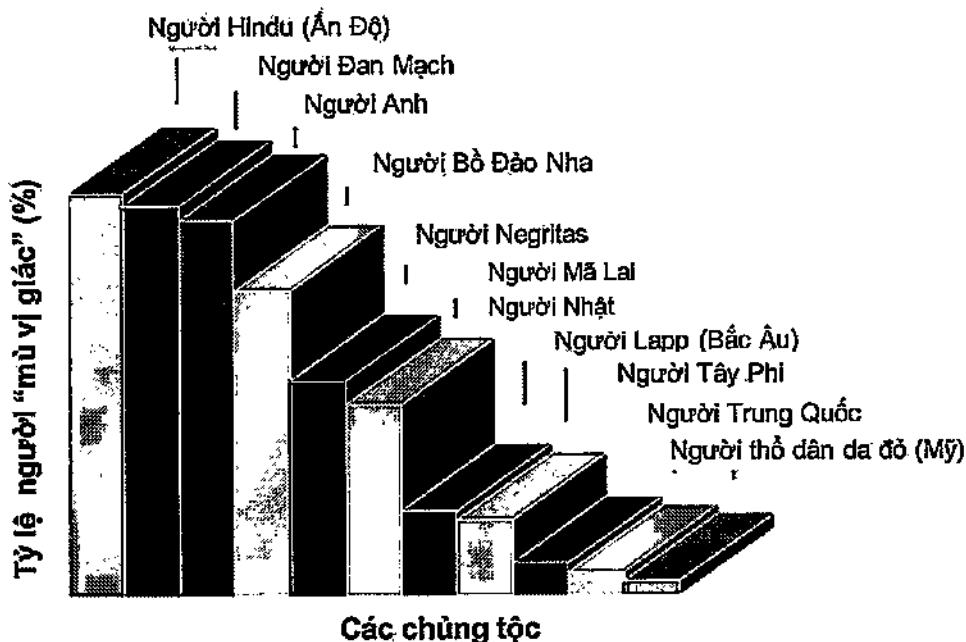
Tên gọi của môn học là sự kết hợp giữa dược học (pharmacology) và gen (genetics), thể hiện mối liên quan giữa ảnh hưởng của gen và đáp ứng thuốc. Đây là một nhánh của khoa học giải thích sự thay đổi của đáp ứng thuốc liên quan với sự khác biệt về gen giữa các cá thể. Khi mới bắt đầu quan tâm đến lĩnh vực này thường mới chỉ xem xét tới sự khác biệt về gen trên các đối tượng đơn lẻ, dần dần mở ra với quy mô lớn hơn, đó là giữa các quần thể.

Nhiều nhà nghiên cứu về Gen dược học chủ yếu quan tâm đến loài người nhưng khoa học áp dụng cho tất cả các đối tượng sống trên trái đất, từ nguyên thủy hoặc phức tạp, có khả năng đáp ứng với thuốc hoặc hóa chất độc hại. Nghiên cứu về Gen dược học phần lớn đề cập về sự khác biệt giữa người này với người kia trong chuyển hóa và đáp ứng với thuốc. Lĩnh vực này bao gồm cơ chế về sự đa hình các gen ảnh hưởng đến sự hoạt động của thuốc đối với từng người. Sự khác biệt về gen di truyền có nghĩa là một loại thuốc có thể an toàn cho một người nhưng lại có hại cho người khác. Một người có thể chịu tác dụng không mong muốn nghiêm trọng từ một loại thuốc, nhưng người khác lại không bị như vậy, ngay cả nếu người đó dùng thuốc với liều tương tự.

1.1.3. Mối quan hệ giữa Gen dược học - chủng tộc

Các kết quả nghiên cứu đã cho thấy có mối liên quan chặt chẽ với Gen dược học và chủng tộc hay sắc tộc. Năm 1932, L.H. Snyder và cộng sự đã làm thử nghiệm về “mù vị giác”. Đây được coi là nghiên cứu thử nghiệm đầu tiên liên quan đến Gen dược học mặc dù không phải là phản ứng của từng cá thể đối với một loại thuốc điều trị, thay vào đó là sự khác biệt trong khả năng nếm một hóa chất lạ; cụ thể là không có khả năng nếm hay “mù vị giác” đối với phenylthiocarbamid (PTC). Tuy nhiên, nghiên cứu này được coi là nguyên mẫu cho các nghiên cứu trong tương lai về Gen dược học. Nghiên cứu này cũng chỉ ra có mối liên quan chặt chẽ giữa Gen dược học và chủng tộc. “Mù vị giác” là một trong những tính trạng đầu tiên cho thấy tính đặc hiệu và độ nhạy cao về đáp ứng của con

người với hóa chất. Nghiên cứu lớn này thực hiện với 800 gia đình, chứng “mù vị giác” này được di truyền theo kiểu lặn tự phát và tần suất những người không có vị khác nhau theo các nhóm dân tộc hoặc chủng tộc khác nhau. Các nghiên cứu thực hiện ở một số khu vực dân cư ở các khu vực khác nhau trên thế giới cho thấy số người “mù vị giác” thay đổi hơn 15 lần từ dân số này sang dân số khác, và cho thấy tần suất xuất hiện ở những người “không cảm thấy vị gì” ở châu Âu là 35% - 40%, lớn hơn đáng kể so với 2% - 6% được tìm thấy ở người châu Phi, Trung Quốc, Nhật Bản... (Hình 3.1). Đây được coi nghiên cứu đầu tiên về đa hình gen phổ biến minh chứng cho mối quan hệ chặt chẽ giữa các chủng tộc với đáp ứng của con người với hóa chất. Hơn nữa, trong quá trình nghiên cứu gần đây, các nhà khoa học còn nhận ra rằng đáp ứng của thuốc cũng có khuynh hướng khác biệt giữa các sắc tộc. Chẳng hạn, các thuốc trong nhóm chẹn beta (beta-blockers), điều trị tăng huyết áp, có hiệu quả thấp ở người da đen hay người gốc châu Phi, nhưng lại có hiệu quả cao ở người da trắng hay người gốc châu Âu. Thuốc Fluoxetin, dùng để điều trị chứng trầm cảm, khi dùng ở người da đen phải giảm liều lượng so với người da trắng, bởi vì mức độ chuyển hóa thuốc đó ở người da đen chậm hơn ở người da trắng...



Hình 3.1. Sự khác biệt ở một số chủng tộc với đáp ứng “mù vị giác” sau khi nếm phenylthiocarbamid (PTC)

1.1.4. Mối liên quan giữa đa hình gen - biểu hiện gen

Hệ gen người được tạo thành từ khoảng 3 tỷ cặp base nitơ, trong đó khoảng 20.000 gen mã hóa tạo thành protein. Mỗi gen là một đơn vị chức năng của di truyền. Các gen chứa thông tin xác định trình tự acid amin của protein, các protein rất quan trọng đối với

hầu hết mọi quá trình sinh học quan trọng trong cơ thể bao gồm cả quá trình đáp ứng thuốc. Gen là bộ khuôn mang các thông tin quy định đặc tính cấu trúc, chức năng của sản phẩm cuối cùng của nó, phân tử protein đặc hiệu. Cấu trúc phân tử chuỗi polynucleotid của gen bao gồm một số vùng chức năng cơ bản: vùng tăng cường (enhancer), vùng khởi động (promoter) điều hòa sự biểu hiện của gen, vùng không dịch mã 5' và 3' (UTR), vùng exon mã hóa protein và vùng intron. Kết quả cuối cùng của biểu hiện gen là sự tổng hợp protein và vận chuyển các protein này đến các vị trí đặc trưng của chúng trong các tế bào và mô của mỗi cá thể. Có nhiều loại biến đổi có thể xảy ra với bộ khuôn của gen. Nếu các gen có sự đa hình hay biến đổi trình tự, các protein có thể không được biểu hiện đúng hoặc không hoạt động đúng hoặc không đến được đúng vị trí thích hợp. Tùy vào vị trí xuất hiện biến đổi nằm ở vùng điều hòa, vùng mã hóa hay không mã hóa trên gen mà dẫn đến có thể làm thay đổi về cấu trúc, chức năng và chất lượng phân tử protein đặc hiệu được tổng hợp, từ đó sẽ ảnh hưởng đến đáp ứng thuốc một cách trực tiếp hoặc gián tiếp do tác động bởi các thay đổi liên quan đến các protein trên.

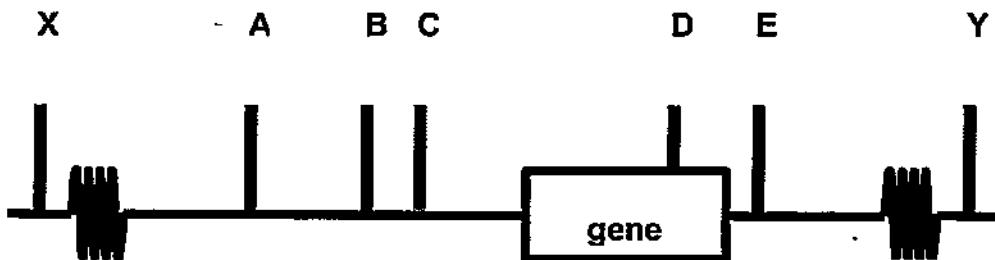
1.1.5. Tính trạng, alen, kiểu gen, kiểu hình

Mendel đã chứng minh rằng mỗi tính trạng (trait) được quy định bởi một gen gồm 2 thành phần (mỗi thành phần là một alen) và thường ký hiệu bằng một cặp chữ cái (hoa hoặc thường - chữ cái hoa biểu diễn đặc tính trội (ví dụ: Y), chữ cái thường biểu diễn đặc tính lặn (ví dụ: y). Như vậy, alen là các dạng khác nhau của một gen nằm tại cùng một vị trí (locus) xác định trên một nhiễm sắc thể cụ thể. Con người được gọi là sinh vật lưỡng bội vì chúng có hai alen ở mỗi vị trí (locus). Do vậy, mỗi người có hai bản sao của hầu hết các gen, một bản sao là một alen, mỗi gen gồm 2 alen nằm ở cùng một vị trí trên 2 nhiễm sắc thể, trong đó một alen được di truyền từ bố và một alen di truyền từ mẹ. Mỗi cặp alen đại diện cho kiểu gen của một gen cụ thể, kiểu gen của một gen trong một cá thể chính là cặp alen của gen đó tại một vị trí trên nhiễm sắc thể. Kiểu gen được mô tả là đồng hợp tử (homozygous) nếu có hai alen có trình tự nucleotid giống nhau ở một locus cụ thể và là dị hợp tử (heterozygous) nếu hai alen khác nhau. Cặp alen đó hoặc là cùng trội (dominant) hoặc cùng lặn (recessive), ví dụ: YY hoặc yy, hoặc cặp alen có thể có một trội, một lặn (ví dụ: Yy). Trong đó, kiểu gen nguyên thủy (wild type), hay kiểu chuẩn, dạng thường gặp nhất trong tự nhiên với tần suất xuất hiện thường là cao nhất của một gen trong quần thể. Alen kiểu nguyên thủy thường là trội và cho kiểu hình bình thường và dùng làm tham chiếu trong nghiên cứu Gen dược học. Các kiểu gen đột biến hay đa hình so với kiểu gen nguyên thủy thường gọi là các biến thể gen (variants). Kiểu gen được thể hiện ra bên ngoài thành kiểu hình (phenotype) thông qua quá trình biểu hiện gen, gồm giai đoạn phiên mã thành mRNA và sau đó là quá trình dịch mã thành protein đặc hiệu.

1.1.6. Haplotype

Các gen nằm gần nhau trên nhiễm sắc thể còn cho thấy có sự tái tổ hợp của các alen, ví dụ như trong quá trình phân bào giảm nhiễm của tế bào sinh dục, do đó có thể xảy ra

sự hình thành các liên kết giữa các SNP. Chính vì vậy, trong Gen được học, ngoài việc khám phá các biến thể tại một vị trí gen, còn xuất hiện khái niệm Haplotype liên quan đến các alen và SNP khác nhau. Haplotype để chỉ sự liên kết giữa các alen, thường là tập hợp các SNP, trong cùng một nhiễm sắc thể, tạo thành một nhóm, tương đối phổ biến, có xu hướng theo khu vực dân và có tính di truyền. Ví dụ, Hình 3.2 minh họa một Haplotype là một nhóm tập hợp các SNP có mối liên kết với nhau và ảnh hưởng đến biểu hiện một gen gần chúng hoặc sở hữu chúng, ký hiệu các SNP này là A, B, C, D, E; trong khi đó, các SNP khác không có mối liên kết, được ký hiệu là X, Y.

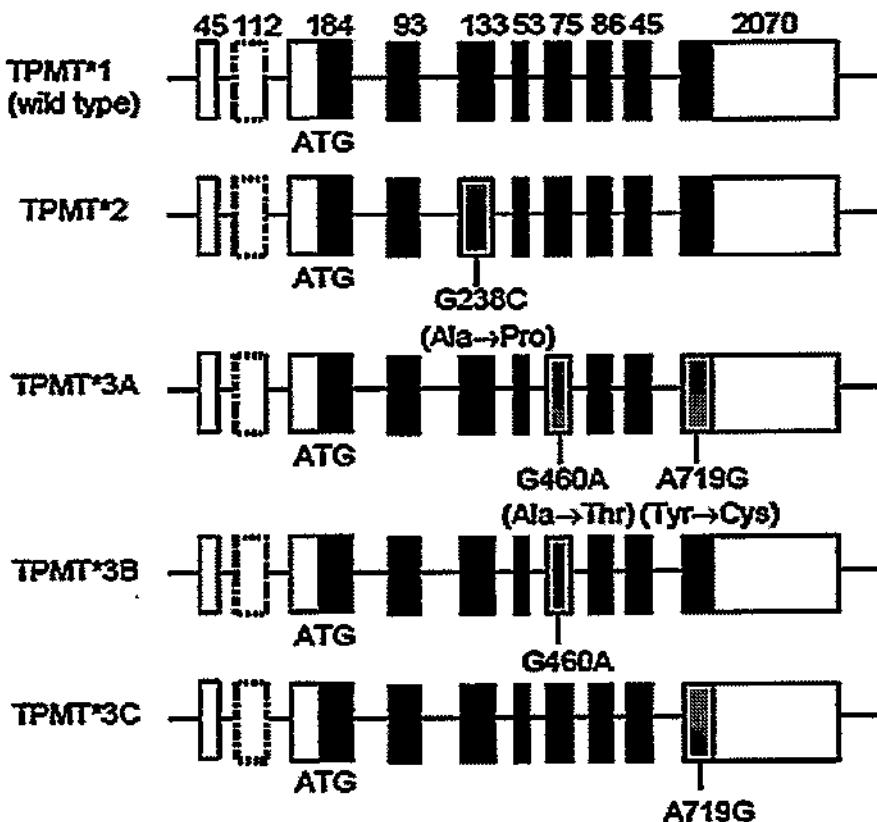


Hình 3.2. Sơ đồ minh họa một Haplotype

Chú thích: A, B, C, D, E, X, Y là ký hiệu của các SNP.

1.1.7. Mối quan hệ giữa kiểu gen - kiểu hình

Do có hiện tượng đa hình gen làm cho khác biệt về cấu trúc gen và dẫn đến sự khác biệt về sản phẩm của biểu hiện gen. Sản phẩm của biểu hiện gen là chính là mRNA và protein. Có thể diễn đạt rõ hơn thông qua ví dụ minh họa ở Hình 3.3. Hình 3.3 biểu diễn kiểu gen của gen *TPMT* mã hóa tạo enzym Thiopurine methyltransferase. *TPMT* là gen dài 27 kb nằm tại nhiễm sắc thể số 6, nhánh ngắn, vị trí số 22, vùng số 3 (ký hiệu là 6p22.3). *TPMT* có 10 exon, 8 trong số đó mã hóa tạo enzym 28 kDa. Exon 2 đã được quan sát trong quá trình nhân bản ban đầu nhưng không được phát hiện trong hầu hết các phân tích (ký hiệu bằng các đường đứt quãng). Hình 3.3 thể hiện 5 alen, trong đó *TPMT*1* là alen kiểu chuẩn (wildtype), các alen còn lại như *TPMT*2*, *TPMT*3A*, *TPMT*3B*, *TPMT*3C*... là alen đột biến hay đa hình. *TPMT*3A*, alen đột biến phổ biến nhất, chứa hai đột biến điểm ở exon 7 (G460A), đột biến này làm thay thế Ala thành Thr, và ở exon số 10 (A719G), đột biến này làm thay thế Tyr thành Cys. Ba alen khác chứa một đột biến duy nhất là G238C (*TPMT*2*), G460A (*TPMT*3B*) và A719G (*TPMT*3C*). Ở người Cáp-ca (chủ yếu sống ở vùng Bắc Âu) *TPMT*3A* chiếm khoảng 85% là trong số các alen đột biến, do đó trong các quần thể như vậy việc phân tích các alen đã biết có thể dự đoán kiểu hình (hoạt động của enzym TPMT). Trong khi đó, ở người Hàn Quốc, *TPMT*3A* hầu như không có và alen phổ biến nhất là *TPMT*3C*.



Hình 3.3. Kiểu gen và một số đa hình của gen TMTP mã hóa tạo enzym Thiopurine methyltransferase

Chú thích: Wildtype: alen kiểu chuẩn. Hộp màu xám là đột biến dẫn đến thay đổi acid amin. Hộp màu trắng là thuộc vùng không dịch mã UTR. Hộp đen là các exon trong ORF (open reading frame), vùng dịch mã, chứa đoạn trình tự từ mã mở đầu cho tới mã kết thúc. Hộp nét đứt là exon 2, hầu như không được phát hiện trong quá trình phân tích mẫu.

1.1.8. Mối quan hệ giữa sự đa hình gen - đáp ứng thuốc

Sự đa hình gen có thể dẫn tới sự thay đổi về biểu hiện gen như sau:

- Thay đổi về hiệu suất dịch mã, tính bền vững của mARN.
- Ảnh hưởng đến sinh tổng hợp protein, có thể làm thay đổi cấu trúc, số lượng, chức năng của protein.
- Ảnh hưởng đến quá trình vận chuyển các protein này đến các vị trí chức năng của chúng trong các tế bào và mô của cá thể.

Từ các hậu quả trên sẽ ảnh hưởng cả trực tiếp và gián tiếp đến đáp ứng thuốc, gồm hai quá trình được động học và dược lực học. Đa hình gen sẽ dẫn đến các thay đổi về

mARN và các protein liên quan đến hai quá trình trên. Khi một thuốc được đưa vào cơ thể, nó sẽ trải qua các quá trình hấp thu, phân bố, vận chuyển đến để tương tác với các đích tác dụng, chuyển hóa và cuối cùng được thải trừ ra khỏi cơ thể. Mỗi quá trình đó đều có sự tham gia của các protein khác nhau và do đó những sự thay đổi về trình tự nucleotid hay cơ chế điều hòa hoạt động của các gen mã hóa những protein đó đều có thể làm ảnh hưởng đến đáp ứng thuốc với mức độ khác nhau. Vì vậy, các trường hợp đa hình gen có thể làm thay đổi protein ở một trong các quá trình trên, dẫn đến thay đổi đáp ứng điều trị của thuốc. Cho đến nay, các nghiên cứu đã xác định được khoảng hơn 1000 gen người có thể ảnh hưởng đến đáp ứng thuốc. Các tương tác Gen dược học trên lâm sàng thường liên quan đến các gen mã hóa cho các protein liên quan đến sự hấp thu, phân bố, chuyển hóa và thải trừ của thuốc (ADME) hoặc các gen mã hóa các protein liên quan đến đích tác dụng của thuốc, các protein khác liên quan đến cơ chế tác dụng của thuốc.

Ngoài ra, dựa trên mối liên quan đa hình gen và biểu hiện gen từ đó xác định được kiểu gen và kiểu hình nhằm áp dụng có hiệu quả trong thực hành dược lâm sàng, phần này sẽ được phân tích kỹ ở các chương sau của cuốn sách này.

Nghiên cứu về Gen dược học chỉ ra một số kết luận sau:

- Ảnh hưởng của thuốc khác nhau tùy theo từng cá thể và bị ảnh hưởng bởi gen.
- Hầu hết các đáp ứng thuốc là kết quả của đa yếu tố (nhiều gen và nhiều yếu tố môi trường).
 - Đa hình các gen đơn ảnh hưởng đến nhiều enzym chuyển hóa thuốc, ví dụ như: cytochrome-P450 (CYP2D6 và CYP2C9), N-acetyltransferase (NAT2), thiopurine methyltransferase (TPMT) và UDP glucuronosyltransferase (UDP-GT)... Các cá thể sở hữu các đa hình gen có nguy cơ gặp phải các phản ứng bất lợi hoặc không hiệu quả với thuốc ở liều thông thường.
 - Đa hình gen các đích tác dụng của thuốc và vận chuyển thuốc (thụ thể, kênh ion, yếu tố tăng trưởng) gây ra sự thay đổi trong đáp ứng thuốc.
 - Một số thuốc điều trị ung thư chỉ cho thấy đáp ứng điều trị trong các nhóm bệnh nhân có mang gen đa hình nhạy cảm với một số đích điều trị ung thư, ví dụ như thụ thể của yếu tố tăng trưởng biểu bì. Đây là một trong các cơ sở cho việc áp dụng điều trị đích của một số thuốc ung thư.
 - Tần suất xuất hiện của sự khác biệt về đáp ứng thuốc thay đổi đáng kể theo chủng tộc hoặc các nhóm sắc tộc.
 - Không giống như hầu hết các yếu tố khác, sự đa hình gen ảnh hưởng đến đáp ứng thuốc thường duy trì ổn định suốt cuộc đời người bệnh, di truyền sang thế hệ con cháu và do đó có thể dự đoán được dẫn đến sự phát triển của nhiều xét nghiệm gen để đánh giá

sự hiện diện hay vắng mặt của các biến thể gen đã biết để giúp dự đoán đáp ứng của mỗi cá nhân đối với thuốc.

2. MỤC ĐÍCH CHÍNH, CÁC THÀNH TỰU ĐẠT ĐƯỢC VÀ HẠN CHẾ TRONG ỨNG DỤNG CỦA GEN DƯỢC HỌC

2.1. Mục đích chính của Gen dược học

- Hiểu được bản chất sự khác biệt về gen ảnh hưởng đến hoạt động của thuốc trong cơ thể giữa các cá thể.
- Nhằm xác định và tiên đoán hiệu quả điều trị và khả năng xảy ra tác dụng không mong muốn trên từng bệnh nhân.
- Đảm bảo bệnh nhân sử dụng thuốc hiệu quả.

2.2. Các thành tựu đạt được và hạn chế trong ứng dụng của Gen dược học

Cho đến thời điểm gần đây, việc đưa lĩnh vực Gen dược học vào sử dụng thuốc trong lâm sàng đã đạt được một số thành tựu và còn có một số hạn chế sau:

Trong năm 2015, khoảng 150 loại thuốc khác nhau được Cục Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA) phê duyệt có chứa thông tin Gen dược học trên nhãn thuốc nhưng chỉ một số ít trong số đó có khuyến nghị về xét nghiệm gen kèm theo. Tương tự, khoảng 155 loại thuốc có thông tin Gen dược học trong Tóm tắt đặc tính sản phẩm (Summary of Product Characteristics-SPC) theo quy định của Cơ quan Dược phẩm châu Âu (EMA). Cá nhãn do FDA và EMA phê duyệt đều chứa thông tin tham chiếu các gen liên quan đến dược động học hoặc các đích tác dụng của thuốc đến các yêu cầu để xét nghiệm gen. Tuy nhiên, các nhãn đề cập đến xét nghiệm gen ít và thường liên quan đến thuốc điều trị ung thư, ví dụ về sự kết hợp gen - thuốc điều trị ung thư như: EGFR/afatinib, ALK/crizotinib, KRAS/panitumumab). Ngoài ra, có thể kể các ví dụ khác về sự kết hợp gen - thuốc như: HLA-B/abacavir, HLA-B/carbamazepin, CYP2C19/ clopidogrel, CYP2D6/codein, POLG/valproat, G6PD/rasburicase, TPMT/ thiopurin... Mặc dù nhiều loại thuốc trong số này được kê đơn rộng rãi, nhưng hầu hết với các thuốc này, xét nghiệm Gen dược vẫn chưa trở thành thực hành thường quy.

Tại thời điểm hiện tại, ở một số các nước phát triển như Mỹ, châu Âu đã trang bị các phòng xét nghiệm lâm sàng cung cấp xét nghiệm cho một số gen thuộc Gen dược học như CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4, CYP3A5, DPYD, HLA-B*57: 01, SLCO1B1, VKORC1, TPMT... Trong đó, Cơ quan đăng ký xét nghiệm gen của Viện Sức khỏe Quốc gia Hoa Kỳ (NIH) đã đưa ra danh sách xét nghiệm Gen dược học cho thuốc sử dụng ở Mỹ.

Trong khi một số phòng thí nghiệm cung cấp các xét nghiệm này đã báo cáo sự thành công về tính khả thi và chấp nhận xét nghiệm gen. Tuy nhiên, một số phòng thí nghiệm khác cho rằng xét nghiệm Gen được học không được sử dụng đúng mức. Một số nguyên nhân đưa ra như: Thiếu sự chấp thuận có thể do các bác sĩ lâm sàng không có đủ kiến thức về xét nghiệm Gen được học, không thể có được kết quả xét nghiệm trong thời gian thích hợp, không chắc liệu có đủ bằng chứng ủng hộ việc sử dụng hoặc chi trả các xét nghiệm gen, hoặc không thể diễn giải và dịch mã thông tin kiểu gen trong thực hành lâm sàng. Lý tưởng nhất là kết quả xét nghiệm và sự diễn giải phải nhất quán bắt kể thực hiện phân tích tại phòng thí nghiệm lâm sàng nào. Tuy nhiên, thực tế cho thấy, sự khác nhau giữa các phòng thí nghiệm về các biến thể gen và haplotype đã được xét nghiệm với cách thức diễn giải kết quả và truyền đạt cho người kê đơn. Sự khác biệt này có thể tác động đáng kể đến việc ra quyết định trong lâm sàng do nhiều gen liên quan đến ADME và các khía cạnh khác của tác dụng được lý và độc tính thuốc có thể khác nhau đáng kể giữa các cá thể và vùng dân cư, chủng tộc. Hồ sơ SNP trên toàn bộ hệ gen và tần suất alen giữa các quần thể dân cư có thể được áp dụng khác nhau. Do đó, các nghiên cứu Gen được học có thể không được áp dụng ngay lập tức tại các cơ sở y tế. Như vậy, danh pháp chuẩn, tinh minh bạch, sự thống nhất của các biến thể và haplotype được xét nghiệm là cần thiết để thúc đẩy việc áp dụng thử nghiệm Gen được bởi các bác sĩ lâm sàng và để đảm bảo rằng việc kê đơn có thông tin cần thiết cho các quyết định điều trị thích hợp. Mặt khác, các hãng thuốc ngại đi theo xu hướng ứng dụng thuốc theo hướng Gen được học có thể hóa sử dụng thuốc do đó có thể giảm lợi nhuận về thuốc. Ngoài ra, chi phí cho xét nghiệm gen hoặc xác định kiểu gen của các bệnh vẫn còn cao và chưa được chi trả bởi hệ thống bảo hiểm y tế. Hơn nữa, các kết quả xét nghiệm gen sẽ ảnh hưởng tới tính pháp lý cho việc chi trả bảo hiểm y tế, tức là, nếu ai đó được xác định là đa hình gen, ví dụ trên gen BRCA1 và có nguy cơ phát triển ung thư vú di truyền thì người đó sẽ bị từ chối tham gia vào bảo hiểm y tế.

Tóm lại, tuy còn nhiều thách thức nhưng nghiên cứu về Gen được học có ảnh hưởng rất lớn đến việc thực hành sử dụng thuốc hợp lý và khoa học. Việc lựa chọn các loại thuốc dựa trên thu thập thông tin về gen di truyền có khả năng tạo thuận lợi cho việc lựa chọn các loại thuốc hiệu quả nhất ở mức liều tối ưu và tránh được tác dụng không mong muốn nghiêm trọng. Hướng đi này không chỉ làm tăng tính hiệu quả của các liệu pháp, giảm được các tác dụng không mong muốn của thuốc mà còn mở ra một kỷ nguyên mới cho ngành y học cũng như được học - kỷ nguyên khám chữa bệnh và dùng thuốc theo đặc tính gen của từng người.

3. HỆ GEN DƯỢC HỌC (PHARMACOGENOMICS)

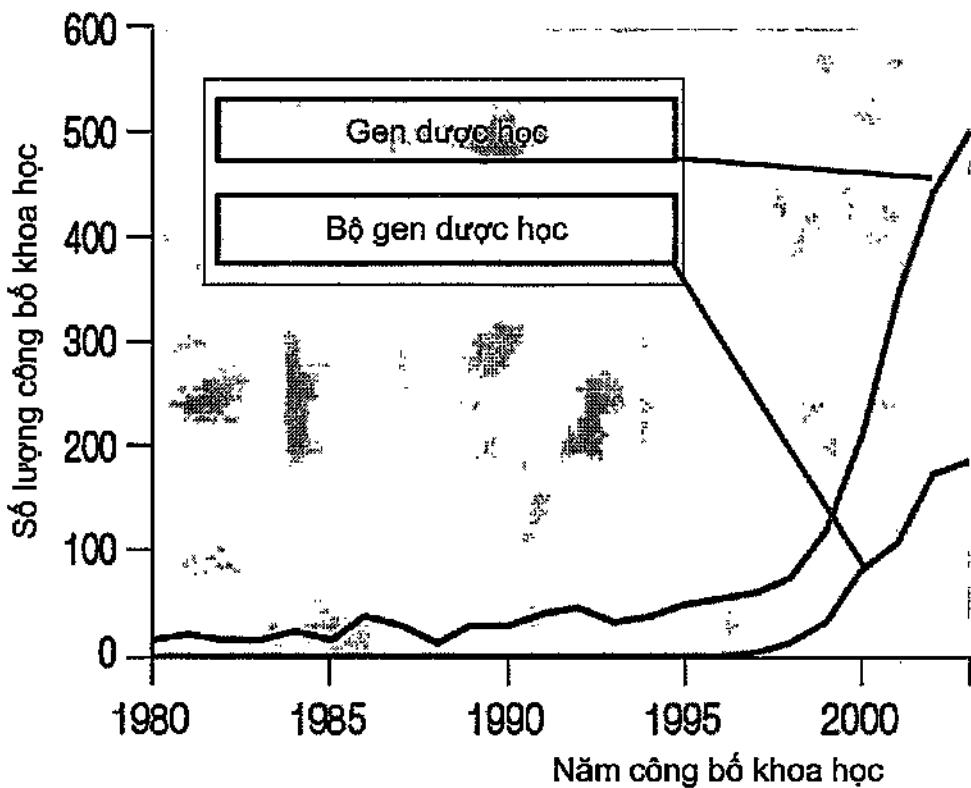
3.1. Khái niệm

Hệ gen dược học được giới thiệu vào năm 1998 và được định nghĩa là chuyên ngành nghiên cứu về sự khác biệt trong an toàn và hiệu quả của thuốc sử dụng thông tin từ toàn bộ hệ gen. Các yêu cầu của Hệ gen dược học chú trọng đến sự khác biệt cả về trình tự và biểu hiện gen, ứng dụng các nghiên cứu trên toàn bộ hệ gen để nhằm tìm hiểu, tiên đoán đáp ứng thuốc hoặc khám phá thuốc mới. Có thể liệt kê một số ứng dụng chính của Hệ gen dược học:

- Khám phá đích tác dụng mới của thuốc.
- Tìm ra cơ chế về bệnh mới của một thuốc.
- Khẳng định được cơ chế tác dụng dự đoán của một thuốc hay hợp chất.
- Lựa chọn từ hợp chất tiềm năng tốt nhất để phát triển thành thuốc dựa trên hồ sơ biểu hiện gen tối ưu.
- Hệ gen dược học nhằm sàng lọc và phát triển các thuốc mới và hỗ trợ cho Gen dược học.

3.2. Phân biệt giữa Gen dược học và Hệ gen dược học

Trong thực tế, khái niệm Gen dược học hay dùng lẫn lộn với khái niệm Hệ gen dược học (pharmacogenomics). Tuy nhiên, Gen dược học tập trung nghiên cứu sự đa hình của một hoặc một nhóm ít gen tiềm năng đến sự khác biệt về đáp ứng thuốc. Trong khi đó, Hệ gen dược học nghiên cứu sự biến đổi liên quan đến nhiều gen hoặc toàn thể hệ gen có thể tương tác dẫn đến thay đổi đáp ứng điều trị của thuốc hoặc các hợp chất tiềm năng. Ví dụ: Đối với đáp ứng điều trị bởi carvedilol, Gen dược học nghiên cứu ảnh hưởng của sự đa hình từng gen, ví dụ như gen mã hóa receptor β 1 adrenergic trong khi Hệ gen dược học nghiên cứu tương tác của một loạt gen liên quan, bao gồm: CYP2D6, β 1, β 2 và α 1 adrenergic.



Hình 3.4. Sự xuất hiện và số lượng các công bố khoa học của Gen dược học và Hệ gen dược học trong PUBMED
(Thư viện Y học Quốc gia Mỹ - National Library of Medicine)

Hệ gen dược học được khám phá và ứng dụng gần đây hơn, cuối những năm 1990. Tuy nhiên, những công bố khoa học về lĩnh vực này đã tăng mạnh trong 5 năm qua với sự xuất hiện của công nghệ gen và kỹ thuật sinh học phân tử trong các nghiên cứu lâm sàng (Hình 3.4). Ngược lại, lĩnh vực Gen dược học đã được biết đến từ trước đó khá lâu, từ những năm 1950, để cập đến các nghiên cứu khám phá các gen tiềm năng cụ thể liên quan đến sự khác biệt giữa các cá thể đến đáp ứng của một thuốc. Các gen tiềm năng trong các nghiên cứu Gen dược học được lựa chọn dựa trên các quan sát trước đó về tính nhạy cảm của bệnh, sự hấp thu, chuyển hóa, vận chuyển và bài trừ cũng như các đích tác dụng của thuốc, trái ngược với cách tiếp cận không có giả thuyết trên toàn thể hệ gen (the genome-wide hypothesis-free approach) trong nghiên cứu của Hệ gen dược học.

Từ quan điểm y học, ba khía cạnh chủ yếu sau sẽ làm cho Gen dược học khác biệt với Hệ gen dược học:

1. Sử dụng các phương pháp trên toàn thể hệ gen sẽ giúp mở rộng phát hiện kiểu gen. Các phương pháp kiểu hình sẽ có ít các sử dụng về chẩn đoán hơn, nhưng chúng sẽ

vẫn quan trọng như là phương tiện để đánh giá tầm quan trọng y học của một biến thể gen.

2. Trong khi Gen được học chủ yếu liên quan đến sự khác biệt về cấu trúc của gen, chủ yếu do đa hình gen, dẫn đến sự khác biệt về đáp ứng thuốc, Hệ gen được học tìm hiểu tác động của các thuốc lên các gen, do đó làm thay đổi biểu hiện gen.

3. Việc sử dụng các phương pháp nghiên cứu của Hệ gen được học sẽ giúp khám phá các đích mới của thuốc. Đó có thể là các gen người bị biến đổi hoặc các protein mã hóa của các gen này thúc đẩy sự xuất hiện của các bệnh thông thường như tăng huyết áp, hen xuyễn hoặc tâm thần phân liệt. Tương tự như vậy, Hệ gen được học có thể giúp tiết lộ các đặc tính quan trọng mang tính sống còn của các vi sinh vật, làm cho chúng có thể bị tiêu diệt bởi các kháng sinh mới. Sự khác biệt giữa Gen được học và Hệ gen được học có thể được phân tích chi tiết hơn trong Bảng 3.1.

Bảng 3.1. Phân biệt Gen được học và Hệ gen được học

Gen được học	Hệ gen được học
Đối tượng nghiên cứu với chỉ một gen hoặc một nhóm ít gen	Đối tượng nghiên cứu với toàn thể hệ gen: nhiều hoặc tất cả các gen
Đáp ứng của một thuốc (in vivo) giữa các cá thể do các biến đổi gen	Đáp ứng của nhiều hợp chất và thuốc (cả in vitro và in vivo) trên biểu hiện gen và giữa toàn bộ các gen biểu hiện
Thường đánh giá ban đầu bằng SNP, các kiểu đa hình gen khác và tiếp cận cuối là sự biểu hiện của gen	Đánh giá bằng tập hợp các biểu hiện gen (gene profiling)
Trợ giúp cho chẩn đoán, điều trị bệnh (sử dụng thuốc)	Công cụ để sàng lọc, khám phá thuốc mới
Mỗi quan hệ: Một thuốc - nhiều genome (nhiều bệnh nhân)	Mỗi quan hệ: Nhiều hợp chất/ thuốc - một genome (1 bệnh nhân)
Tập trung nghiên cứu tính khác biệt (thay đổi) của các bệnh nhân với đáp ứng thuốc	Tập trung nghiên cứu tính khác biệt của các hợp chất tiềm năng sử dụng làm thuốc

Mặc dù có những khác biệt, nhưng cũng có sự phụ thuộc lẫn nhau giữa hai chuyên ngành. Khi các gen hoặc các marker gen liên quan đến cơ chế tác dụng hoặc an toàn của thuốc được xác định thông qua nghiên cứu Hệ gen được học trên toàn bộ hệ gen, mỗi gen riêng lẻ yêu cầu thêm sự thẩm định trên lâm sàng bằng các tiếp cận một cách

tập trung và dựa trên giả thuyết của Gen được học trước khi chúng có thể được áp dụng thường quy tại các cơ sở chăm sóc lâm sàng.

Tóm lại, Hệ gen được học về lâu dài sẽ dẫn đến sự hiểu biết tốt hơn về sự tương tác giữa thuốc với các sản phẩm của gen. Hệ gen được học hứa hẹn việc lựa chọn thuốc để chống lại bệnh sẽ được xác định ngày càng nhiều bằng một hoặc nhiều gen liên quan đến bệnh ở một đối tượng xác định; nói cách khác, chúng ta có thể hy vọng vào sự phát triển của liệu pháp thuốc phụ thuộc gen của từng cá thể. Gen được học quan tâm nhất đến an toàn thuốc, nhằm “cá thể hóa” sử dụng thuốc, do đó mỗi thuốc có thể có hiệu quả mong muốn trên mỗi người sử dụng. Còn ảnh hưởng chính của Hệ gen được học hứa hẹn sự cải thiện về hiệu quả và tìm ra đích tác dụng mới của thuốc. Mặc dù vậy, Gen được học và Hệ gen được học đều có sự hỗ trợ cho nhau để nhằm mục tiêu: Tối ưu hóa hiệu quả điều trị và giảm thiểu độc tính của thuốc dựa trên thông tin di truyền của từng cá thể. Nói cách khác, sử dụng thông tin di truyền để lựa chọn thuốc, lựa chọn liều và thời gian điều trị thích hợp cho từng bệnh nhân. Do quy mô nghiên cứu của Hệ gen được học liên quan đến các con đường sinh học phức tạp và trên toàn thể hệ gen (Bảng 3.1), vì vậy trong khuôn khổ cuốn sách này, chỉ tập trung tìm hiểu và vận dụng Gen được học cho các nghiên cứu với mục tiêu nói trên.

KẾT LUẬN

Tóm lại, chương này đã giới thiệu về lịch sử, định nghĩa, các mối liên quan chính đến Gen được học như mối quan hệ Gen được học - chủng tộc, mối liên quan đa hình gen - biểu hiện gen, mối quan hệ kiểu gen - kiểu hình, mối quan hệ giữa đa hình gen - đáp ứng thuốc, các khái niệm cơ bản khác liên quan đến gen như tính trạng, alel, kiểu gen, kiểu hình. Cho đến thời điểm gần đây, việc đưa lĩnh vực Gen được học vào sử dụng thuốc trong lâm sàng đã đạt được một số thành tựu nhưng vẫn có các hạn chế nhất định. Để làm rõ hơn, khái niệm, mục đích, ứng dụng và sự hỗ trợ của Hệ gen được học được phân biệt với lĩnh vực Gen được học.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Abecasis GR, Auton A, Brooks LD, DePristo MA, Durbin RM, Handsaker RE, Kang HM, Marth GT, McVean GA (2012). “An integrated map of genetic variation from 1,092 human genomes”. *Nature* 491 (7422):
2. Abrahams E & Silver M (2010). The history of personalized medicine. In E. Gordon and S. Koslow, Integrative Neuroscience and Personalized Medicine. New York, NY: Oxford University Press.

3. Eun-Young Cha, Hye-Eun Jeong, Woo-Young Kim, Ho Jung Shin, Ho-Sook Kim and Jae-Gook Shin (2016), Brief introduction to current pharmacogenomics research tools, *Transl Clin Pharmacol* ;24(1):13-21.
4. Loralie J Langman, Amitava Dasgupta (2012). Pharmacogenomics in clinical therapeutics, Wiley-Blackwell.
5. Ma Q, Lu AY (2011), Pharmacogenetics, Pharmacogenomics, and Individualized Medicine, *Pharmacol Rev* 63:437- 459.
6. Russ B. Altman (2012), Principles of Pharmacogenetics and Pharmacogenomics, Cambridge University Press.
7. Lam YF, Cavavallar L (2013) Pharmacogenomics, Challenges and Opportunities in Therapeutic Implementation, Elsevier.

Chương 4

PHƯƠNG PHÁP ĐÁNH GIÁ VÀ NGHIÊN CỨU GEN DƯỢC HỌC

MỤC TIÊU HỌC TẬP

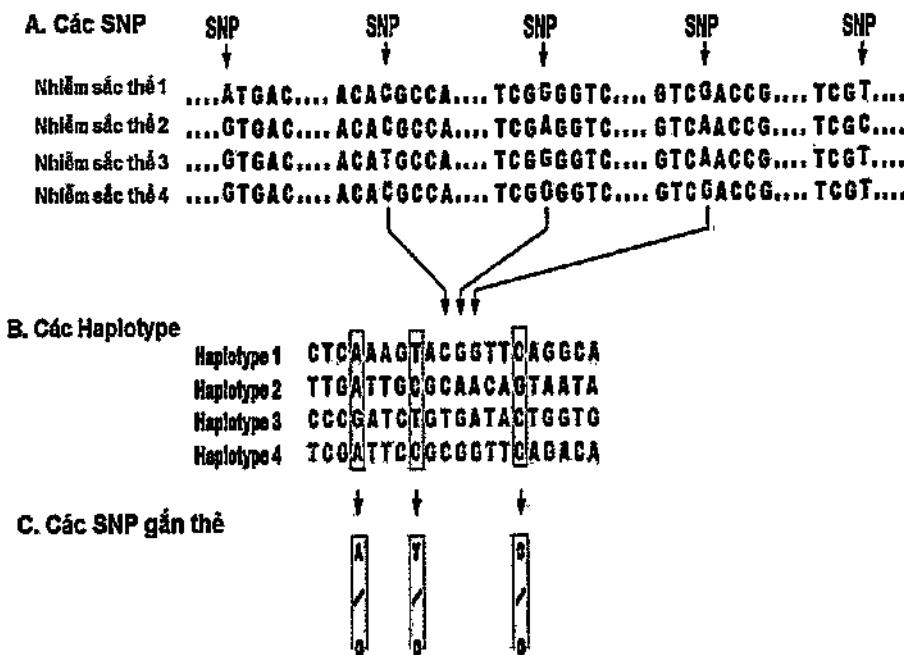
1. *Phân tích được ý nghĩa của SNP, haplotype trong nghiên cứu Gen dược học.*
2. *Phân tích được các cách tiếp cận trong nghiên cứu Gen dược học.*
3. *Phân tích được các công nghệ xác định kiểu gen và kiểu hình.*

Trước khi có thể tiếp cận với nghiên cứu và ứng dụng của gen dược học trong thực tiễn, một điều kiện rất quan trọng là phải hiểu được các hướng tiếp cận, các phương pháp đánh giá và nghiên cứu, từ đó, lựa chọn được những cách tiếp cận phù hợp với mục tiêu và điều kiện cụ thể.

1. Ý NGHĨA SNP, HAPLOTYPE TRONG NGHIÊN CỨU GEN DƯỢC HỌC

Trong các kiểu đa hình gen, đa hình đơn nucleotid (SNP) phổ biến nhất, do vậy có thể coi SNP là đối tượng nghiên cứu chính của Gen dược học. Tuy nhiên, các nhà khoa học đã khám phá ra hệ gen người có chứa khoảng 10 triệu SNP. Chính vì vậy, sẽ rất khó khăn, tốn thời gian và tốn kém để xem xét từng thay đổi này và xác định liệu nó có đóng vai trò trong bệnh và đáp ứng với thuốc của con người hay không. Do vậy, việc nhận dạng bản đồ SNP của mỗi người là một việc làm tưởng chừng như không thể với thế giới khoảng 10 tỷ người. Tuy nhiên, rất thú vị là có một sự kết hợp của một số SNP lân cận, liên kết chặt chẽ với nhau và được di truyền liên kết cùng nhau từ thế hệ này sang thế hệ khác trong những khối lớn (trên cùng một nhiễm sắc thể), gọi là các khối Haplotype hay "Haplotype block". Sự đồng di truyền của các SNP trên các Haplotype này dẫn đến sự liên kết giữa các alen này trong quần thể (được gọi là mất cân bằng liên kết - linkage disequilibrium (LD)). Những khối Haplotype như vậy tương đối phổ biến, có xu hướng theo khu vực dân cư và chủng tộc. Do đó, một Haplotype cũng có thể được sử dụng làm chỉ dấu (marker) trong nghiên cứu Gen dược hoặc bất kỳ một SNP trong nhóm cũng có thể được sử dụng làm chỉ dấu (marker) cho toàn bộ khối. Kết quả là, chỉ cần một vài trong số các "SNP gắn thẻ" (tag SNP) này để xác định từng Haplotype phổ biến trong một vùng của nhiễm sắc thể (Hình 4.1). Sự kết hợp của các SNP thành Haplotype giúp giảm số lượng SNP cần phải sàng lọc (một SNP cho biết thông tin về cả một nhóm gen liên kết), do đó nghiên cứu về Gen dược học đơn giản hơn, nhanh hơn và hiệu quả hơn nhiều. Ngoài

ra, cấu trúc Haplotype chứa nhiều SNP có thể cung cấp thông tin chính xác hơn về mối quan hệ kiểu gen - kiểu hình so với SNP đơn lẻ.



Hình 4.1. Mối quan hệ giữa SNP, Haplotype và SNP gắn thẻ

- A. Các SNP:** Một đoạn ADN từ bốn phiên bản của cùng một vùng 6 kb ở những người khác nhau, trong đó hầu hết trình tự các chuỗi là giống nhau trừ 5 vị trí nucleotid bị biến đổi.
B. Các Haplotype: 4 Haplotype này là sự kết hợp đặc biệt của các alel ở 20 SNP gần nhau trong vùng 6 kb.
C. Các SNP gắn thẻ: Chỉ cần xác định kiểu gen của 3 SNP gắn thẻ trong số 20 SNP trên là đủ để xác định bốn haplotype này

Một SNP gắn thẻ có thể cung cấp thông tin về một SNP khác hoặc về hàng trăm hoặc hàng ngàn SNP trong chuỗi ADN kéo dài hàng ngàn kilobase. Thông tin này đặc biệt có liên quan trong việc thiết kế các nghiên cứu liên kết trên toàn bộ gen (GWAS). Tần suất xuất hiện của các alel SNP, Haplotype và các tag SNP cụ thể khác nhau giữa các nhóm dân tộc và điều này đã được phân loại thông qua Dự án HapMap (www.hapmap.org).

Dự án HapMap là một dự án có tính hợp tác quốc tế với quy mô rất rộng. Mục đích của dự án là lập được bản đồ Haplotype bao gồm vị trí của chúng trong hệ gen và mức độ phổ biến của chúng trong các quần thể khác nhau trên toàn thế giới liên quan đến tính đa hình gen người thông qua việc tìm hàng triệu SNP từ những người tình nguyện trên khắp

thế giới. Vì số lượng SNP có thể lên tới vài triệu, nên nhiệm vụ chính của Dự án HapMap là sắp xếp chúng sao cho các phân tích được dễ dàng hơn. Dự án này quy tụ rất nhiều các nhà khoa học từ các quốc gia như Anh, Mỹ, Canada, Nhật Bản, Nigeria và Trung Quốc... và đã lập ra bản đồ Haplotype của người bằng cách dùng các mẫu ADN của các nhóm sắc tộc khác nhau trên thế giới. Cho đến nay, dự án đã tìm ra khoảng hàng triệu SNP và tập trung vào các SNP xảy ra thường xuyên trên cả hệ gen. Sử dụng Dự án HapMap sẽ giúp chỉ ra được nguyên nhân gây ra các căn bệnh di truyền và từ đó phát triển các phương pháp điều trị hiệu quả hơn, tiến tới sẽ áp dụng với việc cá thể hóa trong sử dụng thuốc. Việc lập bản đồ SNP và tần suất xuất hiện của chúng trong các quần thể khác nhau có thể giúp tăng tác dụng của thuốc theo từng dạng đa hình gen thể hiện khác biệt trong các chủng tộc và rất có ích trong việc tăng hiệu quả nghiên cứu di truyền. Dự án cũng sẽ giúp con người hiểu các tiến trình quan trọng khác trong sinh học, chẳng hạn như tiến hóa, tái tổ hợp và những tác động tạo nên các biến thể gen người.

2. CÁC CÁCH TIẾP CẬN TRONG NGHIÊN CỨU GEN DƯỢC

Các nghiên cứu về Gen dược học liên quan đến việc phân loại hoặc xác định các chất chỉ dấu (marker) được sử dụng để dự đoán sự khác biệt giữa các bệnh nhân liên quan đến hiệu quả và an toàn thuốc. Có hai cách tiếp cận chính trong nghiên cứu gen dược: Phương pháp tiếp cận gen ứng viên (candidate gene approach) và cách tiếp cận trên toàn bộ hệ gen (genome wide approach).

Trong cách tiếp cận gen ứng viên, nghiên cứu chỉ quan tâm đến một số lượng nhất định các biến thể của một gen hoặc một vài gen được biết có liên quan đến được động học và/ hoặc được lực học của thuốc. Do đó, loại nghiên cứu này còn được gọi là các nghiên cứu về mối liên quan dựa trên giả thuyết. Đây là một cách tiếp cận hợp lý và được áp dụng phổ biến trong các nghiên cứu gen dược. Ví dụ như nghiên cứu về gen *TPMT* (mã hóa cho thiopurine S-methyltransferase, enzym chuyển hóa 6-mercaptopurin). Kết quả của nhiều nghiên cứu cho thấy, có mối liên quan chặt chẽ giữa kiểu gen *TPMT* và kiểu hình hoạt tính của enzym tương ứng. Khoảng 80 - 95% bệnh nhân có hoạt tính *TPMT* thấp có thể được giải thích bằng sự xuất hiện các alen *TPMT*2*, **3^a* và **3^c* trong kiểu gen. Kiểu gen đồng hợp tử hoặc dị hợp tử của các alen này tương ứng với kiểu hình giảm hoặc mất hẳn hoạt tính chuyển hóa của enzym *TPMT*. Do vậy, việc giảm liều 6-mercaptopurin đến 50% được khuyến cáo ở người mang kiểu gen biến thể *TPMT* dị hợp tử và đến 90% được khuyến cáo ở người mang kiểu gen biến thể đồng hợp tử.

Tuy nhiên, trong nhiều trường hợp, một gen đơn lẻ không đủ để giải thích sự khác biệt quá lớn về đáp ứng điều trị giữa các cá thể người bệnh bởi con đường được động học và được lực học của thuốc rất phức tạp, với sự có mặt của nhiều protein khác nhau. Đặc biệt, đáp ứng điều trị với thuốc ung thư là một ví dụ điển hình về sự liên quan của nhiều

đa hình gen khác nhau. Ví dụ: Cyclophosphamid được chuyển hóa bởi nhiều enzym CYP khác nhau như CYP2A6, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4. Do vậy, sự thiếu hụt di truyền của *CYP2A6* không ảnh hưởng đáng kể tới đáp ứng điều trị với cyclophosphamid. Bên cạnh các enzym chuyển hóa, đáp ứng thuốc còn chịu ảnh hưởng của nhiều protein khác như các receptor, các con đường tín hiệu... Trong trường hợp của các thuốc ung thư, những protein đặc trưng của khối u cũng ảnh hưởng đáng kể. Do tính chất phức tạp như vậy, ảnh hưởng của một gen thường không đủ để dự đoán đáp ứng điều trị của một thuốc. Thậm chí, đó là chưa kể ảnh hưởng của các yếu tố di truyền như các đặc điểm lâm sàng của người bệnh, các thuốc dùng kèm... Vì vậy, cần có những nghiên cứu lâm sàng được thiết kế tốt nhằm xác định được mức độ ảnh hưởng của các đa hình gen. Cỡ mẫu của các nghiên cứu này cần đủ lớn (khoảng vài trăm tới vài nghìn bệnh nhân) để đánh giá được mối liên hệ có ý nghĩa thống kê. Ngoài ra, kết quả còn phụ thuộc vào việc lựa chọn gen ứng viên cho nghiên cứu cũng như các biến số lâm sàng phù hợp. Nếu không đủ bằng chứng ghi nhận về mối liên quan với gen ứng viên, việc phối hợp thêm một hoặc một số gen khác có thể làm gia tăng khả năng dự đoán đáp ứng điều trị.

Trái lại, trong cách tiếp cận trên toàn hệ gen, còn gọi là nghiên cứu GWAS (genome wide association studies), nghiên cứu phân tích hàng loạt SNP khác nhau của rất nhiều gen hoặc của toàn bộ hệ gen, không phụ thuộc vào việc các gen này đã từng được biết về mối liên quan tới được động học hoặc được lực học của thuốc hay không. Cách tiếp cận này đòi hỏi phải có các công nghệ phân tích kiểu gen hiệu năng cao, cho phép phân tích đồng thời hàng trăm cho đến hàng nghìn SNP. Đây thường là những SNP phổ biến trong cộng đồng, với tỷ lệ 5 - 10% và thường xuất hiện trên toàn hệ gen. Việc phân tích hàng loạt SNP trên cả hệ gen đòi hỏi các công nghệ tin sinh học tiên tiến để có thể phân tích bộ dữ liệu khổng lồ. Việc thực hiện phép so sánh đa biến cũng cần có phương pháp hiệu chỉnh phù hợp cho nhiều xét nghiệm đồng thời bởi khi có hàng trăm hoặc hàng nghìn phép so sánh đồng thời, rất khó có thể đạt đến giá trị p có ý nghĩa thống kê. Đó là lý do nhiều nghiên cứu GWAS không cho kết quả có tính chất lặp lại.

Tuy nhiên, nghiên cứu GWAS không phải bao giờ cũng quét trên toàn hệ gen. Gần đây, có một cách tiếp cận trung gian mới được áp dụng trong nghiên cứu gen được, đó là sử dụng các bộ kit cho phép phân tích đồng thời nhiều gen liên quan đến được động học/ được lực học của thuốc. Một số bộ kit có thể phân tích đến 2000 SNP của 225 gen chức năng. Việc giới hạn số lượng gen giúp giảm số lượng các phép hiệu chỉnh cần thiết, do đó, làm giảm nguy cơ sai sót. Phương pháp phổ biến trong loại nghiên cứu này là thiết kế kiểu bệnh chứng, trong đó nhóm bệnh là những bệnh nhân đáp ứng tốt sau điều trị với một thuốc nhất định, nhóm chứng là những bệnh nhân dùng thuốc đó không có đáp ứng tốt hoặc đơn giản là người khỏe mạnh trong cộng đồng. Cỡ mẫu của loại nghiên cứu này có thể là vài chục cho đến vài trăm bệnh nhân. SNP có khả năng phân biệt tốt nhất hai

nhóm sẽ có thể là yếu tố ảnh hưởng đến đáp ứng điều trị của thuốc mục tiêu. Tuy nhiên, kết quả này cần được kiểm chứng trong các quần thể độc lập khác.

Sự khác biệt chủ yếu giữa cách tiếp cận GWAS với cách tiếp cận gen ứng viên là không có giả thuyết định hướng, không cần các hiểu biết về PK/PD của thuốc. Do đó, nghiên cứu GWAS có thể xác định được những gen chưa từng được biết đến trong lâm sàng. Mặt khác, nghiên cứu GWAS có một số nhược điểm như: Chi phí rất lớn, có thể có yếu tố nhiễu khi lựa chọn nhóm bệnh và nhóm chứng. Ngoài ra, việc phân tích đồng thời hàng loạt SNP có thể dẫn đến âm tính giả hoặc dương tính giả. Một nhược điểm nữa là nghiên cứu GWAS thường bỏ qua các biến thể gen hiếm do không được đưa vào các bộ kit thương mại, do đó, giảm độ nhạy của nghiên cứu. Một giải pháp cho vấn đề này là giải trình tự vùng gen mục tiêu nhằm phát hiện các biến thể liên quan.

Trong những năm gần đây, số lượng nghiên cứu GWAS tăng lên khá nhanh, với quy mô ngày càng lớn. Ví dụ như một nghiên cứu về liên quan giữa đa hình gen với bệnh bạch cầu nguyên bào tủy cấp đã quét đồng thời 400.000 SNP khác nhau. Sự gia tăng này là do có sự phát triển rất nhanh của các công nghệ xác định kiểu gen hiện đại và công nghệ Dữ liệu lớn (Big data).

Với những phát hiện về vai trò của đa hình gen trong sự biến thiên đáp ứng thuốc giữa các cá thể, việc xét nghiệm kiểu gen (genotyping) và xét nghiệm kiểu hình (phenotyping) có ý nghĩa quan trọng, cho phép:

- Đánh giá ảnh hưởng của đa hình gen đối với đáp ứng điều trị.
- Phát hiện các đa hình gen liên quan đến đáp ứng với thuốc.
- Dự đoán đáp ứng của từng cá thể người bệnh đối với một thuốc nhất định, từ đó lựa chọn đúng thuốc, đúng liều, đúng liệu trình điều trị.

Tùy từng mục đích, xét nghiệm kiểu gen và xét nghiệm kiểu hình có thể được tiến hành đồng thời hoặc riêng lẻ.

3. CÁC CÔNG NGHỆ XÁC ĐỊNH KIỂU GEN

Công nghệ xác định kiểu gen (genotyping technology) là một trong những yếu tố quan trọng quyết định thành công của nghiên cứu. Không có một công nghệ nào là tối ưu cho mọi nghiên cứu, tùy vào đặc điểm của phòng xét nghiệm, cỡ mẫu, số biến thể cần phân tích và chi phí mà cần lựa chọn công nghệ phù hợp. Một số hệ thống cho phép sàng lọc không chỉ các SNP mà cả các loại đột biến khác nhau.

Khi lựa chọn công nghệ xác định kiểu gen cần lưu ý các điểm sau:

- Phương pháp được chọn phải xác định chính xác kiểu gen, lý tưởng là thành công ngay trong một lần thử. Một số mẫu có thể thất bại trong lần thử nghiệm xác định kiểu gen đầu tiên; tuy nhiên, phương pháp xác định lại phải nhanh chóng và không tốn kém.

- Phương pháp xác định kiểu gen phải cho phép xét nghiệm nhanh và dễ kiểm định. Trong đó, với sự đa dạng dữ liệu đa hình gen sẵn có, khả năng chia sẻ trong cộng đồng và khả năng chuẩn bị các xét nghiệm một cách kịp thời rất quan trọng xét về hiệu quả và khả năng khám phá trong tương lai.

- Kết quả phải dễ dàng diễn giải, cần sử dụng phối hợp các phần mềm chuyên nghiệp để cung cấp kết quả xác định kiểu gen chính xác, tránh sai sót.

- Hệ thống phải có tỷ số hiệu quả/ chi phí cao, giảm thiểu số lượng hoặc độ dài của các bước trong quy trình xác định kiểu gen. Ngoài ra, các phương pháp cho phép đánh giá nhiều đa hình trong một xét nghiệm có thể giúp giảm chi phí và tăng hiệu quả.

Dưới đây là một số loại công nghệ xác định kiểu gen đang được áp dụng phổ biến trong cả nghiên cứu và trong labo lâm sàng.

3.1. Công nghệ xác định kiểu gen hiệu năng thấp

Loại công nghệ này phù hợp khi số lượng mẫu và số lượng biến thể đa hình cần phân tích nhỏ vì hiệu quả về kinh tế. Các kỹ thuật thuộc loại này chủ yếu dựa trên phản ứng PCR.

Xác định đa hình các đoạn giới hạn của sản phẩm PCR (PCR-RFLP)

Đây là một trong những công nghệ genotyping đơn giản nhất, dựa trên sự có mặt hay không của trình tự nhận biết của enzym giới hạn. Vùng chứa SNP mục tiêu được khuếch đại bằng PCR. Sản phẩm PCR được ủ với enzym giới hạn, phản ứng cắt đặc hiệu có xảy ra hay không tùy từng alen. Sản phẩm cắt có thể dễ dàng quan sát trên điện di agarose. Phương pháp này không cần thiết bị đặc biệt và không đòi hỏi người làm phải được huấn luyện đặc biệt. Tuy nhiên, đây không phải là công nghệ lý tưởng cho mọi nghiên cứu bởi không phải mọi alen được phân tích đều nằm ở vị trí cắt giới hạn của một enzym nào đó.

PCR đặc hiệu alen (alen specific PCR)

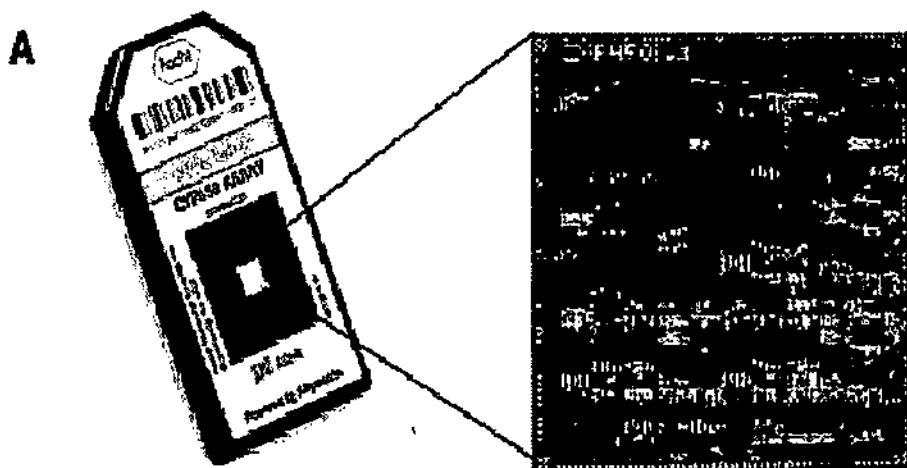
Kỹ thuật này đòi hỏi phải thiết kế được cặp mồi PCR bao gồm 1 mồi chung cho tất cả các alen của gen và 1 mồi đặc hiệu có đầu tận cùng là base đặc hiệu với alen mục tiêu. Kết quả PCR sẽ dương tính khi trong mẫu có xuất hiện alen mục tiêu. Nếu kiểu gen là dị hợp tử thì sẽ có sản phẩm PCR đối với cả hai loại mồi. Kỹ thuật này không đòi hỏi phải có một trình tự cắt giới hạn chứa vị trí SNP nhưng việc thiết kế được mồi đặc hiệu không

phải lúc nào cũng dễ dàng và khả thi. Thêm vào đó, cần kiểm soát chặt chẽ điều kiện phản ứng PCR để tránh mồi bắt cặp không đặc hiệu. Kỹ thuật PCR đặc hiệu alen chính là cơ sở để phát triển một số công nghệ xác định kiểu gen hiệu năng cao.

3.2. Công nghệ xác định kiểu gen hiệu năng trung bình

Loại công nghệ này phù hợp với các nghiên cứu hồi cứu. Các kỹ thuật thuộc loại này đòi hỏi thiết bị đặc biệt và người làm được đào tạo cao hơn. Không chỉ dùng cho nghiên cứu, các công nghệ này có thể được áp dụng trong xét nghiệm lâm sàng. Sự ra đời của các bộ kit thương mại hóa giúp giảm thời gian để thiết kế và tối ưu hóa quy trình xét nghiệm. Một số hệ thống phổ biến được miêu tả trong Bảng 4.1.

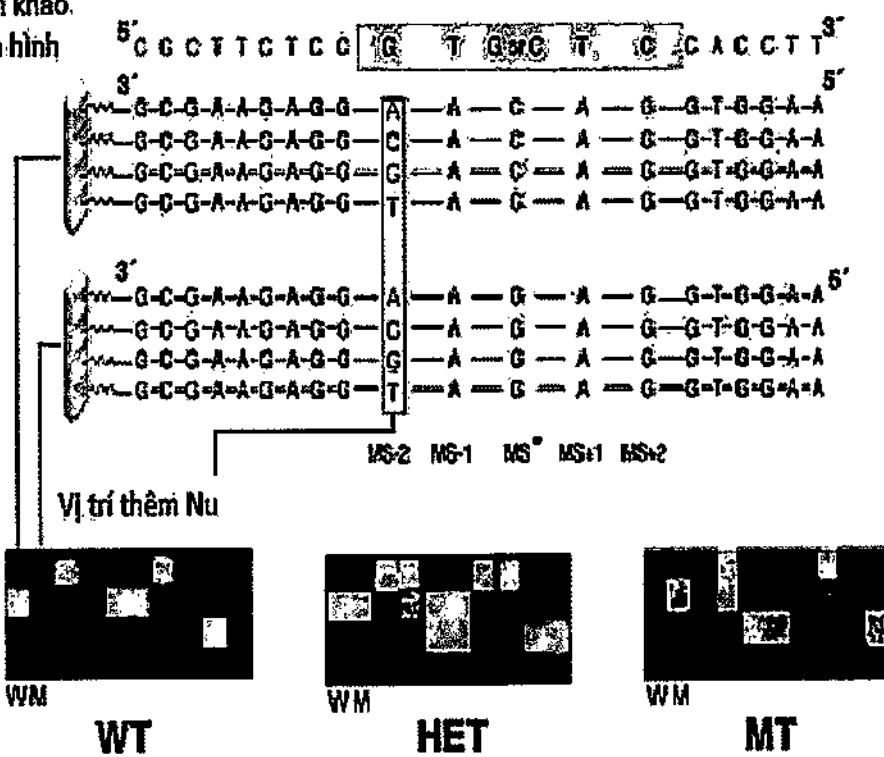
Trong các kỹ thuật xác định kiểu gen hiệu năng trung bình, kỹ thuật lai hóa ADN pha rắn (microarray) được áp dụng khá phổ biến, thường được coi là tiêu chuẩn vàng trong xác định kiểu gen cùng với kỹ thuật giải trình tự ADN. Kỹ thuật này cho phép xác định kiểu gen mang SNP phụ thuộc vào các điều kiện lai nghiêm ngặt (bắt cặp theo quy luật bồi sung). Phương pháp xét nghiệm này rất nhạy với sự khác biệt về cả độ dài và trình tự của cả các oligonucleotid gắn chí thị (probe) và các oligonucleotid đích. Một trong những ứng dụng này là tạo ra các GenChip thương mại có thể xác định kiểu gen đồng thời của nhiều alen, trong đó xét nghiệm kiểu gen được FDA phê chuẩn sớm nhất và hiện nay vẫn đang được sử dụng phổ biến trong lâm sàng là bộ kit AmplichipTM CYP450 (Hình 4.2). Bộ kit cho phép xác định kiểu gen của 27 alen của *CYP2D6* và ba alen của gen *CYP2C19* liên quan đến các kiểu hình chuyển hóa khác nhau. Xét nghiệm được giới thiệu để đánh giá tình trạng chuyển hóa của bệnh nhân đối với từng loại thuốc là cơ chất cho các isoenzym CYP450 2D6 và 2C19 và đối với việc điều chỉnh liều ở bệnh nhân, cho phép phân biệt các kiểu gen tương ứng với hai loại kiểu hình của *CYP2C19*, bốn loại kiểu hình của *CYP2D6*, để đạt được hiệu quả điều trị và tránh nguy cơ tác dụng không mong muốn nghiêm trọng. Một số hướng dẫn điều trị đã được ban hành để điều chỉnh liều tương ứng với kiểu gen *CYP2D6* và *CYP2C19* của bệnh nhân.



B Trình tự tham khảo wild-type/ đa hình

Các probe đặc hiệu với trình tự wild-type

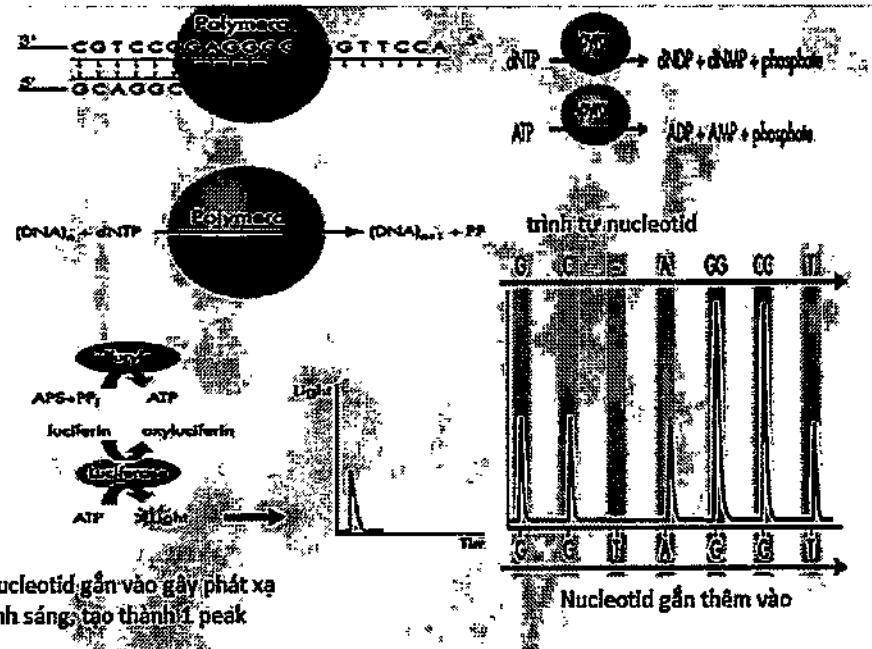
Các probe đặc
hiệu với trình
tự đa hình



Hình 4.2. Nguyên lý của Gen Chip

Bảng 4.1. Một số hệ thống xác định kiểu gen theo công nghệ hiệu năng trung bình

Tên hệ thống	Tóm tắt nguyên lý kỹ thuật	Đặc điểm
Tagman (Applied Biosystems)	Real-time PCR	Hệ thống cho phép phân tích số lượng bản copy và mức độ biểu hiện mRNA với 384 giếng đồng thời
Infiniti (Autogenomics)	Microarray	Có thể tiến hành phản ứng PCR đồng thời với 24 mẫu
Tag-it Mutation Detection (Luminex Molecular Diagnostics)	Multiplex PCR với các vị cầu chứa chất huỳnh quang đặc hiệu	Có thể xét nghiệm đồng thời 100 gen khác nhau trong một tube phản ứng, 24 mẫu cùng một lúc
Pyrosequencing (Qiagen)	Giải trình tự trong khi tổng hợp chuỗi, phát hiện bằng huỳnh quang	Ưu điểm so với các kỹ thuật khác là cho biết trình tự xung quanh vị trí có SNP, nhờ đó, giúp tăng độ tin cậy của xét nghiệm. Cho phép phân tích 24 hoặc 96 mẫu đồng thời. Cho phép phát hiện không chỉ SNP mà còn các loại đột biến khác
Invader Assay (Hologic)	Cắt bằng enzym giới hạn đặc hiệu cấu trúc	Cho phép phân tích đồng thời 32 mẫu



Hình 4.3. Nguyên lý của công nghệ pyrosequencing

3.3. Công nghệ xác định kiểu gen hiệu năng cao

Với lợi thế cả về chi phí và tốc độ, công nghệ này phù hợp với các nghiên cứu có cỡ mẫu lớn, số lượng đa hình lớn nhưng cũng đi kèm với những yêu cầu cao về thiết bị, chi phí và kỹ thuật viên. Các kỹ thuật thường được áp dụng bao gồm khói phô và sắc ký lỏng hiệu năng cao biến tính.

Phương pháp khói phô

Đây là phương pháp có thông lượng cao, là một kỹ thuật dùng để đo đặc tỷ lệ khói lượng trên điện tích của ion, phô biến là công nghệ ion hóa giải hấp thụ laser MALDI - TOF, có thể xác định kiểu gen chính xác dựa trên việc phát hiện chính xác khói lượng phân tử của sản phẩm acid nucleic. Ngược lại với các phương pháp xác định kiểu gen trên dựa trên ánh sáng, huỳnh quang hoặc gel, phương pháp khói phô phân biệt các phân tử ADN dựa trên một khói lượng xác định. Do phương pháp này sử dụng chủ yếu như một phương pháp phát hiện nên thường được kết hợp với các phương pháp xác định kiểu gen phân biệt alen, chẳng hạn như phương pháp lai đặc hiệu alen. Mặc dù phương pháp này có độ chính xác rất lớn và thông lượng cao (có khả năng xác định từ 10.000 - 50.000 kiểu gen mỗi ngày), nhưng điểm chính của khói phô là chi phí đầu tư cho thiết bị cao và các quy trình tinh chế sản phẩm nghiêm ngặt trước khi chạy qua khói quang phô kẽ.

MassARRAY system là hệ thống thương mại phổ biến sử dụng phân tích khối phổ để phân biệt các alen. Hệ thống này có thể dùng cho các dự án lập bản đồ gen với những bộ kit thương mại đặc hiệu.

Phương pháp DHPLC - sắc ký lỏng hiệu năng cao biến tính (denaturing high-performance liquid chromatography)

Đây là phương pháp độc đáo vì có thể được sử dụng cho cả khám phá đa hình gen và xác định kiểu gen. DHPLC sử dụng cột pha đảo cặp ion để phân biệt giữa các alen biến thể và alen không biến đổi. Một sản phẩm PCR (200 - 700 bp) từ một mẫu có kiểu gen đã biết (mẫu tham chiếu) được so với các sản phẩm PCR của các kiểu gen chưa biết. Ưu điểm của DHPLC là có thông lượng cao, quy trình tự động cũng như khả năng sử dụng các mồi PCR qua biến đổi và các sản phẩm PCR chưa được tinh chế. DHPLC cũng có lợi thế là có thể phát hiện kiểu đa hình mới. Những hạn chế chính của DHPLC là các bước tối ưu hóa cần thiết để đạt được kết quả phân biệt cao. Ngoài ra, độ tin cậy của phương pháp phụ thuộc vào độ tái lập của thời gian lưu.

3.4. Công nghệ xác định kiểu gen hiệu năng siêu cao

Khi không xác định được gen ứng viên và biến thể mục tiêu rõ ràng, các vi mảng (chip ADN bead array) cho phép quét nhanh để giới hạn được các vùng gen mục tiêu cụ thể. Loại công nghệ này cho phép phân tích một số lượng lớn gen và SNP hoặc thậm chí toàn bộ hệ gen trong một xét nghiệm. Các dữ liệu thu được đòi hỏi phải có phân tích thống kê phức tạp, thường được áp dụng để khám phá những vùng gen mới chưa từng được biết có liên quan đến đáp ứng thuốc.

Hệ thống BeadArray System (Illumina)

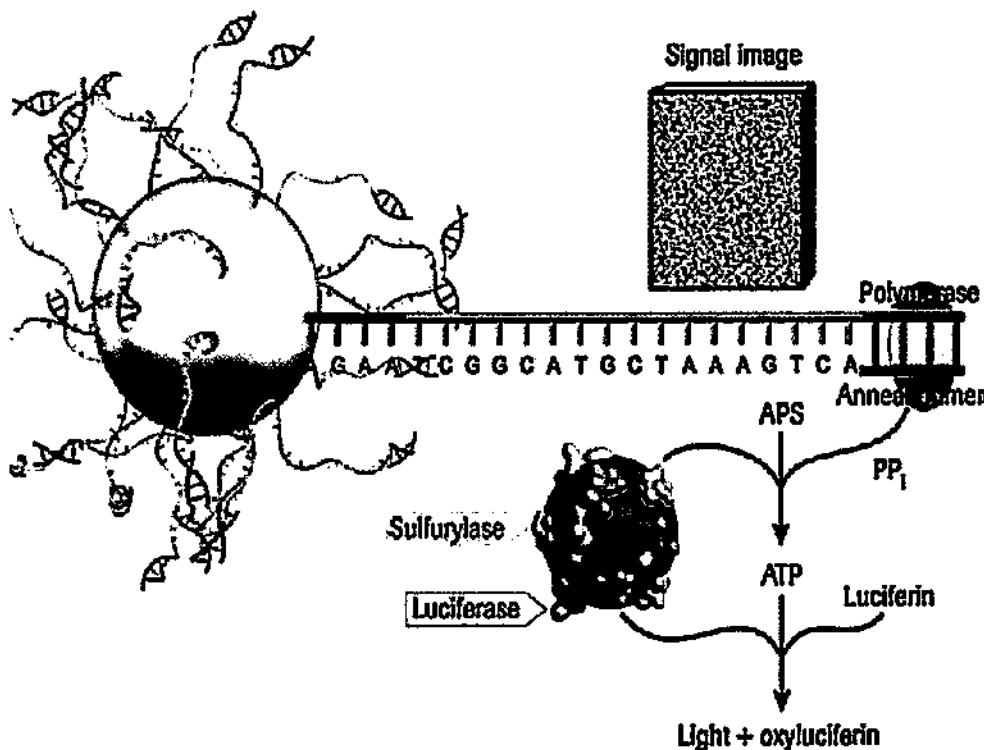
Công nghệ này dựa trên nguyên lý của PCR đặc hiệu alen và phép lai trên từng chuỗi ADN, cho phép phân tích 96 - 1536 SNP đồng thời với một loại polymerase đặc biệt giúp phân tích 300.000 kiểu gen trong vài giờ và có thể xét nghiệm cùng lúc với 16 - 96 mẫu. Phiên bản mới nhất của hệ thống này (Infinium) cho phép phân tích đồng thời không giới hạn số gen.

Hệ thống Genome-Wide Human SNP Array 6.0 (Affymetrix)

Hệ thống này bao gồm 1,8 triệu marker di truyền, bao gồm 946.000 đầu dò phát hiện số lượng bản copy, cho phép xét nghiệm đồng thời 48 - 96 mẫu. Với quy mô đó, hệ thống này phù hợp với những nghiên cứu GWAS quy mô rất lớn.

Bên cạnh đó, Affymetrix còn có những hệ thống xác định kiểu gen mục tiêu cho phép xét nghiệm đồng thời 3.000 - 20.000 SNP để dùng cho các nghiên cứu sâu hơn.

3.5. Các công nghệ giải trình tự song song quy mô lớn



Hình 4.4. Nguyên lý của hệ thống giải trình tự Genome Sequencer System

Hàng triệu bản copy của 1 đoạn trình tự chứa trong mỗi vi cầu

Mặc dù giải trình tự gen là tiêu chuẩn vàng trong việc xác định kiểu gen nhưng về hiệu quả kinh tế, chỉ phù hợp với những dự án nghiên cứu rất lớn. Sự phát triển của công nghệ giải trình tự gen song song quy mô lớn (hay còn gọi là công nghệ giải trình tự thế hệ mới - Next generation sequencing (NGS)) giúp giải quyết vấn đề này vì cho phép tổng hợp các trình tự ADN có kích thước lên tới 100 triệu base trong vòng 2 ngày. Các công nghệ này có thể được sử dụng để xác định các loại đa hình của gen ứng viên hoặc sàng lọc tim đa hình mới của một gen.Thêm vào đó, với công nghệ này, việc giải trình tự toàn bộ hệ gen không còn là vấn đề khó khăn lớn. Đây chính là yếu tố giúp nghiên cứu và ứng dụng Gen được học phát triển mạnh mẽ trong thời gian gần đây.

Bảng 4.2. Một số hệ thống giải trình tự gen thế hệ mới

Tên hệ thống	Tóm tắt nguyên lý kỹ thuật	Đặc điểm
454 sequencing technology (Roche)	Pyrosequencing trên pha rắn (giải trình tự gen bằng cách tổng hợp hợp các mảnh nhỏ AND rồi sau đó gắn lại bằng phản ứng enzym)	Độ chính xác, hiệu quả và hiệu suất cao hơn rất nhiều so với phương pháp Sanger. Ngoài ra, có thể dùng để phân tích transcriptome, xác định các vị trí gắn yếu tố phiên mã, phân tích methyl hóa. Hệ thống này đã được sử dụng để giải trình tự toàn bộ hệ gen người và xác định tỷ lệ tế bào ung thư mang đột biến mới của bệnh nhân.
SOLiD (Applied Biosystems)	Phát hiện và lai hóa oligonucleotid	Có thể phân tích 20 Gb trình tự ADN trong mỗi chu kỳ chạy (6 ngày). Hệ thống này có độ linh hoạt cao, có thể giải trình tự các vùng gen mục tiêu nhằm xác định SNP mới. Ngoài ra, có thể dùng để giải trình tự toàn bộ hệ gen, phân tích transcriptome, phân tích methyl hóa.
Genome Analyzer (Illumina)	Kết hợp giữa phân tích tế bào dòng chảy với lai hóa oligonucleotid	Cho phép phân tích 1,5 Gp trong mỗi chu kỳ 2,5 ngày, phân tích đồng thời tới 20 mẫu cho mỗi kênh. Hệ thống được áp dụng rộng rãi trong giải trình tự toàn bộ gen, giải trình tự vùng gen mục tiêu, phân tích transcriptome, phân tích methyl hóa.

4. XÉT NGHIỆM KIỂU HÌNH

Bản chất của xét nghiệm kiểu hình trong gen được học là những xét nghiệm cho phép định lượng được ảnh hưởng của sự thay đổi về cấu trúc, số lượng, chức năng protein đối với số lượng/ đáp ứng của thuốc liên quan trong cơ thể. Trong Gen được học, xét nghiệm kiểu hình thường gặp nhất đối với việc nghiên cứu về đa hình enzym chuyển hóa thuốc, do đó, kiểu hình được quan tâm chính là hoạt tính của enzym. Điều quan trọng nhất trong xét nghiệm kiểu hình là lựa chọn được các chất chỉ thị (probe). Chất chỉ thị thường là một cơ chất đặc hiệu của enzym chuyển hóa, có độ an toàn cao, có thể dễ dàng định lượng trong máu, nước tiểu... Để đánh giá hoạt tính của một enzym chuyển hóa

thuốc, người ta thường định lượng và tính tỷ số giữa nồng độ của chất chỉ thị với nồng độ sản phẩm chuyên hóa chính của nó, dưới tác dụng của enzym mục tiêu, thường lấy mẫu trong máu hoặc nước tiểu.

Nồng độ trong huyết tương và nước tiểu của các chất chỉ thị và sản phẩm chuyên hóa chính của chúng thường được định lượng bằng HPLC pha đảo hoặc sắc ký lỏng khói phô. Ngoài ra, có thể định tính, định lượng protein bằng phương pháp xác định bằng hình ảnh kết hợp miễn dịch như phương pháp hóa mô miễn dịch.

5. ỨNG DỤNG CÔNG NGHỆ DỮ LIỆU LỚN TRONG NGHIÊN CỨU GEN DƯỢC

Sự phát triển của công nghệ, đặc biệt là công nghệ giải trình tự gen thế hệ mới đi kèm theo những nghiên cứu GWAS quy mô lớn và nghiên cứu giải trình tự toàn bộ hệ gen làm cho khối lượng dữ liệu ngày càng gia tăng, số lượng biến số tăng từ vài trăm biến số đến hàng triệu biến số độc lập. Do đó, ứng dụng của tin sinh học và đặc biệt là công nghệ dữ liệu lớn ngày càng phổ biến trong nghiên cứu gen dược, bao gồm từ thu thập dữ liệu đến xử lý, phân tích dữ liệu, đọc kết quả, áp dụng vào trong thực hành lâm sàng. Ví dụ: Một nghiên cứu trên toàn bộ hệ gen với 1000 mẫu như các dự án 1000 genome đang phổ biến ở nhiều nước hiện nay sẽ cho ra khoảng 300 tetrabyte dữ liệu lưu trữ. Đối với mỗi mẫu, cần khoảng 45 giờ để xử lý dữ liệu với những máy tính hiện đại. Công nghệ điện toán đám mây và các máy tính hiệu năng cao giúp tăng tốc độ xử lý các dữ liệu đó. Các công nghệ dữ liệu lớn cho phép nghiên cứu mối liên quan của hàng triệu biến số di truyền thu được với đáp ứng điều trị trong lâm sàng. Các hướng tiếp cận mới như genomics hệ thống, kết hợp các cơ sở dữ liệu omics đa dạng trở thành những chiến lược hiệu quả để làm sáng tỏ mối liên quan giữa kiểu gen và đáp ứng điều trị.

Các cơ sở dữ liệu tìm kiếm về hệ gen (Genome browser), là một khái niệm mới, bao gồm các công cụ và cơ sở dữ liệu với giao diện hình ảnh giúp người dùng tra cứu, lưu giữ, phân tích và chú giải các dữ liệu genomics.

Bảng 4.3. Một số ví dụ về cơ sở dữ liệu về hệ gen được dùng phổ biến trong nghiên cứu gen được

Tên cơ sở dữ liệu	Cơ quan quản lý	Ứng dụng chính trong nghiên cứu gen được
NCBI	Trung tâm Thông tin Công nghệ sinh học Quốc gia - Viện Sức khỏe Hoa Kỳ	Cung cấp các tài nguyên dữ liệu sinh học bao gồm Genbank, thư viện các tạp chí chuyên ngành, công cụ tìm kiếm BLAST... Cho phép tìm kiếm các thông tin về SNP, trình tự ADN, ARN, protein, cho phép phân tích được mối liên quan giữa kiểu gen với kiểu hình đáp ứng lâm sàng thông qua công cụ ClinVar. Ưu điểm lớn nhất là cho phép thể hiện được thông tin về trình tự gen dưới dạng bản đồ di truyền qua công cụ Mapviewer. Các dữ liệu đều được cung cấp miễn phí.
Gene card	Trung tâm Hệ gen người Crown, Viện Khoa học Weizmann, Israel	Cung cấp tài nguyên dữ liệu về hệ gen người, bao gồm cả genomic, proteomic, transcriptomic, di truyền, các thông tin về chức năng và vai trò trong lâm sàng của các gen đã được biết. Cho phép tổng quan nhanh chóng các thông tin về y sinh học liên quan đến một gen cụ thể nào đó và cả các nhà cung cấp những sinh phẩm và thiết bị cần thiết cho việc nghiên cứu một gen nào đó.
Ensembl	Viện Tin sinh học châu Âu và Viện Wellcome Trust Sanger	Cung cấp các công cụ cho phép dự đoán và phân loại về chức năng của 1 protein, dự đoán các đột biến làm giảm hoặc mất chức năng protein. Ngoài ra, cho phép người dùng thể hiện cấu trúc exon-intron của một gen.
1000 genomes	Gồm nhiều nhóm nghiên cứu đa quốc gia	Xuất phát từ dự án 1000 genomes, cho phép người dùng tiếp cận với các thông tin về biến thể gen, tần suất của các alen trong từng quần thể, kể cả tần suất của những alen hiếm, thông tin về các haplotype. Dữ liệu được cung cấp miễn phí.

Tên cơ sở dữ liệu	Cơ quan quản lý	Ứng dụng chính trong nghiên cứu gen và dược
Dự án KRG	Trung tâm Khoa học Genome, Viện sức khỏe Quốc gia Hàn Quốc	Cung cấp thông tin về các biến thể trong toàn bộ gen của người Hàn Quốc, các thông tin về đa hình, đột biến, về sự đa dạng của hệ gen, sự khác biệt về tần suất alen giữa người Hàn Quốc và các chủng tộc khác, các chủ giải về chức năng của gen. Dữ liệu được cung cấp miễn phí.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Despina Sanoudou (2012). Clinical Applications of *Pharmacogenetics*. Intechopen.
2. ECM Tonk, D Gurwitz, A-H Mait ADN-van der Zee, ACJW Janssens (2017), Assessment of pharmacogenetic tests: presenting measures of clinical validity ADN potential population impact in association studies, *Pharmacogenomics Journal* (2017) 17, 386-392.
3. ECM Tonk1, D Gurwitz2, A-H Maitland-van der Zee3 and ACJW Janssens (2017), Assessment of pharmacogenetic tests: presenting measures of clinical validity and potential population impact in association studies, *Pharmacogenomics Journal* (2017) 17, 386-392.
4. Eun-Young Cha, Hye-Eun Jeong, Woo-Young Kim, Ho Jung Shin, Ho-Sook Kim and Jae-Gook Shin (2016), Brief introduction to current pharmacogenomics research tools, *Transl Clin Pharmacol* Vol. 24, No.1, Mar 15, 2016.
5. M. J. Deenen (2011), Clinical Pharmacology: Pharmacogenetics: Opportunities for Patient-Tailored Anticancer Therapy, *The Oncologist* 2011;16:811-819.
6. Ruowang Li, Dokyoon Kim & Marylyn D Ritchie (2017), Methods to analyze big data in pharmacogenomics research, *Pharmacogenomics* 2017 Jun;18(8):807-820.
7. Russ B. Altman (2012), Principles of *Pharmacogenetics and Pharmacogenomics*, Cambridge University Press.
8. Srinivasan BS et all. (2009). Methods for analysis in pharmacogenomics: lessons from the Pharmacogenetics Research Network Analysis Group. *Pharmacogenomics*. 10(2):243-51.
9. Wu AH, (2013). Genotype and phenotype concordance for pharmacogenetic tests through proficiency survey testing. *Arch Pathol Lab Med*. 137(9): 1232-6.

PHẦN 2
ẢNH HƯỞNG CỦA KIỂU GEN
LÊN ĐÁP ỨNG THUỐC

Chương 5

ẢNH HƯỞNG CỦA KIẾU GEN LÊN DƯỢC ĐỘNG HỌC CỦA THUỐC

MỤC TIÊU HỌC TẬP

Phân tích được ảnh hưởng của kiểu gen đối với quá trình dược động học của thuốc thông qua các protein tham gia vào quá trình hấp thu, phân bố, chuyển hóa, thải trừ thuốc.

Khi một thuốc được đưa vào cơ thể, nó sẽ trải qua các quá trình hấp thu, phân bố, chuyển hóa, thải trừ. Mỗi quá trình đó đều có sự tham gia của các protein khác nhau và do đó những sự thay đổi về cấu trúc, chức năng hay về cơ chế điều hòa hoạt động của các gen mã hóa những protein đó đều có ảnh hưởng đến đáp ứng thuốc với mức độ khác nhau.

1. ẢNH HƯỞNG CỦA KIẾU GEN LÊN SỰ HẤP THU, PHÂN BỐ, VẬN CHUYỂN VÀ THẢI TRỪ THUỐC

Các protein vận chuyển chịu trách nhiệm đưa thuốc đi qua màng tế bào và các màng sinh học khác có vai trò quan trọng đối với sự hấp thu, phân bố và thải trừ thuốc. Hiện nay, người ta đã phát hiện nhiều protein vận chuyển liên quan đến dược động học của thuốc, đồng thời cũng phát hiện hiện tượng đa hình của nhiều gen mã hóa các protein này. Trong số các loại protein vận chuyển đó, những thay đổi về cấu trúc hoặc chức năng của các bơm tổng thuốc (efflux pump) sẽ dẫn đến những khác biệt lớn về đáp ứng thuốc liên quan. Đặc biệt, sự giảm số lượng và/hoặc chức năng của các bơm này có thể dẫn đến tăng độc tính thuốc do:

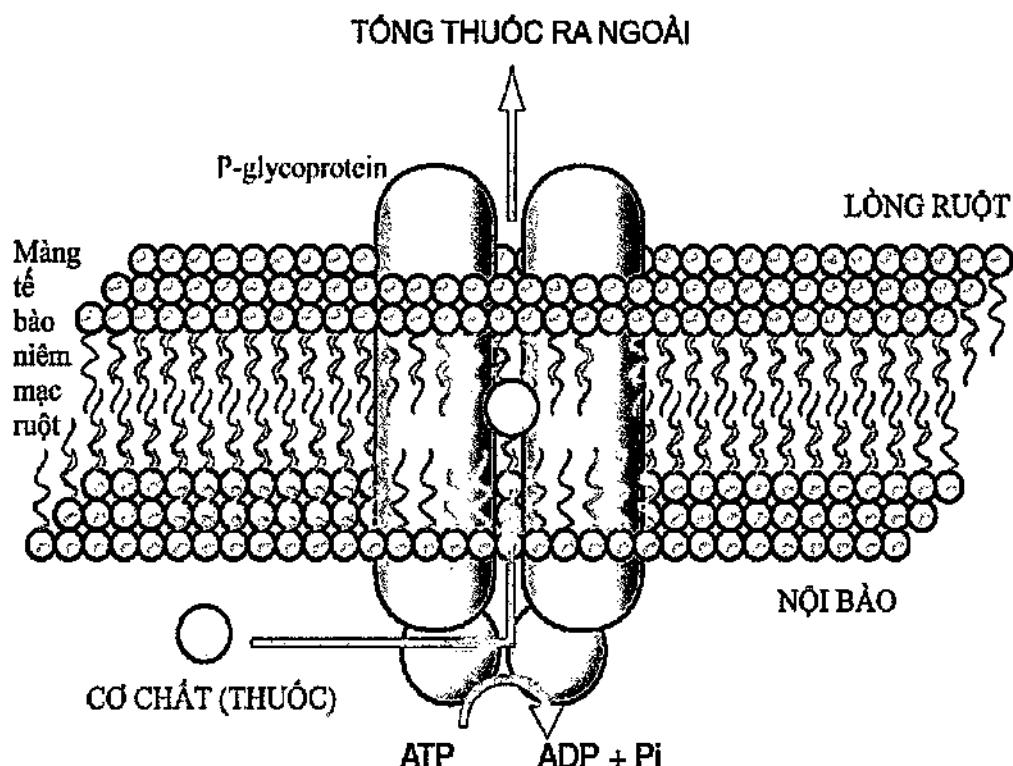
- Giảm hoạt động của bơm tổng thuốc ra khỏi cơ thể, dẫn đến tăng sinh khả dụng, giảm khả năng thải trừ qua thận và mật, tăng nồng độ thuốc trong huyết tương, từ đó kéo theo tăng độc tính của thuốc.

- Giảm hoạt động của bơm tổng thuốc ở trên màng tế bào làm tăng nồng độ thuốc nội bào, tích lũy thuốc dẫn đến tăng độc tính.

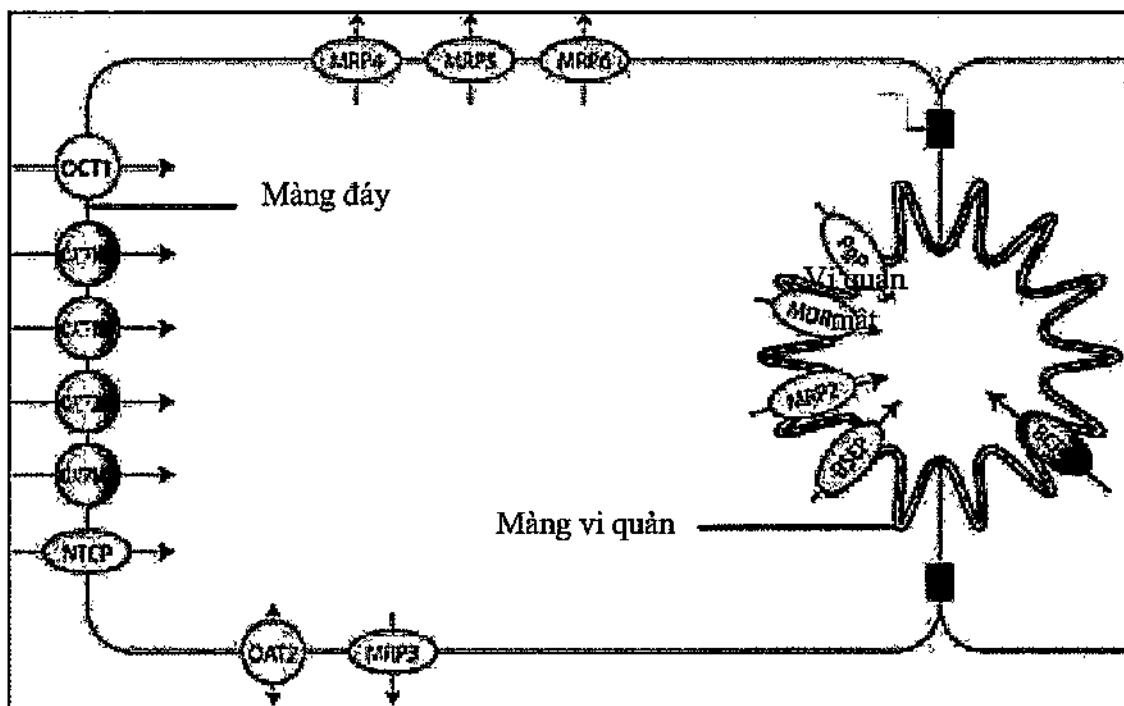
Các thuốc bị ảnh hưởng nhiều nhất bởi những bất thường này là các thuốc có phạm vi điều trị hẹp và độc tính cao. Những bất thường liên quan đến các bơm đưa thuốc vào sẽ tạo ra những tác động theo xu hướng ngược lại với các bơm tổng thuốc.

Một trong những loại bơm tổng thuốc được nghiên cứu nhiều nhất là P-glycoprotein (P-gp), một loại protein vận chuyển thuốc nhóm liên kết ATP. P-gp là nhóm các protein gắn màng có trọng lượng phân tử khoảng 170 kDa. Do P-gp được phát hiện khi người ta quan sát thấy một nhóm glycoprotein có liên quan đến tính thấm qua màng tế bào của một số thuốc ung thư nên các glycoprotein này được đặt tên là P-glycoprotein (P.chỉ độ thấm - Permeability).

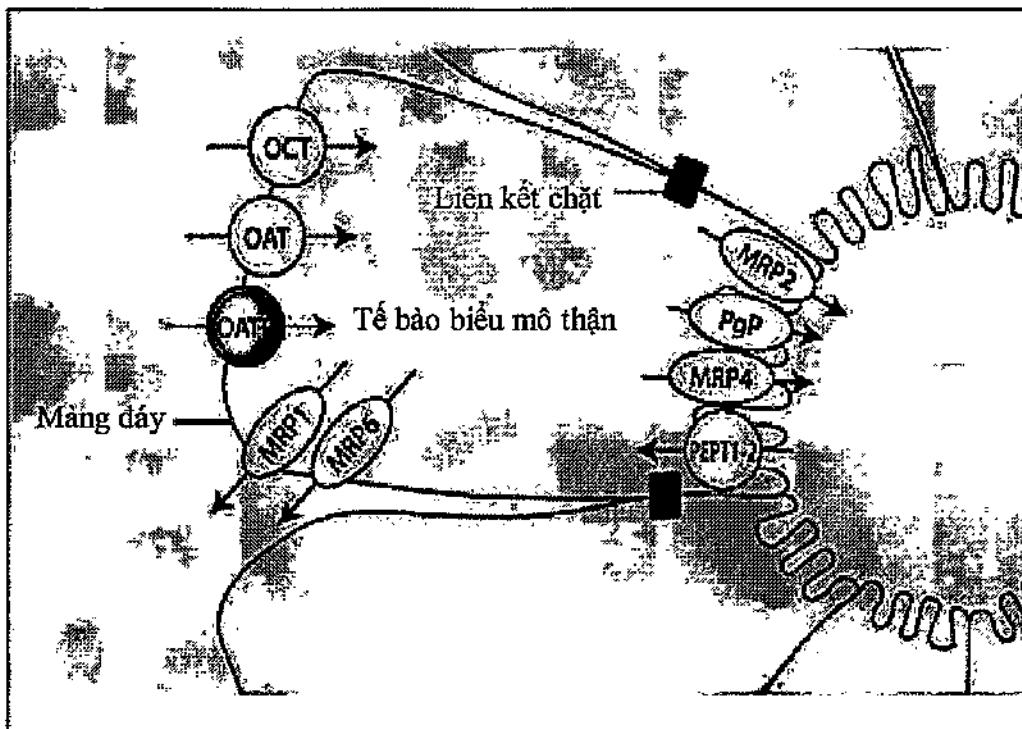
P-gp phân bố ở tất cả các loại mô của người, bao gồm gan, não, tuyến thượng thận, thận, mật, hệ sinh dục, ruột và nhiều tổ chức khác nhưng tập trung nhiều nhất ở rìa bàn chải trên bề mặt tế bào ruột non và trên bề mặt tế bào gan. Ở tá tràng, P-gp thể hiện vai trò của một bơm tổng thuốc bằng cách bơm các chất ngoại sinh từ bên trong các tế bào thành ruột trở lại lồng óng tiêu hóa (chức năng vận chuyển ngược - countertransport) (Hình 5.1). Ở gan, P-gp vận chuyển thuốc từ trong tế bào gan vào óng dẫn mật (Hình 5.2). Ở nhiều loại tế bào khác, P-gp đóng vai trò của bơm tổng thuốc từ trong tế bào ra ngoài. Ở hàng rào máu não, P-gp phân bố ở đám rối vi mạch, có tác dụng hạn chế sự tích lũy thuốc ở não. Các thuốc là cơ chất của P-gp bao gồm các thuốc chống ung thư, glycosid tim, thuốc ức chế miễn dịch, glucocorticoid, các thuốc kháng virus... Sự biểu hiện của P-gp ở nhiều mô khác nhau cho thấy vai trò quan trọng của protein vận chuyển này trong sự bài xuất các chất ngoại sinh và các sản phẩm chuyển hóa vào nước tiểu, mật, ruột... Nói chung, hoạt động của P-gp có ý nghĩa đặc biệt đối với sinh khả dụng đường uống của nhiều thuốc.



Hình 5.1. Bom tổng thuốc P-gp ở tá tràng

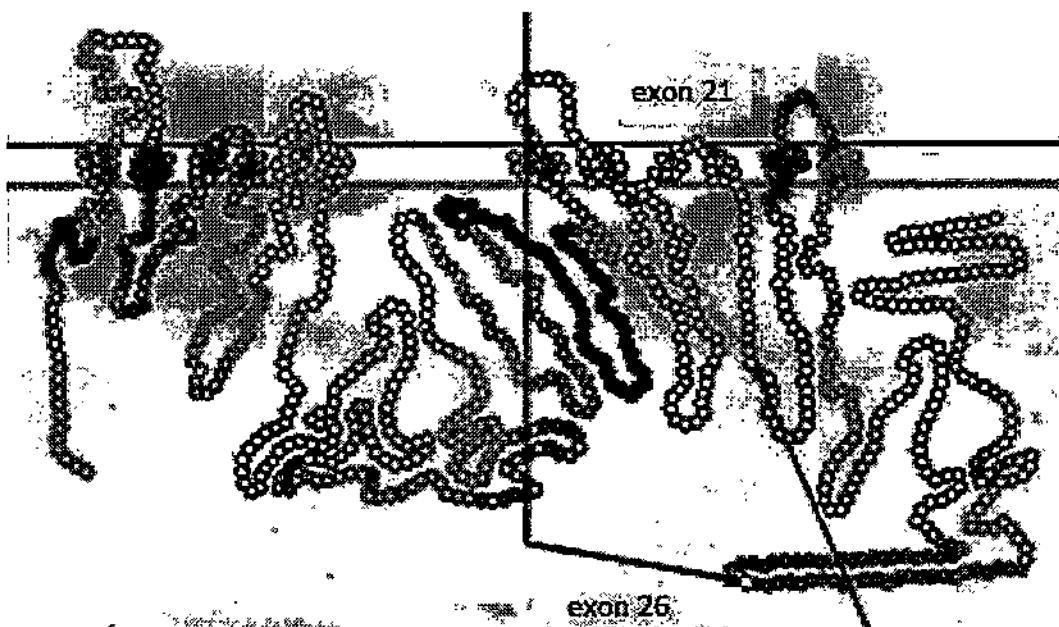


Hình 5.2. Bom tổng thuốc P-gp ở gan

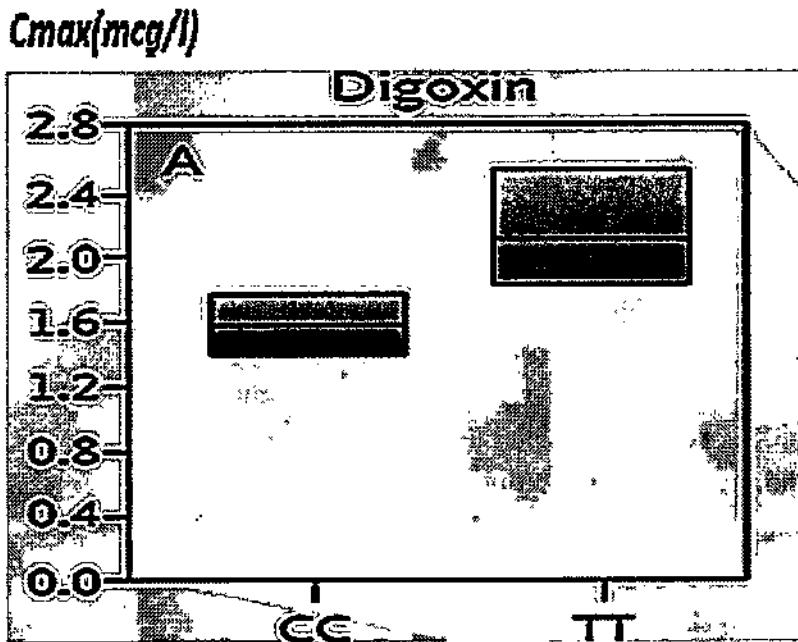


Hình 5.3. Bom tống thuốc P-gp ở thận

P-glycoprotein được mã hóa bởi gen *MDR1* (multiple drug resistance type 1) (còn gọi là gen *ABCB1* - ATP binding cassette subfamily B member 1) nằm trên nhiễm sắc thể số 7, vùng q21.1. Cho đến nay, người ta đã phát hiện ra hơn 100 biến thể của gen *MDR1* ở người. Trong số đó, biến thể c.C3435T ở exon 26 được chú ý nhiều nhất, liên quan với nhiều tác dụng không mong muốn của thuốc (Hình 5.4) và xuất hiện với tần suất khác nhau ở các chủng tộc khác nhau (Hình 5.7). Biến thể này tuy không làm thay đổi trình tự acid amin nhưng dẫn đến sự thay đổi mức độ biểu hiện của P-gp. Kiểu gen thường gấp CC có mức độ biểu hiện cao nhất, sau đó đến kiểu gen TC và kiểu gen đa hình đồng hợp tử TT có mức độ biểu hiện thấp nhất. Tuy nhiên, ảnh hưởng trên lâm sàng của sự đa hình gen *MDR1* khác nhau tùy từng loại thuốc với đặc điểm khác biệt về vị trí hấp thu, phân bố, thải trừ và đích tác dụng.



Hình 5.4. Hai vị trí thường xảy ra đột biến của MDR1

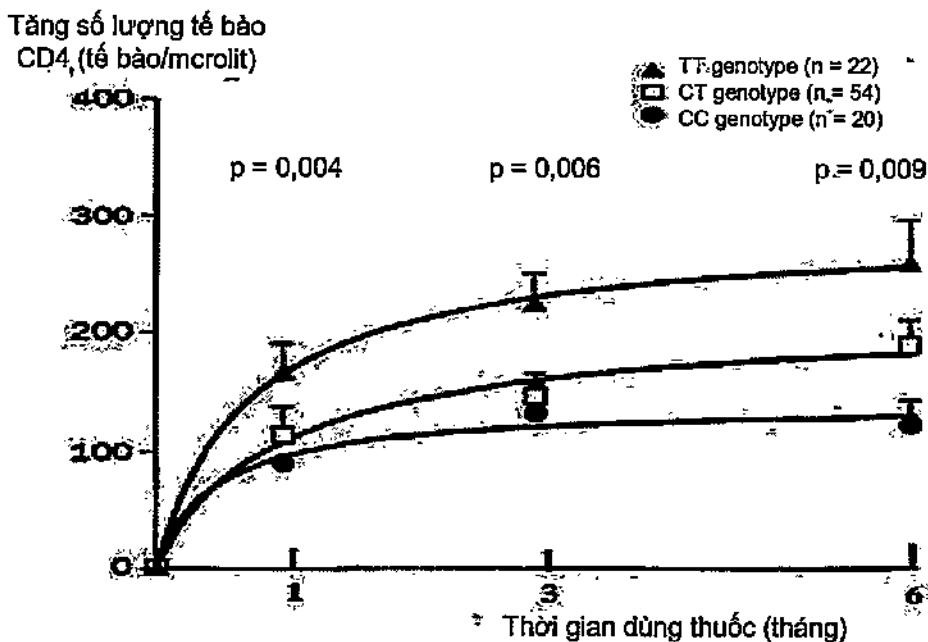


Hình 5.5. So sánh Cmax digoxin của hai nhóm bệnh nhân mang kiểu gen MDR1 khác nhau

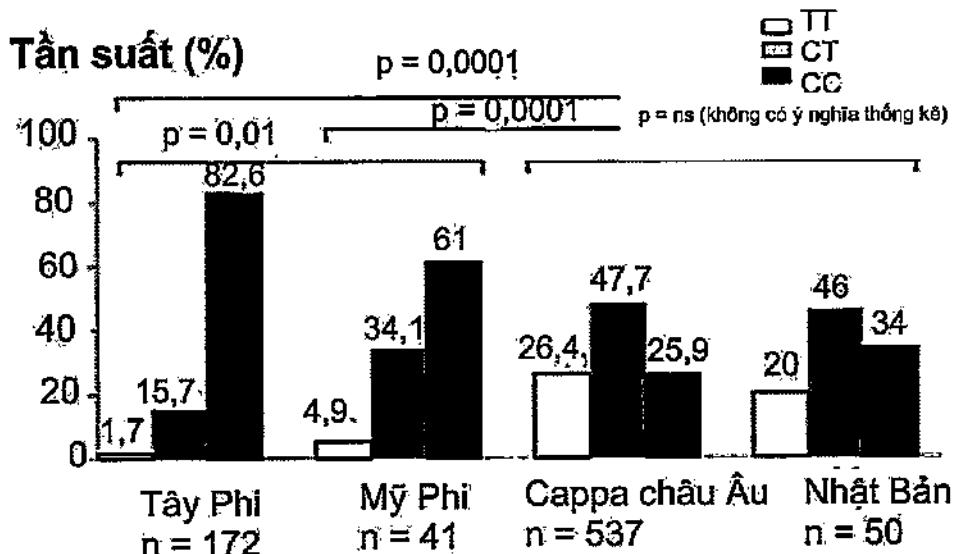
Một nghiên cứu về sự khác biệt trong đáp ứng điều trị với digoxin ở những bệnh nhân có kiểu gen MDR1 khác nhau cho thấy những người mang kiểu gen TT có Cmax cao hơn rõ rệt so với kiểu gen CC (Hình 5.5). Điều này được giải thích là do chức năng

vận chuyển ngược ở tá tràng của người mang kiểu gen TT kém hơn, do đó thuốc được tồn tại trong máu lâu hơn, đạt nồng độ cao hơn trong huyết tương. Những bệnh nhân này có nguy cơ bị quá liều digoxin với những tai biến nguy hiểm như: loạn nhịp tim, ảo giác, hưng cảm đột ngột...

Một trường hợp khác biệt về đáp ứng thuốc liên quan đến sự đa hình ở exon 26 của gen *MDR1* lại mang đến sự thay đổi khác về hiệu quả điều trị của thuốc. Đó là đối với các thuốc ức chế HIV như nelfinavir, những bệnh nhân mang kiểu gen TT có đáp ứng điều trị tốt hơn, thể hiện ở sự tăng số lượng bạch cầu CD4+ và sự giảm số lượng virus sau 6 tháng điều trị (Hình 5.6). Hiện tượng này được ghi nhận cùng với sự giảm biểu hiện của P-gp ở các tế bào bạch cầu trong máu ngoại vi. Như vậy, sự giảm hoạt động của P-gp ở bạch cầu của những người mang kiểu gen đa hình TT giúp cho thuốc tồn tại trong tế bào bạch cầu lâu hơn, nồng độ thuốc nội bào cao hơn, làm tăng hiệu quả ức chế HIV như kết quả ghi nhận trên lâm sàng.

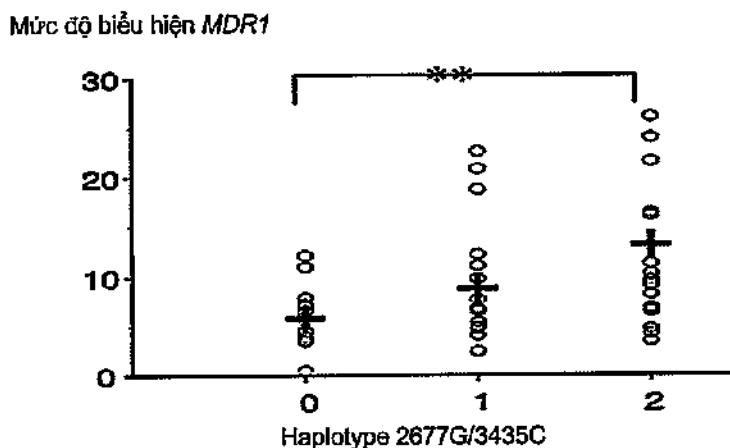


Hình 5.6. Hiệu quả điều trị thể hiện qua số lượng T-CD4 của 3 kiểu gen khác nhau khi dùng nelfinavir



Hình 5.7. Tần suất kiểu gen của *MDR1* c.C3435T ở một số quần thể

Một biến thể khác của *MDR1* là SNP G2677T ở exon 21 (Hình 5.4) dẫn đến sự thay thế acid amin Ala803 bằng Ser và làm thay đổi chức năng của P-gp. Trong thực tế, 2 SNP này thường đi cùng nhau tạo thành một Haplotype. Mức độ biểu hiện của gen *MDR1* có liên quan mật thiết đến tần suất xuất hiện của Haplotype này. Cụ thể là, kiểu gen mang 2 alen 2677G/3435C có mức độ biểu hiện của gen *MDR1* cao hơn kiểu gen chỉ mang một alen biến thể và cao hơn kiểu gen đồng hợp từ wildtype (Hình 5.8).



Hình 5.8. Mức độ biểu hiện gen *MDR1* ở tế bào gan của những người mang kiểu gen khác nhau tương ứng với Haplotype ở vị trí 2677 và 3435

Ngoài các ví dụ nêu trên, đa hình gen *MDR1* còn có thể ảnh hưởng tới đáp ứng của nhiều thuốc khác, đặc biệt là làm tăng tác dụng không mong muốn (Bảng 5.1).

Bảng 5.1. Một số ví dụ về các thuốc có đáp ứng thay đổi do sự đa hình gen MDR1 .

Thuốc	Thay đổi đáp ứng với thuốc
Nortriptylin	Tăng huyết áp
Tacrolimus	Độc tính thần kinh
Cyclosporin	Tăng độc tính
Ivermectin	Độc tính thần kinh
Digoxin	Tăng độc tính
Phenytoin	Tăng độc tính
Indinavir	Kháng insulin

2. ẢNH HƯỞNG CỦA KIẾU GEN LÊN CHUYỂN HÓA THUỐC

2.1. Các giai đoạn của quá trình chuyển hóa thuốc

Chuyển hóa thuốc hay còn gọi là sinh chuyển hóa đối với thuốc là quá trình biến đổi của thuốc trong cơ thể dưới ảnh hưởng của enzym tạo nên những chất ít nhiều khác với chất mẹ; được gọi là chất chuyển hóa. Các phản ứng chuyển hóa thuốc được chia thành hai pha (pha I và pha II) xảy ra chủ yếu ở gan.

Phản ứng pha I là các phản ứng nhằm biến đổi thuốc mẹ thành các sản phẩm phân cực hơn (hòa tan trong nước nhiều hơn) hoặc dễ phản ứng hơn bằng cách để lộ ra hoặc gắn vào các gốc chức năng có cực như -OH, -SH hay -NH₂. Do đó, tùy từng trường hợp, các thuốc sau khi chuyển hóa ở pha I có thể tăng hoặc giảm hoạt tính và/ hoặc độc tính. Đặc biệt, một số tiền thuốc (prodrug) phải sau chuyển hóa ở pha I mới trở thành được chất có tác dụng chữa bệnh, ví dụ như các thuốc giảm đau opiat. Pha I bao gồm các phản ứng không liên hợp (còn được gọi là các phản ứng giáng hóa) như phản ứng oxy hóa, phản ứng khử hóa, phản ứng thủy phân, phản ứng hydrat hóa. Số lượng các enzym pha I được biết đến ít hơn các enzym pha II. Hầu hết sự chuyển hóa pha I chủ yếu được thực hiện thông qua các enzym CYP. Các phản ứng pha I bao gồm:

a. *Phản ứng oxy hóa*

Phản ứng oxy hóa là phản ứng quan trọng và phổ biến nhất không những đối với các chất ngoại sinh mà cả đối với một số chất nội sinh của cơ thể như estradiol, testosteron,

progesteron, cortison... được xúc tác bởi hệ thống enzym oxy hóa đa chức năng (mixed function oxydase enzym system), trong đó chủ yếu là hệ enzym cytochrom P450.

- Oxy hóa sử dụng một nguyên tử oxy: Là những phản ứng được thực hiện chủ yếu ở microsom nằm trên lưỡi nội bào nhẵn, bao gồm:

+ Hydroxyl hóa nhân thơm: Đây là phản ứng rất phổ biến của các hợp chất chứa nhân thơm như lidocain, propanolol, phenobarbital, acetanilid...

+ Hydroxyl hóa mạch thẳng: Cũng là con đường chuyển hóa thường gặp của nhiều chất. Ví dụ: Pentobarbiton được cộng hợp nhóm OH ở mạch nhánh 5 carbon.

+ Oxy hóa chuỗi thẳng:



Cơ chất thường thấy của phản ứng này là: Toluen, hexobarbital, pentobarbital, tolbutamid, imipramin...

+ Hydroxyl hóa nhân steroid: Đa số các thuốc cũng như các chất nội, ngoại sinh có bản chất steroid được chuyển hóa theo con đường này.

+ Epoxy hóa: Epoxy thường là trung gian không bền nhưng có thể đủ ổn định để được phân lập từ các hợp chất đa vòng (polycyclic). Carbamazepin, protriplin... là cơ chất của phản ứng này.

+ Khử alkyl:

Phản ứng này xảy ra rất dễ dàng với các thuốc có chứa một amin bậc hai hoặc bậc ba, một nhóm alkoxy hoặc một thiol thay thế alkyl. Các phản ứng này thường được gọi là N-, O- hoặc S-dealkyl, tùy thuộc vào loại nguyên tử chứa nhóm alkyl. Clopromazin, imipramin, erythromycin, diazepam, morphin, griseofulvin, papaverin, codein... được chuyển hóa theo cách này.

+ Khử amin oxy hóa: Các amin chứa cấu trúc $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{-NH}_2$ được chuyển hóa bởi hệ thống enzym oxy hóa đa chức năng của microsom (the microsomal mixed-function oxidase system) để giải phóng ion amoni và tạo ra thể ceton tương ứng.

Ngoài các phản ứng kể trên, các thuốc còn có thể chuyển hóa bằng các loại phản ứng sau: N-oxy hóa, S-oxy hóa (ví dụ đối với chlorpromazin), phosphothion oxy hóa (ví dụ đối với parathion), khử halogen (ví dụ: halothan bị khử gốc Cl và Br thành OH tạo alcohol và acid tương ứng).

- Các phản ứng oxy hóa khác: Là các phản ứng không chịu xúc tác bởi cytochrom P450, không xảy ra ở microsom, bao gồm: Oxy hóa alcol và aldehyd (ví dụ ethanol, acetaldehyd bị oxy hóa bởi enzym dehydrogenase), oxy hóa xanthin (các cơ chất chứa nhân xanthin như cafein và các base purin tương ứng bị oxy hóa tạo dẫn xuất acid uric tương ứng), oxy hóa alkyhydrazin (ví dụ carbidopa).

b. Phản ứng khử

Gồm các phản ứng: Khử ở nhân thơm (ví dụ nicotin bị khử thành conitin), khử azo (ví dụ prontosil, tartrazin), khử các dẫn xuất nitro (ví dụ clorazepam, cloramphenicol, methadon), khử các aldehyd (ví dụ cloral hydrat bị khử thành tricloethanol), khử loại halogen (ví dụ carbon tetrachlorid).

c. Phản ứng thủy phân

Các liên kết ester và amid trong các hợp chất ester, amid, hydrazid, carbamat bị thủy phân dưới tác dụng của các enzym esterase và amidase có trong huyết tương, gan, thành ruột và các mô khác. Các phản ứng thủy phân bao gồm phản ứng thủy phân liên kết ester (procain, succinylcholin, aspirin, clofibrat...), thủy phân liên kết amid (procainamid, lidocain, indomethacin), thủy phân các liên kết hydrazid và carbamat (isoniazid).

d. Phản ứng hydrat hóa

Hydrat hóa có thể được coi là một hình thức đặc biệt của thủy phân khi cộng hợp nước vào hợp chất mà không gây phân tách hợp chất. Các epoxid rất dễ bị hydrat hóa tạo dihydrodiol.

Ngoài ra, còn có các phản ứng pha I khác ít gặp hơn như phản ứng đóng vòng thơm, phản ứng dime hóa, phản ứng isome hóa, phản ứng N-carboxyl hóa...

Các phản ứng chuyển hóa pha II đều là các phản ứng liên hợp: Một phân tử nội sinh (acid glucuronic, glutathion, sulfat, glycin, acetyl) sẽ ghép với một nhóm hóa học của thuốc để tạo thành các phức hợp tan trong nước nhằm dễ đào thải ra khỏi cơ thể. Do đó, các enzym pha II còn được gọi là các enzym liên hợp hay các enzym khử độc. Thông thường, các phản ứng ở pha I sẽ tạo ra các nhóm chức cần thiết cho các phản ứng ở pha II, đó là nhóm -OH, -COOH, -NH₂, -SH... Các phản ứng liên hợp đòi hỏi năng lượng và cơ chất nội sinh. Các enzym tham gia chuyển hóa thuốc ở pha II chủ yếu là các enzym vận chuyển (transferase) xúc tác cho các phản ứng liên hợp. Phản ứng liên hợp được thực hiện nhờ các transferase nằm trong microsome hay trong dịch bào tương (Bảng 5.2).

Bảng 5.2. Các phản ứng chính trong chuyển hóa thuốc ở pha II

Loại phản ứng	Cơ chất nội sinh	Enzym chuyển vị trí	Loại cơ chất	Ví dụ các thuốc liên quan
Liên hợp với acid glucuronic	Acid UDP glucuronic	UDP glucuronosyl transferase (microsomi)	Phenol, alcol, acid carboxylic, sulfonamide	Morphin, diazepam, digitoxin, acetaminophen, sulfathiazol

Loại phản ứng	Cơ chất nội sinh	Enzym chuyển vị trí	Loại cơ chất	Ví dụ các thuốc liên quan
Liên hợp với các chất mang nhóm thiol (-SH)	Glutathion	GSH-S-transferase (dịch bào tương, microsom)	Epoxid, nhóm nitro hydroxylamin	Acid ethacrynic bromobenzen
Liên hợp với glycine	Glycin	Acyl-CoA transferase (ty thể)	Dẫn xuất acyl-CoA của acid carboxylic	Acid salicylic, acid benzoic, acid nicotinic, acid cholic
Liên hợp với acid sulfuric	Phosphoadenosyl phosphosulfat	Sulfotransferase (dịch bào tương)	Phenol, alcol, các amin vòng thơm	Estron, anilin, methyldopa, 3-OH cumarin, acetaminophen
Methyl hóa	S-adenosyl methionin	Transmethylase (dịch bào tương)	Catecholamin, phenol amin, histamin	Dopamin, adrenalin, pyridin, histamin
Acetyl hóa (liên hợp với acid acetic)	Acetyl-CoA	N-acetyltransferase (dịch bào tương)	Các amin	Sulfonamid, isoniazid, clonazepam, dapson

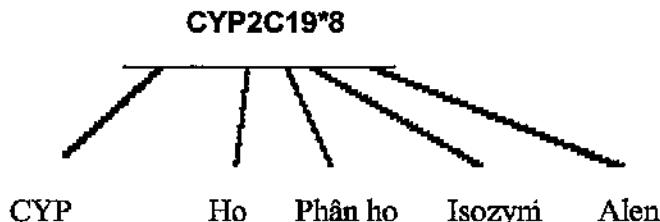
Sau khi chuyển hóa qua pha II, thuốc thường trở thành chất có khối lượng phân tử lớn hơn đáng kể so với chất ban đầu và còn ít tác dụng. Các enzym chuyển hóa pha II quan trọng tập trung chủ yếu ở gan và ruột non, bao gồm các loại sau: Uridine diphosphate-glucuronosyltransferase, sulfotransferases, acetyltransferases, catechol-O-methyltransferase và glutathione S-transferase.

2.2. Ảnh hưởng của kiểu gen lên sự chuyển hóa thuốc pha I

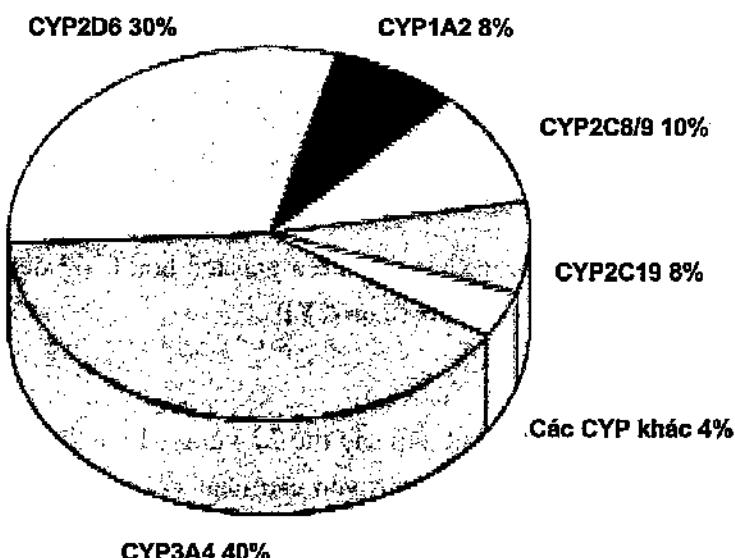
2.2.1. Ảnh hưởng của kiểu gen mã hóa CYP

Trong số các enzym chuyển hóa thuốc pha I, các enzym cytochrom P450 (CYP) có vai trò quan trọng nhất, xúc tác phản ứng chuyển hóa pha I của đa số thuốc và cũng là những enzym chuyển hóa thuốc được nghiên cứu nhiều nhất. Trong toàn bộ hệ gen người, có 57 gen mã hóa CYP. Các isozym được sắp xếp thành họ và mỗi họ lại được chia nhỏ thành các phân họ dựa theo sự tương đồng của chuỗi acid amin trong phân tử, trình tự này trong các họ có ít nhất 40% giống nhau và trong các phân họ có ít nhất 55% giống nhau. Mỗi họ được ký hiệu bởi một số (ví dụ CYP3), mỗi phân họ được ký hiệu bởi một

chữ cái viết hoa (ví dụ CYP3A) và gen đơn hoặc isozym được biểu thị bởi số thứ hai (như CYP3A4). Ngoài ra, người ta còn dùng chữ số thứ ba (được ngăn cách với chữ số biểu thị isozym cụ thể bởi một dấu hoa thị (*)) để thể hiện số thứ tự alen (dạng biến đổi của gen) (Hình 5.9).



Hình 5.9. Ý nghĩa ký hiệu gen và alen CYP



Hình 5.10. Tỷ lệ giữa các nhóm thuốc chuyển hóa bởi các isoenzym CYP khác nhau

Trong các họ CYP được phân loại, chỉ có 3 họ CYP là CYP1, CYP2, CYP3 đảm nhiệm chuyển hóa phần lớn các thuốc, trong đó chỉ có 6 enzym chịu trách nhiệm hơn 90% quá trình oxy hóa thuốc ở người là 1A2, 3A4, 2C9, 2C19, 2D6 và 2E1 (Hình 5.10). Các isozym CYP khác lại đóng vai trò quan trọng với chuyển hóa một hoặc vài thuốc đặc biệt. Ví dụ, CYP2B6 chịu trách nhiệm xúc tác chuyển hóa methadon và một số thuốc kháng retrovirus. Trong số enzym họ CYP, các enzym thực hiện những chức năng nội sinh quan trọng thường có tính bảo thủ cao (ít thay đổi về mặt di truyền). Ngược lại, những enzym tham gia chuyển hóa các chất ngoại sinh (trong đó có enzym chuyển hóa thuốc) thường có tính đa hình cao, trong số đó, những kiểu gen đa hình có ý nghĩa lâm sàng nhiều nhất là các kiểu gen của CYP2D6, CYP2C9 và CYP2C19.

Gen mã hóa CYP2D6, CYP2C9 và CYP2C19 là những gen có tính đa hình cao giữa các quần thể người, dẫn đến sự đa dạng về kiểu hình tương ứng. Đối với các gen mã hóa CYP, các trường hợp đa hình về kiểu gen có thể dẫn tới 4 loại kiểu hình tương ứng:

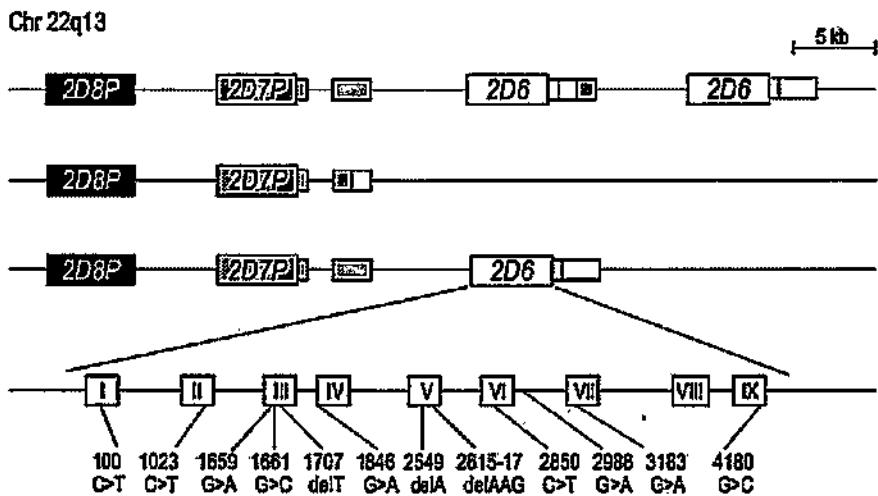
- Kiểu gen bình thường tương đương với kiểu hình enzym chuyển hóa nhanh (extensive metabolizer - EM).
- Kiểu gen đa hình dẫn tới kiểu hình chuyển hóa siêu nhanh (ultra metabolizer - UM).
- Kiểu gen đa hình dẫn tới kiểu hình chuyển hóa chậm (intermediate metabolizer - IM).
- Kiểu gen đa hình dẫn tới kiểu hình chuyển hóa rất chậm hoặc không chuyển hóa (poor metabolizer - PM).

Các trường hợp thay đổi về kiểu hình enzym chuyển hóa thuốc này có thể dẫn đến những khác biệt đáng kể về đáp ứng điều trị, bao gồm những sự thay đổi về hiệu quả điều trị và tác dụng không mong muốn của thuốc.

Dưới đây là một số ví dụ về sự khác biệt kiểu gen mã hóa CYP dẫn đến dao động về đáp ứng điều trị của các thuốc là cơ chất của CYP.

CYP2D6

Gen mã hóa CYP2D6 nằm trên nhiễm sắc thể 22 vùng q13.1. Đây là một trong số những gen mã hóa CYP có tính đa hình di truyền cao nhất với trên 60 biến thể đã được phát hiện. Hầu như tất cả các loại đột biến có thể xảy ra với gen *CYP2D6*, bao gồm các đột biến điểm, đảo đoạn, mất đoạn, lặp đoạn, xóa toàn gen hoặc lặp lại toàn gen, Haplotype... (Hình 5.11). Mỗi loại biến đổi về kiểu gen lại tương ứng với một kiểu hình khác nhau về hoạt tính enzym chuyển hóa (Bảng 5.3).

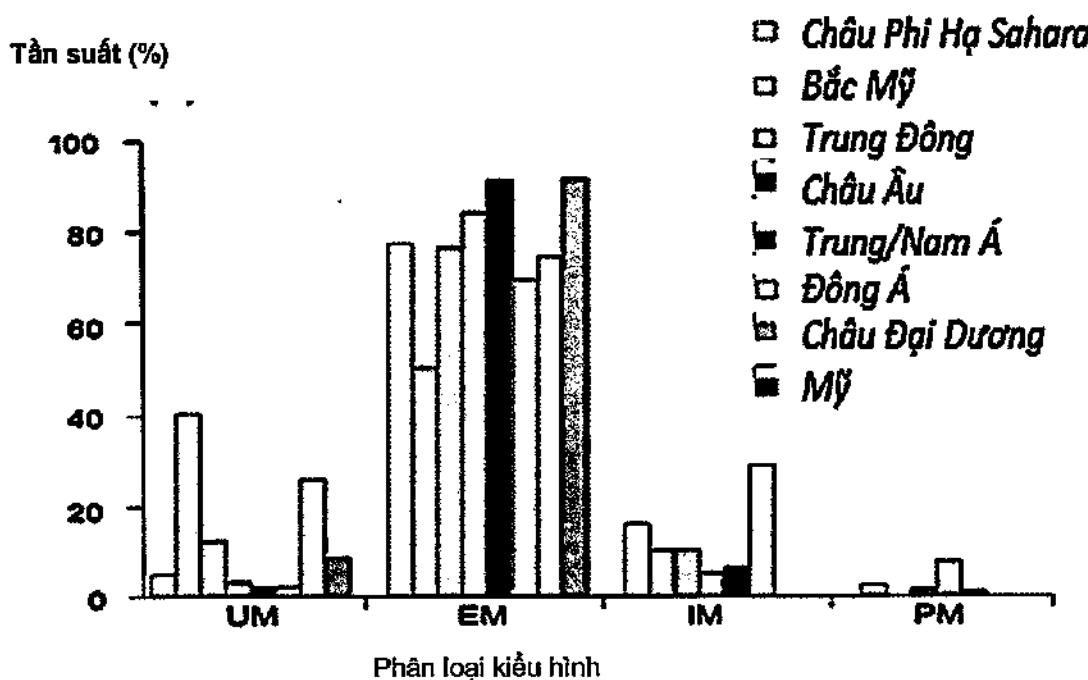


Hình 5.11. Một số loại đa hình xảy ra với gen CYP2D6

Bảng 5.3. Các trường hợp đa hình về kiểu gen và kiểu hình tương ứng của CYP2D6

Alen	Loại đột biến	Hoạt tính CYP2D6	Phân loại kiểu hình
*1		Bình thường	EM
*2	2850C>T, 4180G>C	Bình thường	EM
*3	2549delA	Mất hoạt tính	PM
*4	1846G>A	Mất hoạt tính	PM
*5	Hủy toàn gen	Mất hoạt tính	PM
*6	1707delT	Mất hoạt tính	PM
*9	2615-2617delAAG	Giảm hoạt tính	IM
*10	100C>T	Giảm hoạt tính	IM
*39	1661G>C, 4180G>C	Bình thường	EM
*1xN	Nhân đôi toàn gen	Tăng hoạt tính	UM
*2xN	Nhân đôi toàn gen (+2850C>T, 4180G>C)	Tăng hoạt tính	UM
*4xN	Nhân đôi toàn gen (+1846G>A)	Mất hoạt tính	PM

Tần suất xuất hiện các kiểu gen đa hình của *CYP2D6* rất khác nhau giữa các quần thể khác nhau, do đó dẫn đến sự khác biệt rất lớn về mức độ chuyển hóa của cùng một thuốc là cơ chất của *CYP2D6* giữa các quần thể khác nhau (Hình 5.12). Cùng một thuốc ở quần thể này có thể được chuyển hóa nhanh nhưng ở quần thể khác lại không được chuyển hóa hoặc chuyển hóa chậm. Ví dụ như kiểu gen *CYP2D6*4* tương ứng với kiểu hình enzym không hoạt động (PM) chiếm tới 5 - 10% ở người da trắng châu Âu. Ngược lại, ở châu Á và châu Phi, kiểu gen chiếm đa số lại là kiểu *CYP2D6*10*, *CYP2D6*17* tương ứng với kiểu hình enzym suy giảm hoạt động (IM). Mặt khác, kiểu gen *CYP2D6*1xN* tương ứng với kiểu hình của enzym chuyển hóa siêu nhanh (ultra rapid) lại phổ biến ở Ethiopia (29%) và Tây Ban Nha (10%). Sự thay đổi mức độ và tốc độ chuyển hóa thuốc qua *CYP* sẽ dẫn đến sự thay đổi về nồng độ thuốc trong máu với hậu quả lâm sàng là sự dao động về hiệu quả điều trị cũng như tai biến có thể gặp phải khi dùng thuốc.



Hình 5.12. Sự phân bố các kiểu hình của *CYP2D6* ở các vùng địa lý trên thế giới

(UM: Kiểu hình chuyển hóa siêu nhanh; EM: Kiểu hình chuyển hóa nhanh; IM: Kiểu hình chuyển hóa trung bình; PM: Kiểu hình chuyển hóa chậm)

Bảng 5.4. Một số nhóm thuốc chịu ảnh hưởng của sự đa hình gen CYP2D6

Tên nhóm điều trị	Tên thuốc
Chống loạn nhịp	Encainid Flecainid S-mexiletin Lidocain
Chống loạn thần	Perphenazin Thioridazin Haloperidol Risperidon Venlafaxin Fluvoxamin
Chống trầm cảm	Fluoxetin Amitryptilin Despiramin Clomipramin Imipramin
Giảm đau/ giảm ho	Dextromethorphan Codein Tramadol
Chẹn beta	S-metoprolol Propanolol Tinolol Alprenolol Bufuralol Carvediolol
Các thuốc khác	Debrisoquin Amphetamine Dexfenfluramin Quinoxan Ondansetron

Dưới đây là một số ví dụ về ảnh hưởng của kiểu gen CYP2D6 đến đáp ứng điều trị của một số nhóm thuốc.

CYP2D6 và đáp ứng với codein

Codein là một thuốc giảm đau họ opioid. Thực chất codein là một tiền thuốc, tác dụng giảm đau là nhờ chuyển thành dạng có hoạt tính (morphin) thông qua phản ứng khử o-methyl dưới sự xúc tác của enzym CYP2D6. Chỉ khoảng 5 - 10% codein được chuyển hóa theo con đường này, số còn lại chuyển thành dạng không có hoạt tính đào thải ra ngoài. Tuy nhiên, ở những người mang kiểu gen đa hình CYP2D6 dẫn đến tăng hoạt tính chuyển hóa, lượng codein tạo thành có thể tăng lên đáng kể. Ngược lại, những người có hoạt tính CYP2D6 giảm sẽ có thể không đạt được hiệu quả điều trị với codein do giảm sự tạo thành morphin. Theo khuyến cáo của FDA, trên nhãn thuốc chứa codein phải có khuyến cáo: “đã xảy ra trường hợp tử vong ở người có kiểu hình siêu chuyển hóa CYP2D6 dùng codein. Trẻ em mang kiểu hình này dùng codein sau cắt amidan/ VA có thể bị ức chế hô hấp và thậm chí tử vong”. Ủy ban thực hành gen được trong lâm sàng (CPIC) đã đưa ra khuyến cáo sử dụng codein ở các kiểu hình CYP2D6 khác nhau (Bảng 5.5).

Bảng 5.5. Khuyến cáo sử dụng codein với các kiểu hình CYP2D6 khác nhau

Kiểu hình	Hoạt tính enzym CYP2D6	Kiểu gen	Khuyến cáo dùng codein
UM (1 - 2% bệnh nhân)	Tăng hoạt tính enzym, tăng tạo thành morphin sau khi dùng codein, dẫn đến tăng độc tính	Có nhiều hơn 2 bản copy của alen tương ứng với kiểu hình hoạt tính bình thường *1/*1xN *1/*2xN	Tránh dùng codein Cần chọn một thuốc giảm đau khác không bị ảnh hưởng bởi CYP2D6
EM (77 - 92% bệnh nhân)	Hoạt tính enzym bình thường	2 alen tương ứng với kiểu hình hoạt tính bình thường hoặc 2 alen tương ứng kiểu hình giảm hoạt tính hoặc 1 alen tương ứng với kiểu hình hoạt tính bình thường và 1 alen tương ứng kiểu hình giảm hoạt tính (*1/*1, *1/*2, *2/*2, *1/*41, *1/*4, *2/*5, *1/*10)	Sử dụng theo khuyến cáo trên nhãn thuốc, liều dùng căn cứ theo tuổi/ cân nặng

Kiểu hình	Hoạt tính enzym CYP2D6	Kiểu gen	Khuyến cáo dùng codein
IM (2 - 11% bệnh nhân)	Giảm hoạt tính enzym, giảm tạo thành morphin	1 alen tương ứng kiểu hình giảm hoạt tính và 1 alen tương ứng kiểu hình mất hoạt tính (*4/*10, *5/*41)	Sử dụng theo khuyến cáo trên nhãn thuốc, liều dùng căn cứ theo tuổi/ cân nặng. Nếu không đáp ứng, cần thay thuốc khác không chịu ảnh hưởng của CYP2D6
PM (5 - 10% bệnh nhân)	Hoạt tính thấp hoặc mất hoàn toàn, lượng morphin tạo thành không đủ để cho tác dụng giảm đau	2 alen tương ứng kiểu hình giảm hoạt tính (*4/*4, *4/*5, *5/*5, 4/*6)	Cần thay thuốc khác không chịu ảnh hưởng của CYP2D6

CYP2D6 và đáp ứng điều trị ung thư

Sự đa hình di truyền của gen mã hóa CYP2D6 có ảnh hưởng đáng kể đến sự đáp ứng điều trị với thuốc chữa ung thư. Tamoxifen là thuốc được sử dụng rộng rãi để điều trị ung thư vú thể đáp ứng với receptor của estrogen. Thực chất, tamoxifen là tiền thuốc, dưới tác dụng của CYP2D6, nó được chuyển hóa thành các dược chất endoxifen và 4-hydroxytamoxifen. Những bệnh nhân mang kiểu gen tương ứng với kiểu hình CYP2D6 hoạt động kém có nguy cơ tái phát ung thư vú cao hơn, sớm hơn và tỷ lệ sống sót thấp hơn so với các bệnh nhân có kiểu hình enzym hoạt động bình thường. Ứng dụng của xét nghiệm gen CYP2D6 trong điều trị ung thư vú sẽ được phân tích sâu hơn trong Chương 14.

Việc tầm soát tính đa hình của gen CYP2D6 cũng có ý nghĩa quan trọng đối với việc điều trị triệu chứng buồn nôn, nôn nghiêm trọng ở các bệnh nhân ung thư phải dùng hóa trị liệu. Các thuốc chống nôn thường dùng là các thuốc đối kháng receptor serotonin typ 3 (tropisetron, ondansetron), các thuốc này chuyển hóa chủ yếu qua CYP2D6. Những bệnh nhân có kiểu gen tương ứng với kiểu hình CYP2D6 chuyển hóa siêu nhanh (UM) sẽ phải dùng tăng liều hoặc thay thuốc.

CYP2D6 và đáp ứng với các thuốc hướng thần

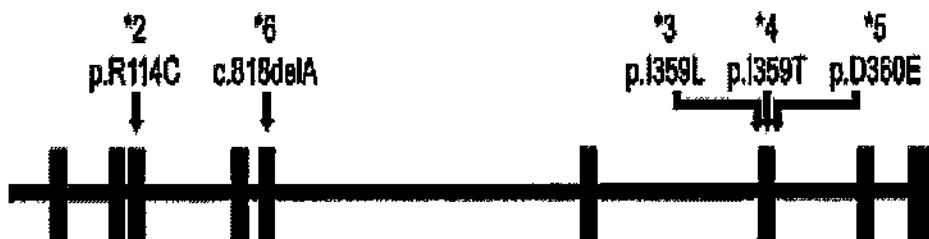
Các bệnh lý về tâm thần, thần kinh như trầm cảm hoặc tâm thần phân liệt là một trong những nguyên nhân hàng đầu gây tử vong hoặc mất khả năng hoạt động. Mặc dù hiện nay đã có nhiều loại thuốc chống trầm cảm và chống loạn thần được đưa ra thị trường, nhưng vẫn còn một tỷ lệ lớn bệnh nhân không đáp ứng tốt với việc điều trị. Người ta đã

xác định được sự đa hình di truyền đóng vai trò quan trọng trong sự dao động về đáp ứng thuốc. Một nghiên cứu phân tích meta (2004) đối với 36 loại thuốc chống trầm cảm và 38 thuốc chống loạn thần thông thường cho thấy hiện tượng đa hình di truyền của *CYP2D6* và *CYP2C19* có ảnh hưởng đến được động học của 1/3 số thuốc nói trên. Các thuốc chống trầm cảm 3 vòng (TCA) đã được sử dụng để điều trị trong vòng hơn 40 năm. Trong số đó, amitriptylin, một trong những dẫn chất kinh điển nhất vẫn đang được dùng rộng rãi với những ưu điểm như: Hiệu quả cao, chi phí điều trị thấp nhưng đồng thời cũng là một thuốc có phạm vi điều trị hẹp, rất dễ xảy ra ngộ độc thuốc khi dùng quá liều với nhiều tác dụng không mong muốn nghiêm trọng. Amitriptylin được chuyển hóa chủ yếu ở gan thông qua phản ứng khử methyl để trở thành dẫn chất có hoạt tính nortriptylin với xúc tác của *CYP2C19* và phản ứng hydroxyl hóa bởi *CYP2D6*. Do đó, sự đa hình của hai CYP này có liên quan chặt chẽ đến nồng độ trong huyết thanh của amitriptylin và nortriptylin, cùng với các tác dụng không mong muốn kèm theo như l้า, ảo giác, rối loạn nhịp tim, thay đổi đường huyết... Trong một nghiên cứu năm 2000 tiến hành trên 100 bệnh nhân tâm thần, kết quả cho thấy, các bệnh nhân có kiểu hình chuyển hóa chậm của *CYP2D6* (IM, PM) có nguy cơ tác dụng không mong muốn cao hơn và thời gian nằm viện lâu hơn, chi phí điều trị cho các bệnh nhân này cũng tăng thêm 4000 - 6000 USD/năm so với người có kiểu hình bình thường. Do đó, năm 2004, hướng dẫn điều chỉnh liều cho một số thuốc chống trầm cảm và chống loạn thần đối với các kiểu gen, kiểu hình *CYP2D6* và *CYP2C19* khác nhau đã được đưa ra lần đầu tiên. Để có thể áp dụng được hướng dẫn điều chỉnh liều này, năm 2005, Roche Diagnostics đã cho ra đời một loại microchip để sàng lọc các đột biến của gen *CYP2D6* và *CYP2C19*.

CYP2C9

CYP2C9 là enzym chuyển hóa của khoảng 100 thuốc đang được dùng phổ biến, tức là khoảng 15% số thuốc thường được bác sĩ kê đơn. Đây cũng là một trong số những CYP có số lượng nhiều nhất ở gan (chiếm 10% tổng số CYP được biểu hiện ở gan). Các thuốc là cơ chất của *CYP2C9* bao gồm các thuốc chống viêm, chống co giật, chống đông, các thuốc điều trị đái tháo đường dùng đường uống...

CYP2C9 (10q24)



Hình 5.13. Một số SNP thường gặp ở gen *CYP2C9*

Bảng 5.6. Sự phân bố 2 alen biến thể của gen CYP2C9 ở một số chủng tộc

Alen	CYP2C9*2	CYP2C9*3
Người Mỹ Phi	2,9%	0,8%
Người châu Âu	10,7%	8,5%
Người châu Á	0%	1 - 2%
Người Kinh Việt Nam	0%	3,5%

Gen mã hóa CYP2C9 nằm trên nhiễm sắc thể số 10, vùng q24. Gen này có thể xảy ra một số SNP (Hình 5.13), trong đó được quan tâm nhiều nhất là 2 alen đa hình CYP2C9*2 ($430C>T$), CYP2C9*3 ($1075A>C$) tương ứng với kiểu hình giảm hoặc mất hoạt tính của enzym chuyển hóa thuốc (IM/PM). Hai alen này làm ảnh hưởng đáng kể đến đáp ứng điều trị với các thuốc là cơ chất của CYP2C9, đặc biệt là các thuốc chống đông và thuốc hướng thần.

CYP2C9 và đáp ứng với thuốc chống đông

Trong số các thuốc chống đông đang được sử dụng hiện nay, warfarin là thuốc được dùng rộng rãi nhất và cũng được nghiên cứu sâu nhất về ảnh hưởng của kiểu gen tới đáp ứng thuốc. Warfarin là hỗn hợp của hai đồng phân racemic R và S, trong đó, đồng phân S có hiệu quả chống đông tốt hơn hẳn và được chuyển hóa bởi CYP2C9. Cả hai alen đa hình thường gặp của CYP2C9 dẫn đến giảm hoạt động enzym là CYP2C9*2 và CYP2C9*3 đều làm thay đổi chuyển hóa của S-warfarin, dẫn đến làm giảm liều dùng cần thiết của thuốc và tăng nguy cơ quá liều, dẫn đến các tai biến xuất huyết. Trong thực tế, sự đa dạng kiểu gen CYP2C9 là nguyên nhân của 14% các trường hợp dao động đáp ứng điều trị với warfarin. Tùy từng kiểu gen cụ thể của CYP2C9, warfarin có một liều dùng thích hợp (Bảng 5.7). Nếu không có sự điều chỉnh liều hợp lý, có thể gây ra những hậu quả nghiêm trọng từ sự quá liều warfarin.

Bảng 5.7. Liều dùng warfarin tương ứng với từng kiểu gen của CYP2C9

Kiểu gen CYP2C9	Liều warfarin thích hợp (mg/ngày)
*1/*1	5 - 7
*1/*2	5 - 7
*1/*3	3 - 4
*2/*2	3 - 4
*2/*3	3 - 4
*3/*3	0,5 - 2

CYP2C19

CYP2C19 tham gia vào chuyển hóa của nhiều nhóm thuốc quan trọng như thuốc chống trầm cảm, thuốc ức chế bơm proton và thuốc chống kết tập tiểu cầu.

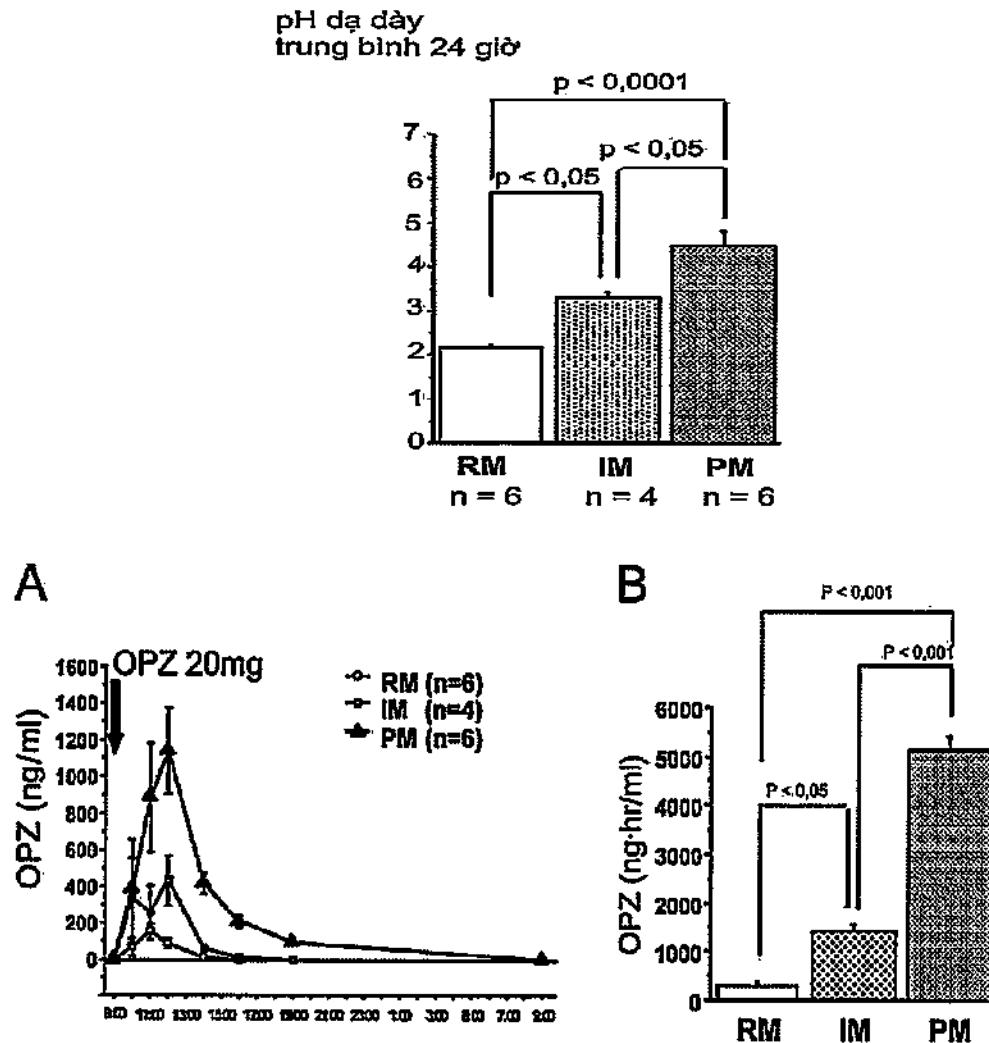
Gen *CYP2C19* nằm trên nhiễm sắc thể số 10, vùng 10q23.33. Hầu hết các trường hợp đa hình xảy ra với gen này đều làm giảm hoặc mất hoạt tính của enzym chuyển hóa, chỉ có alen *CYP2C19*17* làm tăng hoạt tính (Bảng 5.8).

Bảng 5.8. Một số alen đa hình thường gặp của gen CYP2C19

Alen	Phân bố ở các chủng tộc	Loại biến thể	Vị trí	Phân loại kiều hình
<i>CYP2C19*1</i>	Thường gặp ở các chủng tộc	Wild-type; 50,720bp	10q24.1-3	EM
<i>CYP2C19*2</i>	2 - 5% người châu Âu; 18 - 23% người Nhật; 20,5% người Kinh Việt Nam	40bp deletion (681G→A)	Exon 5	PM
<i>CYP2C19*3</i>	13% đảo Vanuatu; 2,5% người Kinh Việt Nam	W212X(636G→A)	Exon 4	PM
<i>CYP2C19*4</i>	0,6 - 3% người châu Âu	M1V (đột biến ở mã khởi đầu) A→G	Initiation codon	PM
<i>CYP2C19*5</i>	Hiếm gặp ở người Nhật và Trung Quốc	R433W (1297C→T)	Exon 9	PM
<i>CYP2C19*17</i>	18% người Ethiopia và Thụy Sĩ 1,3% người Nhật, 0,64% người Trung Quốc. 1% ở người Kinh Việt Nam	C806T (3402C→T)	5'-flanking region	UM

Đối với những người mang kiều hình giảm hoặc mất hoạt tính enzym CYP2C19, sau khi uống omeprazol liều 20 mg, nồng độ thuốc trong huyết tương, AUC đều cao hơn so với người mang kiều hình EM, trong khi đó, pH dịch vị dạ dày cao hơn rõ rệt (Hình

5.14). Điều đó đồng nghĩa với hiệu quả điều trị bằng omeprazol tăng lên ở những người có kiểu hình PM/IM. Ngược lại, với người mang kiểu gen *CYP2C19*17* làm tăng hoạt tính chuyển hóa, hiệu quả điều trị giảm rõ rệt. Do vậy, Hiệp hội Gen dược Hoàng gia Hà Lan đã đưa ra khuyến cáo: Với những người mang kiểu gen đồng hợp tử *17/*17, cần tăng liều omeprazol lên gấp đôi.



Hình 5.14. Sự thay đổi được động học và được động học của omeprazol giữa các kiểu hình khác nhau của *CYP2C19*

2.2.2. Các enzym chuyển hóa thuốc pha I ngoài họ CYP450

Bên cạnh các enzym họ CYP, các phản ứng chuyển hóa thuốc pha I còn có thể được xúc tác bởi một số enzym khác. Trong số đó, nhiều enzym cũng xảy ra các hiện tượng đa hình tương tự như các enzym CYP, dẫn đến thay đổi mức độ chuyển hóa của thuốc, làm tăng hoặc giảm tác dụng/ độc tính của thuốc.

Một trường hợp kinh điển đã được biết đến từ những năm 50 - 60 của thế kỷ trước là pseudocholinesterase (còn có tên gọi khác là butyrylcholinesterase - BCHE). Đây là enzym xúc tác phản ứng thủy phân liên kết este của nhiều thuốc, đặc biệt là succinylcholin, một thuốc giãn cơ có tác dụng nhanh. Succinylcholin thường được dùng trước phẫu thuật với mục đích giãn cơ. Tác dụng liệt cơ, giãn cơ (bao gồm cả cơ trơn đường hô hấp) xuất hiện rất nhanh và kéo dài chỉ trong vòng 5 phút. Đối với những người bị giảm hoặc mất hoạt tính enzym BCHE, thuốc không được chuyển hóa để thải trừ, dẫn đến tác dụng giãn cơ kéo dài hàng giờ. Điều này đặc biệt nguy hiểm nếu tình trạng bệnh nhân không được nhận biết sớm để hỗ trợ kịp thời bằng thở máy, bệnh nhân có thể bị liệt hô hấp, ngừng thở và tử vong. Một trong những nguyên nhân quan trọng nhất của hiện tượng giảm/ mất tác dụng của BCHE là do biến đổi gen mã hóa enzym này. Gen mã hóa BCHE nằm trên nhiễm sắc thể số 3, thường tồn tại ở dạng đồng hợp tử bình thường (96%), 4% kiều gen mang ít nhất 1 alen bất thường.

Những dạng bất thường về gen BCHE bao gồm:

- Đột biến dẫn đến giảm nồng độ enzym trong huyết tương nhưng hoạt tính enzym không thay đổi. Loại đột biến này thường là đột biến điểm: Thay thế Asp70 bằng Gly (dạng kháng dibucain không điển hình - Ea) hoặc thay thế Thr243 bằng Met, Gly390 bằng Val (dạng kháng fluorid - Ef).

EDDLIIATKNGKVGMNLTVPGGTVAELGIPTAOPPLQLRLFKKPQSLTKNSDINNATKYANSOCQNIDQSPPGFHGSEMMNNPNVILNVW
BChe33C BChe37S BChe70G

TDLSEDCLIPAPPKPKNATVLIHTYGGGFQTGTSLLHIVYDGKFLARVERVIVVSNVRYVGALOFIALPGNPEAPGNMGLFDQQLALQVNQK
BChe125P BChe142H BChe170E

NIAAFGGNPKSVTLFGE2AGAAASVSLHLL9PGSHSLFTRAILQSGSPNAPNAVTSLYEARNRTELNLAKLTGCSRNEETIINKLRNKDPQ
BChe198G BChe301T BChe241M

BILINRAFPVVPYGTPLSYNFGPTVDQGDPLTDMPDILLELGQFRKTQILVGVNKDEGTAPLVLVYGA PGFSKINNSITRKEPQEGLKIPFFGV

SEFGKESILPFTDNDQRPENYREALGUVVGYDNFICPALEPTKKPSEWGNNAFFYYPEHRSKILPWPENMGVMGYYEIEFVPGPLER
BChe365R BChe390V

RDNHYTNAEERILSRSTIVKRNANPARYGPNENETOANISTSWFVKSTEQKYLTLNTTESTRIMTKLLRAQQCRFWTSPPPKVLEMTGNIDEAEW
BChe471B BChe497V BChe516L BChe539T

ENKAGFHRKDNVYMDMKKNQFNHDYTSKKKESCVGL

Hình 5.15. Trình tự acid amin của BCHE

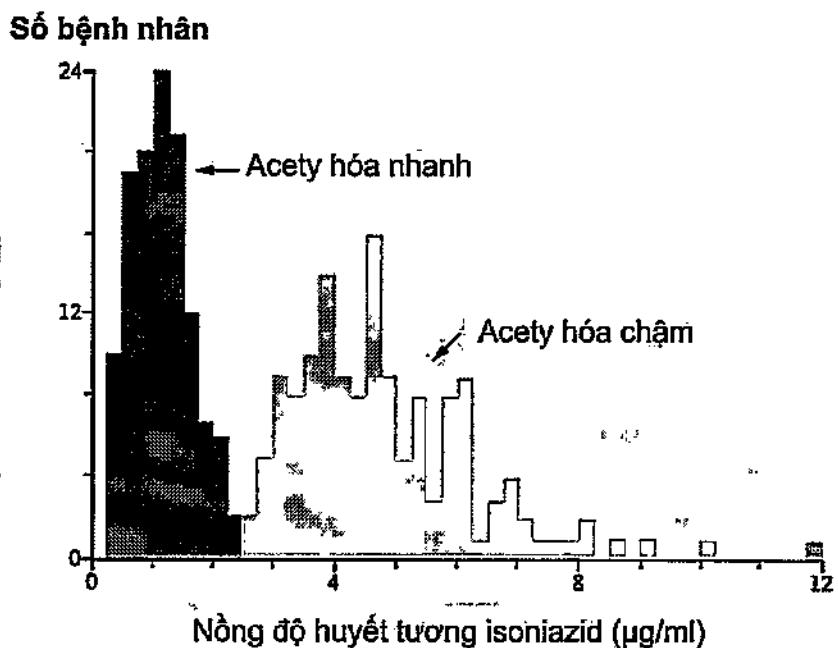
*Những vị trí xảy ra đột biến tương ứng với các alen bất thường được in đậm,
(*) là những vị trí xúc tác quan trọng của enzym*

- Đột biến làm mất hoạt tính enzym. Loại đột biến này làm hoạt tính enzym chỉ còn khoảng 1 - 10% so với bình thường, xuất hiện với tần suất khoảng 1/100.000 (cá biệt có thể lên đến 1 - 2% ở người Eskimo). Người ta đã phát hiện ra 12 alen bất thường của gen BCHE loại này. Các bất thường này có thể bao gồm các đột biến điểm hoặc đột biến mất đoạn, dẫn đến làm thay đổi cấu trúc và chức năng của protein enzym tương ứng.

2.3. Ảnh hưởng của kiểu gen lên chuyển hóa thuốc ở pha II

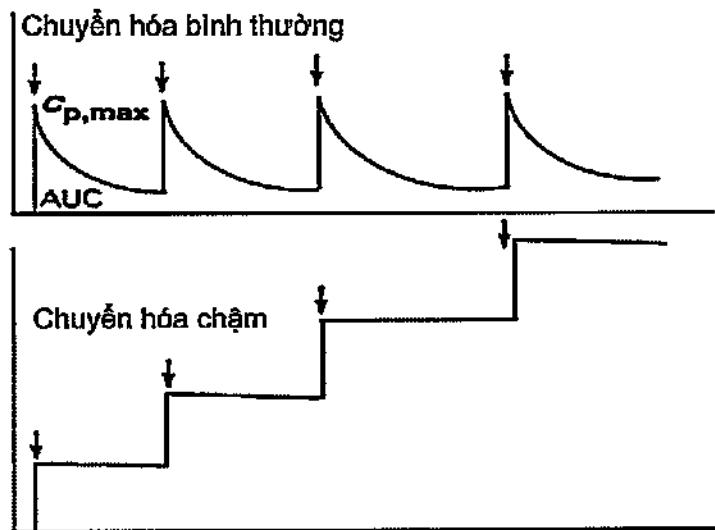
Hiện tượng đa hình di truyền cũng xuất hiện đối với các enzym xúc tác phản ứng chuyển hóa thuốc ở pha II. Các enzym này được coi là các enzym giải độc của cơ thể, do đó, những kiểu gen liên quan đến sự giảm hoặc mất tác dụng của các enzym này có thể là nguyên nhân gây ra các trường hợp ngộ độc thuốc hoặc các tai biến nghiêm trọng trong điều trị.

Một trong những ví dụ kinh điển minh họa cho sự đa hình di truyền của các enzym chuyển hóa thuốc pha II là N-acetyl transferase (NAT). NAT là enzym xúc tác phản ứng acetyl hóa tại nguyên tử N (N-acetylation) của các hợp chất có nhóm amin như các amin dị vòng, amin vòng thơm, trong số đó có nhiều thuốc như INH (isoniazid), sulfonamid, procainamid, hydralazin... Sự đa hình của gen NAT được phát hiện lần đầu tiên khi theo dõi mức độ đáp ứng của bệnh nhân với INH (Hình 5.16). Bệnh nhân có nồng độ INH cao trong huyết tương liên quan đến kiểu hình chuyển hóa chậm của NAT dễ bị nguy cơ tồn thương thần kinh ngoại vi trong khi kiểu hình chuyển hóa nhanh không xuất hiện tai biến này. Kiểu hình NAT chuyển hóa chậm còn có nguy cơ ngộ độc thuốc khi dùng sulfonamid và lupus ban đỏ khi dùng procainamid. Tỷ lệ người mang NAT chuyển hóa chậm khá cao giữa các quần thể: 40 - 70% người da trắng và người Mỹ gốc Phi, 10 - 20% người Nhật và Eskimo, hơn 80% người Ai Cập.



Hình 5.16. Các kiểu hình của NAT2 liên quan đến nồng độ INH huyết tương trong một nghiên cứu trên 267 bệnh nhân

Nồng độ thuốc trong huyết tương

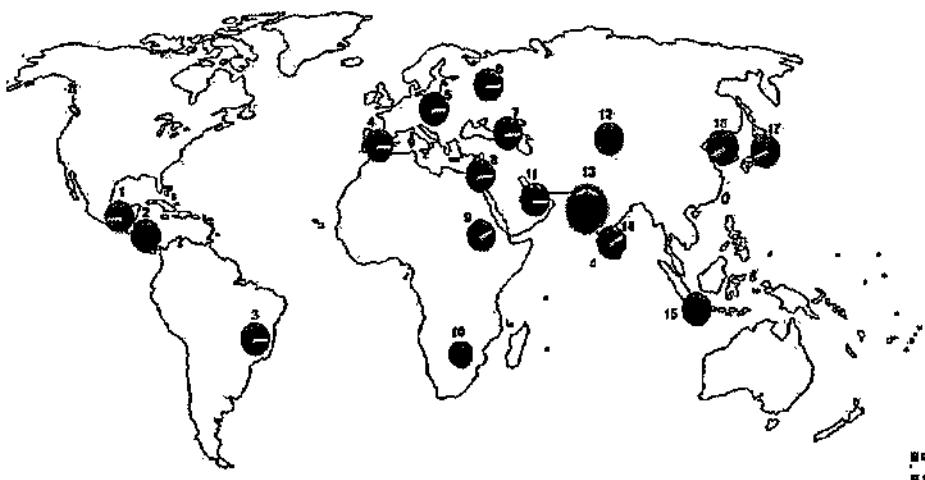


Thời gian (mũi tên chỉ các liều lặp lại)

Hình 5.17. Ánh hưởng của kiểu gen NAT chuyển hóa chậm
tới được động học của INH

Ở người, NAT có 18 isozym, trong đó có 2 isozym liên quan nhiều đến đáp ứng của thuốc là NAT1 và NAT2, hai loại arylamin N-acetyl transferase. Gen mã hóa NAT1 và NAT2 nằm ở hai vị trí gần nhau trên NST số 8. Cho đến nay, người ta đã phát hiện ra 25 alen NAT1 và 27 alen NAT2 ở người. Tuy nhiên, phần lớn những trường hợp đa hình của NAT liên quan đến thay đổi đáp ứng thuốc có nguyên nhân từ các alen NAT2. Các alen bất thường của NAT2 thường do đột biến điểm và thường tập hợp thành Haplotype. Ví dụ như: Haplotype NAT2*5 có sự khác biệt ở ba vị trí nucleotid 341, 481, 803; NAT2*6 khác biệt ở hai vị trí 282 và 590. Hai alen bất thường này chiếm 72 - 75% tổng số biến thể của NAT2. Việc xét nghiệm kiểu gen NAT2 có thể sẽ trở thành công cụ hỗ trợ để tăng cường hiệu quả và độ an toàn khi điều trị bằng isoniazid và các thuốc chuyển hóa qua NAT khác.

Gần đây, việc nghiên cứu các biến thể của NAT2 còn được chú ý bởi sự liên quan giữa các biến thể này với nguy cơ ung thư. Giả thuyết được đưa ra là sự chuyển hóa chậm qua NAT làm tăng thời gian tồn tại trong cơ thể của các yếu tố gây ung thư như hóa chất, thuốc, các chất chuyển hóa... Ngoài ra, đột biến gen NAT2 được phát hiện liên quan tới vô sinh nam nguyên phát.



Hình 5.18. Sự phân bố kiểu hình của NAT2 ở một số quần thể trên thế giới

1. Nicaragua; 2. Nigawbe; 3. Rio de Janeiro; 4. Tây Ban Nha; 5. Đức; 6. Nga;
7. Da trắng châu Âu; 8. Thổ Nhĩ Kỳ; 9. Sudan; 10. Tswana; 11. Oman;
12. Kyrgyzstan; 13. Ấn Độ; 14. Nam Ấn Độ; 15. Indonesia;
16. Hàn Quốc; 17. Nhật

Bên cạnh NAT, hiện tượng đa hình di truyền còn được ghi nhận với một số enzym chuyển hóa pha II khác (Bảng 5.9).

Bảng 5.9. Một số enzym chuyển hóa ở pha II có hiện tượng đa hình di truyền

Enzym	Cơ chất	Tác động
Glutathion transferase (GSTM1, M3, T1)	Amiochrom, adrenochrom	Chưa biết rõ
Sulfotransferase	Steroid, paracetamol, estrogen, dopamin, adrenalin, naringenin	Chưa biết rõ
Catechol-o-methyltransferase	Estrogen, ascorbic, levodopa	Đáp ứng với levedopa
Thiopurin methyltransferase	Thioguanin, mercaptopurin	Độc tính và tác dụng của thiopurin, nguy cơ ung thư thứ phát
UDP-glucuronosyl transferase	Androgen, morphin, ibuprofen	Chưa biết rõ

KẾT LUẬN

Ảnh hưởng của đa hình gen lên dược động học của thuốc có thể thông qua các quá trình khác nhau bao gồm hấp thu, phân bố, chuyển hóa, thải trừ. Một số alen đa hình CYP450 có tần suất khá cao trong quần thể người Kinh Việt Nam, do đó, mức độ ảnh hưởng đối với đáp ứng với thuốc trên người Việt Nam có thể rất có ý nghĩa lâm sàng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. A. Alhazzania (2015), Pharmacogenetics of ATP binding cassette transporter - MDR1 gene polymorphism (C3435T) and response to antiepileptic drug phenytoin pharmacokinetics in epilepsy, *Journal of the Neurological Sciences* 357 (2015) e142-e160.
2. Brian Thomas Hocum (2016), Cytochrome P-450 gene and drug interaction analysis in patients referred for pharmacogenetic testing, *Am J Health-syst Pharm*, Vol 73 (2). 2016.
3. Gilberto Jaramillo-Rangel (2018), C3435T polymorphism in the MDR1 gene and breast cancer risk in northeastern Mexico, *Int J Clin Exp Pathol*. 2018;11(2):904-909.
4. Ida Aka, Christiana J. Bernal, (2017), Clinical Pharmacogenetics of Cytochrome P450-Associated Drugs in Children, *J Pers Med*. 2017 Dec; 7(4): 14.
5. Karczewski KJ, Daneshjou R, Altman RB (2012) Chapter 7: Pharmacogenomics. *PLoS Comput Biol* 8(12).
6. Kewal Jain. Textbook of Personalized Medicine, *Humana Press*. 2015.
7. Muhammed Akbar Bahar, Pharmacogenetics of drug-drug interaction and drug-drug-gene interaction: a systematic review on CYP2C9, CYP2C19 and CYP2D6, *Pharmacogenomics*. 2017.
8. Shabbir Ahmed, Zhan Zhou, Pharmacogenomics of Drug Metabolizing Enzymes and Transporters: Relevance to Precision Medicine, *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 2016 Oct; 14(5): 298-313.

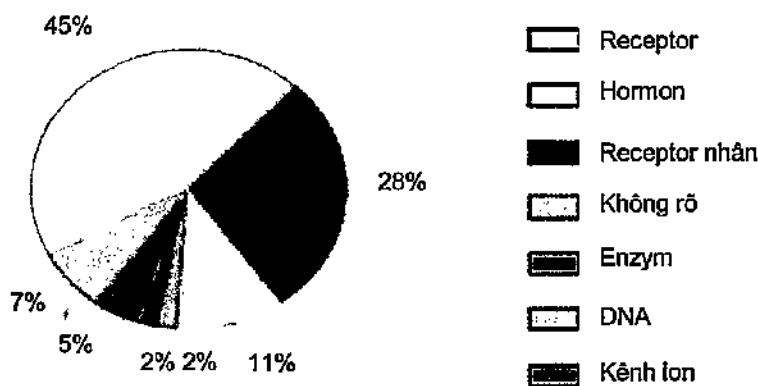
Chương 6

ẢNH HƯỞNG CỦA KIỂU GEN LÊN QUÁ TRÌNH DƯỢC LỰC HỌC CỦA THUỐC

MỤC TIÊU HỌC TẬP

Phân tích được ảnh hưởng của kiểu gen đối với quá trình dược lực học của thuốc thông qua các protein đích.

Quá trình dược lực học là quá trình dược chất tương tác với các đích phân tử, từ đó tạo ra đáp ứng sinh học. Phần lớn các loại đích phân tử quan trọng của thuốc hiện nay đều là protein, trong đó, chiếm tới khoảng 70% là receptor và enzym (Hình 6.1). Sự khác biệt về kiểu gen mã hóa các protein đích, làm thay đổi số lượng, cấu trúc, chức năng các protein này có ảnh hưởng lớn đến đáp ứng điều trị của thuốc, đặc biệt là hiệu quả điều trị.

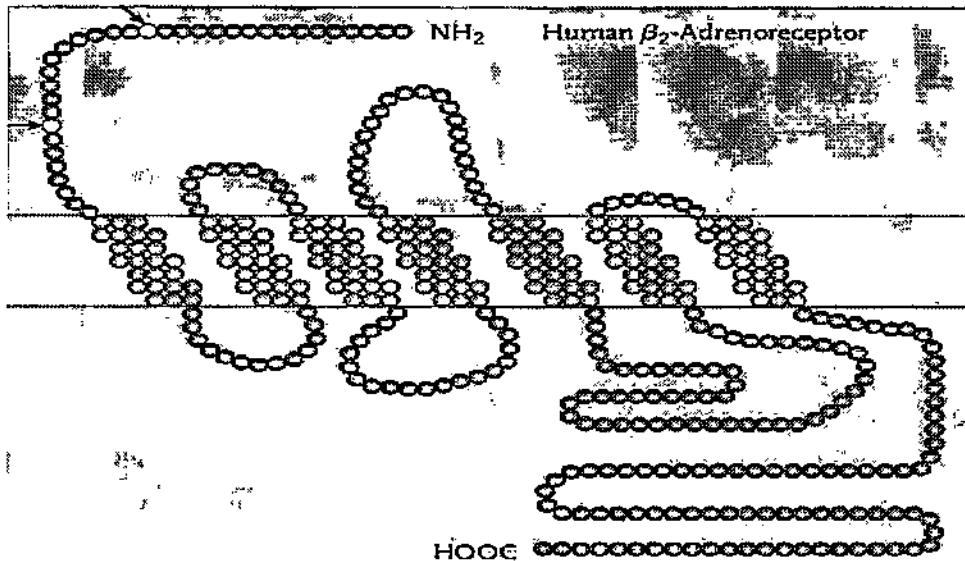


Hình 6.1. Các loại đích phân tử quan trọng nhất của thuốc

1. ẢNH HƯỞNG CỦA KIỂU GEN LÊN ĐÁP ỨNG THUỐC THÔNG QUA RECEPTOR

Một trong những đích phân tử quan trọng của nhiều thuốc là các receptor. Trong số đó, receptor β 2-adrenergic là đích tác dụng của nhiều họ trị liệu khác nhau và là một ví dụ điển hình về sự ảnh hưởng của kiểu gen lên đáp ứng thuốc thông qua đích đặc hiệu. Gen mã hóa receptor β 2-adrenergic (gen β 2-AR) nằm trên NST số 5, vùng q31. Cho đến nay, người ta đã phát hiện được một số đột biến của gen này, trong số đó, thường gặp nhất là các đột biến làm thay đổi mã hóa của acid amin tương ứng ở vị trí số 16 và 27.

Các đột biến này làm giảm khả năng gắn ligand của receptor và có ảnh hưởng đáng kể tới đáp ứng của cơ thể với các thuốc là chất chủ vận trên receptor này.

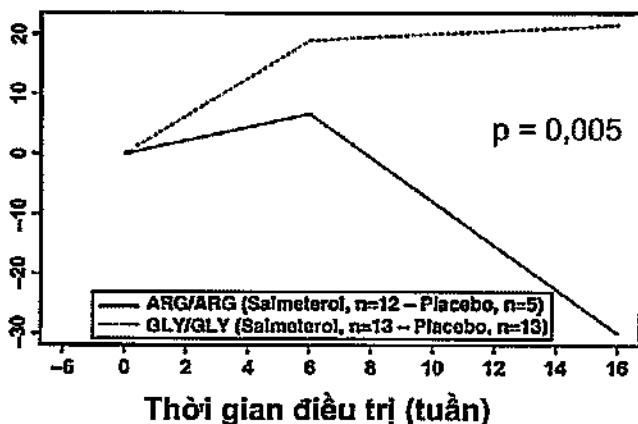


Hình 6.2. Cấu trúc của receptor β_2 -adrenergic

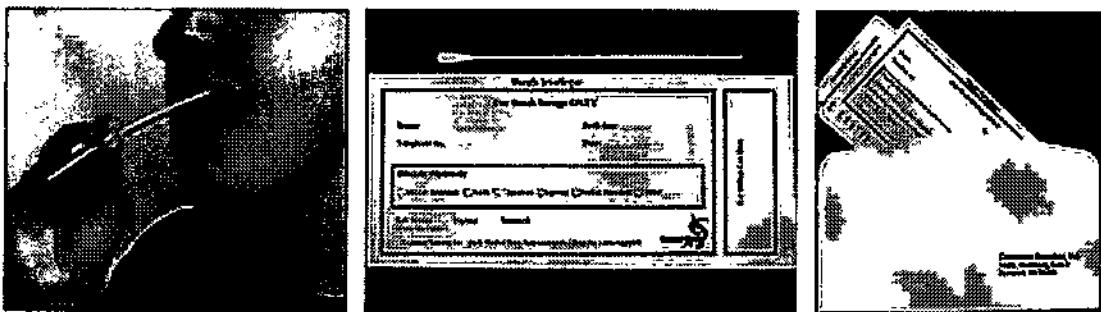
Alen thường gấp là alen tương ứng với Gly ở codon 16 và Glu ở codon 27. Khi xảy ra đột biến, một trong hai vị trí có thể được thay thế bằng Arg16 hoặc Gln27. Một nghiên cứu về hiện tượng “quen thuốc” đối với các thuốc giãn mạch cho thấy những bệnh nhân mang kiểu gen đồng hợp tử với Arg16 hầu như bị “nhờn thuốc” sau khi truyền liên tục isoproterenol, tác dụng giãn mạch, giãn phế quản giảm từ 44% xuống còn 8% sau khi truyền 90 phút. Ngược lại, bệnh nhân mang kiểu gen đồng hợp tử Gly16 không thay đổi gì về mức độ giãn mạch, cho dù acid amin ở vị trí 27 là gì đi chăng nữa. Mặt khác, sự đa hình ở vị trí 27 cũng có những khác biệt chức năng: Những người mang kiểu gen đồng hợp tử Glu27 có đáp ứng giãn mạch với isoproterenol mạnh hơn so với kiểu gen Gln27, cho dù ở vị trí 16 là acid amin nào.

Một nghiên cứu khác về ảnh hưởng của sự đa hình gen mã hóa receptor β_2 -adrenergic được tiến hành trên các bệnh nhân hen phế quản điều trị bằng salmeterol, kết quả cho thấy nhóm bệnh nhân mang kiểu gen đồng hợp tử Gly16 có đáp ứng với salmeterol tốt hơn so với kiểu gen Arg16, thể hiện qua các thông số về lưu lượng thông khí (Hình 6.3), triệu chứng lâm sàng, số lần cần dùng abuterol cấp cứu... Ở Mỹ, 15% số bệnh nhân hen người da trắng và 20% số bệnh nhân hen người Mỹ Phi mang kiểu gen Arg16 và không đáp ứng với các thuốc xịt chữa hen thông thường như salbutamol, salmeterol... Gần đây, một loại xét nghiệm chẩn đoán ADN ra đời, mang tên $\beta16$ AsthmaGEN™ giúp xác định nhanh kiểu gen liên quan với độ chính xác 99%, giúp bác sĩ có những quyết định hợp lý hơn về liệu pháp điều trị hen an toàn và hiệu quả cho từng bệnh nhân (Hình 6.4).

Thay đổi thông khí phế nang (L/phút)



Hình 6.3. Sự khác biệt về đáp ứng điều trị với salmeterol ở hai nhóm bệnh nhân mang kiểu gen Arg16 (—) và Gly16 (---)



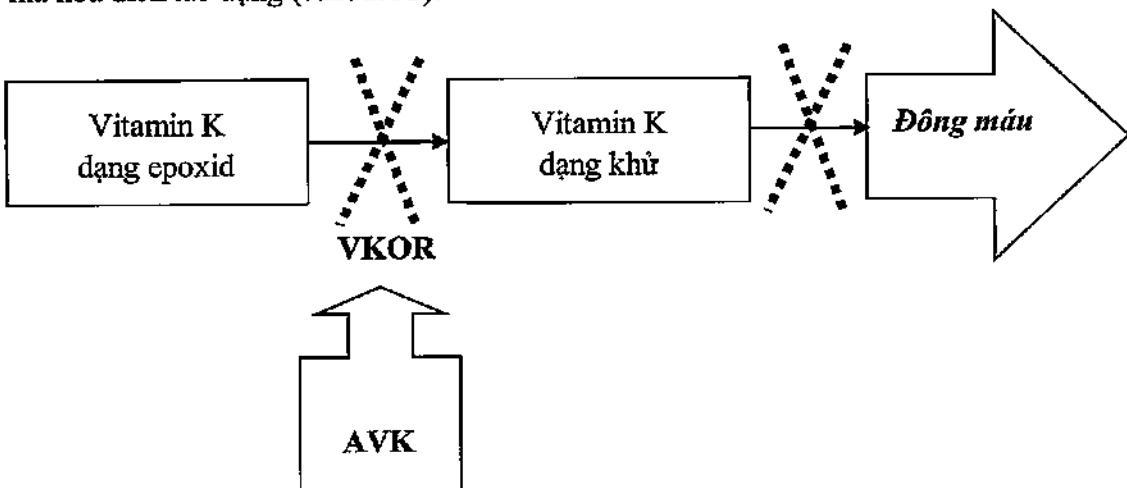
Hình 6.4. Bộ lấy mẫu dùng cho xét nghiệm $\beta16AsthmaGEN^TM$

2. ẢNH HƯỞNG CỦA KIỂU GEN LÊN ĐÁP ỨNG THUỐC THÔNG QUA CÁC ENZYM ĐÍCH

Bên cạnh các receptor, enzym cũng là một đích phân tử quan trọng của nhiều thuốc. Do vậy, những thay đổi về gen mã hóa các enzym đích, làm thay đổi số lượng và/ hoặc hoạt tính enzym có thể dẫn đến những khác biệt về đáp ứng của các thuốc tác dụng lên các enzym đó.

Các thuốc chống đông được sử dụng rộng rãi trong phòng và điều trị các rối loạn do huyết khối như huyết khối tắc tĩnh mạch sâu, nhồi máu cơ tim, đột quy... Các thuốc chống đông điển hình (ví dụ: warfarin, acenocoumarol...) hoạt động như những chất kháng vitamin K thông qua cơ chế ức chế enzym vitamin K epoxide reductase (VKOR) ở ty thể tế bào gan, từ đó, dẫn đến sự cản trở hình thành vitamin K dạng khử, một yếu tố cần thiết cho quá trình đông máu. (Hình 6.5). Mặc dù các nhóm thuốc này có hiệu quả cao nhưng đồng thời có phạm vi điều trị hẹp, do đó, việc lựa chọn liều dùng chống đông máu là rất

phức tạp và thay đổi giữa các quần thể khác nhau. Một trong những nguyên nhân quan trọng dẫn đến sự khác biệt về đáp ứng với các thuốc chống đông là sự đa hình của gen mã hóa đích tác dụng (*VKORC1*).



Hình 6.5. Cơ chế tác dụng của các thuốc chống đông kháng vitamin K (AVK)

Gen *VKORC1* thuộc nhiễm sắc thể 16 vùng p11.2, có nhiều SNP khác nhau. Trong số đó, đáng chú ý nhất và có nhiều ý nghĩa lâm sàng nhất là biến thể *VKORC1* 1639 G>A. Phân bố kiểu gen của gen *VKORC1* ở các khu vực khác nhau thuộc châu Á, thể hiện ở Hình 6.6.



Hình 6.6. Sự phân bố kiểu gen *VKORC1* ở các khu vực khác nhau thuộc châu Á

Màu vàng: kiểu gen wildtype; màu đỏ: kiểu gen biến thể dị hợp tử; màu xanh: kiểu gen biến thể đồng hợp tử

Sự liên quan giữa kiểu gen của *VKORCI* với tác dụng và liều dùng của thuốc chống đông warfarin được thể hiện trong Bảng 6.1. Những trường hợp mang kiểu gen AA nếu không được nhận biết và điều chỉnh liều dùng, có thể dẫn đến tai biến xuất huyết do quá liều warfarin. Ngược lại, kiểu gen GG cần phải được nhận biết để dùng liều cao nhằm đảm bảo hiệu quả điều trị của thuốc.

*Bảng 6.1. Tương quan giữa kiểu gen VKORCI
và liều dùng có hiệu quả của warfarin*

Kiểu gen	Liều warfarin (mg/ngày)
GG (37%)	9,11
AG (47%)	8,04
AA (16%)	1,19

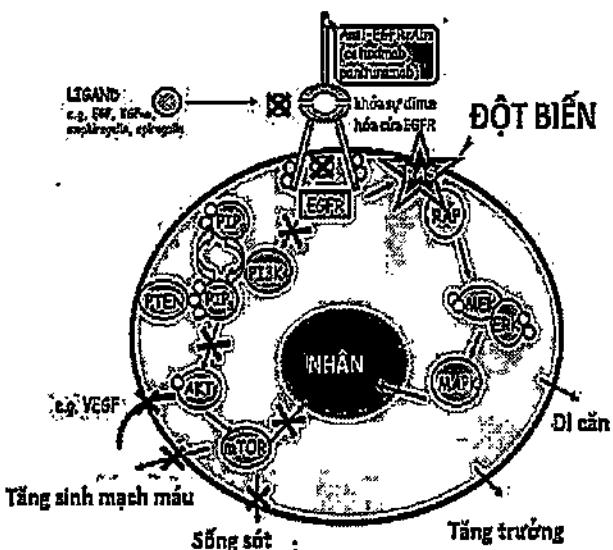
Bên cạnh các ví dụ nêu trên, hiện tượng đa hình di truyền có thể xảy ra với nhiều protein đích khác, làm thay đổi dược động học của thuốc (Bảng 6.2).

*Bảng 6.2. Một số đa hình về gen mã hóa đích tác dụng
làm ảnh hưởng đến đáp ứng thuốc*

Gen/protein	Thuốc bị ảnh hưởng	Đáp ứng thuốc thay đổi do đa hình gen
ACE	Chất ức chế men chuyển ACE (enalapril) Fluvastatin	Tác dụng bảo vệ thận, hạ huyết áp, giảm gánh tâm thất trái, chức năng biểu mô, thay đổi lipid máu, tiến triển/ thoái lui tình trạng xơ vữa động mạch vành
Arachidonate 5-lipoxygenase	Chất ức chế leukotrien	Cải thiện chức năng thông khí
Bradykinin B2 receptor	Albuterol	Ho do thuốc
Dopamin receptor (D2, D3, D4)	Chống loạn thần (haloperidol, clopazin)	Đáp ứng chống loạn thần, rối loạn vận động muộn do thuốc, bồn chồn do thuốc
Estrogen receptor α	Phức hợp estrogen Trị liệu thay thế hormon	Tăng mật độ khoáng hóa xương Tăng HDL

3. ẢNH HƯỞNG CỦA KIỂU GEN LÊN ĐÁP ỨNG THUỐC THÔNG QUA CÁC PROTEIN TRUYỀN TÍN HIỆU

Sự thay đổi về dược lực học của thuốc không chỉ liên quan đến thay đổi phân tử protein đích, mà còn có thể liên quan đến một số protein gián tiếp tham gia vào quá trình truyền tín hiệu để protein đích phát huy tác dụng. Trong hầu hết các tế bào đích, con đường truyền tín hiệu nội bào phải thông qua một loạt protein khác nhau. Ví dụ như KRAS là một protein tham gia vào quá trình truyền tín hiệu xuôi dòng từ thụ thể EGFR. EGFR (epidermal growth factor receptor) là một thụ thể trên màng tế bào, khi gắn với ligand đặc hiệu, sẽ khởi động chuỗi truyền tín hiệu nội bào dẫn đến sự tăng trưởng tế bào. Những đột biến gen *EGFR* dẫn tới sự tăng biểu hiện và tăng hoạt động của thụ thể EGFR chính là một cơ chế bệnh sinh quan trọng dẫn tới tăng sinh tế bào, tạo thành khối u. Do đó, thụ thể EGFR là một protein đích quan trọng trong điều trị ung thư, với nhóm thuốc TKI hoặc các kháng thể đơn dòng kháng EGFR, giúp ức chế chuỗi truyền tín hiệu tăng sinh tế bào. Là một chất truyền tin hạ nguồn của EGFR, KRAS có vai trò quan trọng trong việc khởi phát và tiến triển của một số ung thư như ung thư phổi và ung thư đại trực tràng. Khi đột biến xảy ra *KRAS*, phân tử protein KRAS ở trạng thái hoạt hóa liên tục, dẫn đến hậu quả là các phân tử truyền tin hạ nguồn luôn hoạt động để duy trì tín hiệu tăng sinh tế bào. Đột biến *KRAS* đóng vai trò quan trọng cả trong hình thành ung thư cũng như sự đề kháng với điều trị ung thư (Hình 6.7). Ứng dụng của xét nghiệm gen *EGFR* và *KRAS* trong lâm sàng sẽ được phân tích kỹ hơn ở Chương 14.



Hình 6.7. Cơ chế kháng thuốc kháng thể đơn dòng thông qua đột biến gen KRAS

KẾT LUẬN

Ảnh hưởng của đa hình gen lên dược lực học của thuốc là rất đáng kể, do liên quan đến các protein đích của thuốc như receptor, enzym, các protein truyền tín hiệu... Mức độ ảnh hưởng của đa hình gen rất đa dạng, tùy từng cặp gen - thuốc và nằm trong mối tương tác đa chiều với các yếu tố lâm sàng và cận lâm sàng khác.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Karczewski KJ, Daneshjou R, Altman RB (2012) Chapter 7: Pharmacogenomics. PLoS Comput Biol 8(12): e1002817. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1002817>.
2. Kewal Jain. Textbook of Personalized Medicine, *Humana Press*. 2015.
3. Munir Pirmohamed, Pharmacogenomics: current status and future perspectives, *Nature Reviews Genetics*. 2023.

Chương 7

ẢNH HƯỞNG CỦA KIỂU GEN LÊN CÁC YẾU TỐ GIÁN TIẾP LIÊN QUAN ĐẾN ĐÁP ỨNG THUỐC

MỤC TIÊU HỌC TẬP

Phân tích được ảnh hưởng của kiểu gen lên các yếu tố gián tiếp ảnh hưởng đến sự đáp ứng với thuốc.

Không chỉ các protein tham gia vào quá trình được động học hay được lực học của thuốc mới ảnh hưởng đến đáp ứng điều trị, có một số yếu tố tuy liên quan gián tiếp đến số phận của thuốc trong cơ thể nhưng có thể ảnh hưởng rất lớn tới hiệu quả điều trị và/hoặc tác dụng không mong muốn. Vì vậy, hiện tượng đa hình các gen mã hóa cho những yếu tố này có thể dẫn tới sự khác biệt rất lớn về đáp ứng với thuốc.

1. ĐA HÌNH CỦA GEN APOE LIÊN QUAN ĐẾN ĐÁP ỨNG THUỐC

Một số protein tuy không trực tiếp là các đích tác dụng của thuốc, cũng không trực tiếp tham gia quyết định số phận của thuốc trong cơ thể nhưng có thể ảnh hưởng đến đáp ứng điều trị trong một số trường hợp nhất định.

Đối với bệnh Alzheimer's, tính đa hình của gen *APOE*, gen mã hóa apolipoprotein E có vai trò quan trọng trong việc dự đoán đáp ứng điều trị cho bệnh Alzheimer's. Apolipoprotein E là thành phần quan trọng tham gia cấu tạo của các loại lipoprotein giàu triglycerid như chylomicron, VLDL hay IDL. Sự liên quan của *APOE* với bệnh Alzheimer's vẫn chưa hoàn toàn sáng tỏ, tuy nhiên một số giả thuyết cho rằng protein này có vai trò quan trọng trong sự tạo thành vỏ não.

Gen *APOE* ở người thuộc nhiễm sắc thể 19q 13.2 có một số trường hợp đa hình ở hai nucleotid, làm thay đổi thành phần acid amin trong protein tương ứng (apoliprotein E). Alen thường gặp là *APOE3*, ngoài ra có thể xuất hiện alen *APOE2* hoặc *APOE4*. *APOE2* dẫn đến sự thay đổi mắt xích Cys158 bằng Arg của phân tử protein tương ứng. *APOE4* dẫn đến sự thay đổi mắt xích Cys112 và Cys158 bằng Arg (Bảng 7.1). Các thử nghiệm lâm sàng cho thấy, 83% bệnh nhân không mang *APOE4* có đáp ứng tốt với thuốc điều trị Alzheimer là tacrin, trong khi đó nhóm mang ít nhất 1 alen *APOE4* chỉ đáp ứng với thuốc ở 40% bệnh nhân.

Bảng 7.1. Tần suất xuất hiện các alen của APOE

Alen	APOE2 Cys Arg	APOE3 Cys Cys	APOE4 Cys Cys
	112 158	112 158	112 158
APOE2	~1 - 2%	~15%	~1 - 2%
APOE3		~55%	~25%
APOE4			~1 - 2%

Bên cạnh đó, APOE còn có vai trò quan trọng trong đáp ứng điều trị của các thuốc hạ lipid máu. Để làm giảm cholesterol máu, hiện nay nhóm thuốc được dùng phổ biến nhất với hiệu quả cao là nhóm các statin, với cơ chế chủ yếu là ức chế HMG-CoA reductase. Mặc dù vậy, đáp ứng với các statin dao động giữa các cá thể khác nhau, phụ thuộc vào nhiều yếu tố, trong đó có yếu tố di truyền. APOE là thành phần quan trọng cấu tạo nên các loại lipoprotein giàu triglycerid, tính đa hình của gen *APOE* liên quan tới nồng độ lipoprotein trong huyết tương cả khi đói và khi no. Trong các alen của *APOE*, *APOE2* liên quan đến nồng độ cholesterol toàn phần và LDL cholesterol huyết tương thấp, ngược lại *APOE4* liên quan đến nồng độ cholesterol và LDL cao. Cá thể mang *APOE2* đáp ứng tốt hơn với nhóm thuốc statin, cá thể mang *APOE4* đáp ứng tốt hơn với liệu pháp can thiệp bằng chế độ ăn.

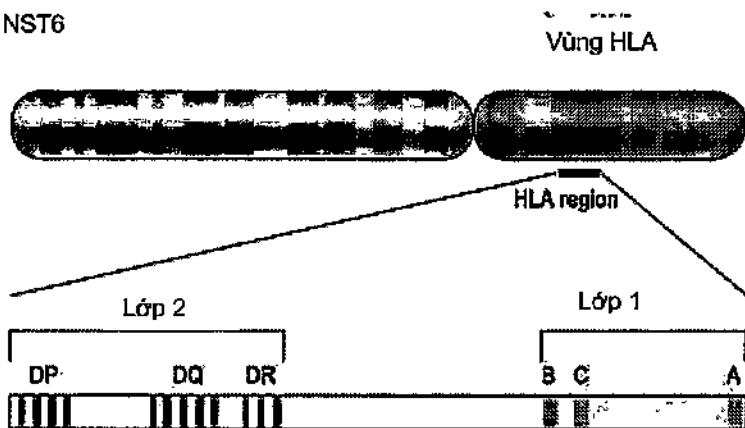


Hình 7.1. Hình ảnh tổn thương do phản ứng thuốc bất lợi trên da nghiêm trọng

2. ĐA HÌNH GEN LIÊN QUAN ĐẾN DỊ ỨNG THUỐC

Điển hình nhất về sự khác biệt di truyền dẫn đến khác biệt rõ rệt về đáp ứng thuốc giữa các cá thể, liên quan tới một protein gián tiếp nhưng rất quan trọng là hiện tượng dị ứng thuốc. Với cùng một thuốc, hiện tượng dị ứng có thể xảy ra chỉ với một số cá thể, và với mức độ rất khác nhau. Trong số các loại dị ứng, các phản ứng thuốc bất lợi trên da nghiêm trọng (Severe Cutaneous Adverse Reactions - SCARs) là một loại phản ứng thuốc hiếm gặp nhưng nguy hiểm, có thể gây ra nhiều tổn thương nghiêm trọng, thậm chí gây tử vong (Hình 7.1). Các kiểu SCARs đáng chú ý nhất là hội chứng Steven-Johnson (SJS), hội chứng hoại tử biểu bì nghiêm độc (TEN), phản ứng thuốc với các biểu hiện toàn thân và tăng bạch cầu ái kiềm (DRESS) hay còn gọi là hội chứng quá mẫn do thuốc (DIHS). Một số nghiên cứu đã cho thấy tỷ lệ tử vong do các hội chứng này lần lượt có thể lên tới 10%, 35% và 20%.

Một trong những cơ chế gây SCAR được thừa nhận rộng rãi là vai trò của gen *HLA* (Human Leukocyte Antigen), một siêu họ gen mã hóa cho phức hợp hòa hợp tổ chức, đóng vai trò quan trọng trong hoạt động của hệ miễn dịch. Gen *HLA* được chia thành 2 lớp (Hình 7.2), trong đó, *HLA* lớp I (gồm 3 typ A, B, C) liên quan nhiều nhất đến các phản ứng thuốc.



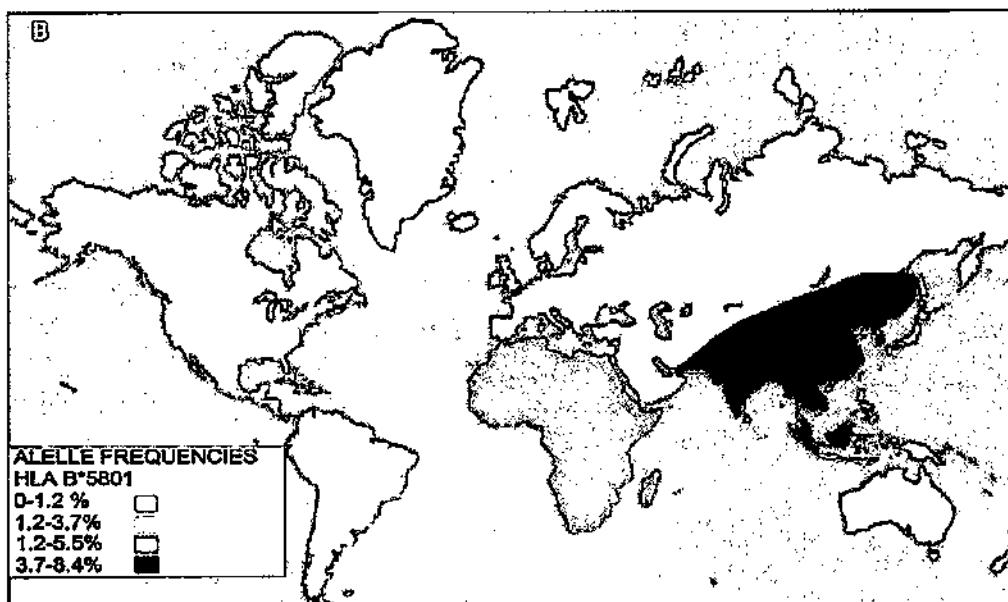
Hình 7.2. Siêu họ gen *HLA*

Nhiều alen biến thể khác nhau của gen *HLA* lớp I đã được phát hiện có liên quan tới tác dụng không mong muốn của nhiều thuốc khác nhau, thậm chí, với cùng 1 thuốc, những người mang alen khác nhau của gen *HLA* sẽ có thể gặp những loại tác dụng không mong muốn khác nhau (Bảng 7.2).

Bảng 7.2. Các alen đa hình của HLA liên quan đến phản ứng thuốc

Thuốc liên quan	Alen HLA	Loại phản ứng thuốc	Chủng tộc
Abacavir	<i>B*5701</i>	Quá mẫn	Da trắng châu Âu Mỹ Phi
Allopurinol	<i>B*5801</i>	SJS/TEN/DRESS	Châu Á
	<i>A*3303</i>	SJS/TEN/DRESS	Châu Âu Hán Hàn Quốc
	<i>C*0302</i>	SJS/TEN/DRESS	Châu Âu Hán Hàn Quốc
Carbamazepin	<i>B*1502</i>	SJS/TEN	Hán Thái Malaysia
	<i>B*1511</i>	SJS/ TEN	Nhật Hàn Quốc
	<i>A*3101</i>	DRESS	Hán Da trắng châu Âu
		SJS/TEN	Châu Âu
Dapson	<i>B*1301</i>	DRESS	Hán
Nevirapin	<i>B*3505</i>	DRESS	Thái
Oxcarbazepin	<i>B*1502</i>	SJS/TEN	Hán (Đài Loan)
Phenytoin	<i>B*1502</i>	SJS/TEN	Hán
Thuốc chống lao	<i>C*040</i>	DRESS	Hàn Quốc
NSAID và các thuốc giảm đau hạ sốt khác	<i>B*4403</i>	SJS/TEN	Ấn độ Nhật
	<i>A*0201</i>	SJS/TEN	Nhật Hàn Quốc
Sulfamethoxazol	<i>B*1502</i> <i>C*0602</i>	SJS/TEN	Thái

Cho đến nay, đã có khoảng 100 thuốc được thống kê là có liên quan đến các phản ứng kiếu SCAR, trong số đó, các thuốc liên quan nhiều nhất bao gồm: Kháng sinh, các thuốc chống co giật, thuốc kháng virus và allopurinol. Allopurinol là một thuốc điều trị tăng acid uric máu phổ biến ở Việt Nam nói riêng và trên thế giới nói chung. Các loại SCAR liên quan đến allopurinol đa phần thường nặng, với tỷ lệ tử vong có thể lên tới 25%. Đây cũng là một thuốc có tỷ lệ gây dị ứng cao ở người Việt Nam. Theo một nghiên cứu của Trung tâm Dị ứng - Miễn dịch lâm sàng, Bệnh viện Bạch Mai, allopurinol là nguyên nhân của 19,6% các trường hợp SJS và TEN điều trị tại trung tâm này. Theo nhiều nghiên cứu trên thế giới, một trong những nguyên nhân gây tăng nguy cơ dị ứng với allopurinol là sự xuất hiện của alen đa hình của gen HLA. Trong số đó, được nghiên cứu đầu tiên và nhiều nhất là alen *HLA-B*5801*, alen được cho là liên quan tới nguy cơ dị ứng kiếu SCARs với allopurinol chủ yếu ở người châu Á. Nghiên cứu đầu tiên của Đài Loan năm 2005 cho thấy 100% (51/51) bệnh nhân SCAR bởi allopurinol mang alen *HLA-B*5801*, trong khi ở nhóm dung nạp tốt chỉ có dưới 15% mang alen này. Mỗi liên quan tương tự cũng được ghi nhận trong các nghiên cứu trên các bệnh nhân người Thái và bệnh nhân người Hán với odd ratio (OR) khoảng 300 - 600. Những nghiên cứu tương tự trên cộng đồng người Nhật Bản, Hàn Quốc hoặc người châu Âu cũng ghi nhận mối liên quan giữa kiếu gen mang alen *HLA-B*5801* với nguy cơ SCAR do allopurinol nhưng OR thấp hơn. Điều đó được lý giải bởi tần suất xuất hiện alen này cao nhất ở các quần thể người ở khu vực Đông Nam Á (Hình 7.3), ví dụ như ở người Đài Loan là 10%, Thái Lan 9,6%, người Hán Trung Quốc 7,3%. Theo một nghiên cứu trên hơn 800 người Kinh Việt Nam, tần suất alen *HLA-B*5801* là 13,5%, cao nhất trong các chủng tộc.



Hình 7.3. Tần suất alen *HLA-B*5801* ở các vùng khác nhau trên thế giới

Từ những bằng chứng về sự liên quan chặt chẽ của alen *HLA-B*5801* với nguy cơ SCAR bởi allopurinol, một vấn đề đặt ra là: Có thể sử dụng xét nghiệm phát hiện alen đa hình này để dự báo và ngăn ngừa nguy cơ SCAR do allopurinol hay không? Nhiều nghiên cứu chi phí/ hiệu quả đã cho thấy những lợi ích vượt trội cả về sức khỏe và kinh tế của việc áp dụng xét nghiệm này đối với bệnh nhân cần điều trị tăng acid uric máu.

Đặc biệt, năm 2015, một nghiên cứu của Đài Loan trên gần 3.000 bệnh nhân được chỉ định allopurinol lần đầu tiên cho thấy, việc xét nghiệm gen *HLA-B*5801* và có những can thiệp cần thiết đã dẫn đến không có trường hợp SCAR nào trong số gần 3.000 bệnh nhân trong nghiên cứu. Năm 2013, Ủy ban Thực hành Gen được trong lâm sàng (CPIC) đã đưa ra khuyến cáo bổ sung chống chỉ định dùng allopurinol đối với bệnh nhân mang alen *HLA-B*5801*. Hiện nay, nhiều bệnh viện của Đài Loan, Thái Lan, Singapore... đã áp dụng xét nghiệm gen *HLA* trước khi dùng thuốc để ngăn ngừa nguy cơ dị ứng thuốc.

Bên cạnh alen *HLA-B*5801*, một số alen đa hình khác của gen *HLA* cũng đã được chứng minh có liên quan đến nguy cơ dị ứng với allopurinol. Trong một nghiên cứu trên 25 bệnh nhân SCAR người Hàn Quốc, hai alen *HLA-C*0302* và *HLA-A*3303* xuất hiện với tỷ lệ lần lượt là 92% và 88% ở nhóm bệnh, OR lần lượt là 82,1 và 20,5. Một nghiên cứu khác trên người châu Âu cũng ghi nhận sự khác biệt rõ rệt về tỷ lệ mang alen *HLA-C*0302* và *HLA-A*3303* ở nhóm dị ứng với allopurinol so với nhóm chứng dung nạp tốt. Các nghiên cứu này cho thấy, ngoài *HLA-B*5801*, hai alen *HLA-A*3303* và *HLA-C*0302* cũng có thể là những yếu tố nguy cơ đối với SCAR do allopurinol. Nghiên cứu của chúng tôi trên người Việt Nam cho thấy, hai alen *HLA-B*5801* và *HLA-C*0302* làm tăng cao nguy cơ SJS/TEN ở bệnh nhân dùng allopurinol và hơn nữa, có sự cộng hưởng nguy cơ ở những người mang đồng thời cả hai alen này.

Bên cạnh đó, hiện tượng đa hình gen mã hóa cho một số yếu tố gián tiếp khác làm thay đổi đáp ứng điều trị được trình bày trong Bảng 7.3.

Bảng 7.3. Một số trường hợp đa hình các yếu tố gián tiếp làm thay đổi tác dụng/ độc tính của thuốc

Gen/ protein	Bệnh hoặc đáp ứng thuốc liên quan	Thuốc	Tác động của sự đa hình lên độc tính/ tác dụng
Prothrombin và yếu tố V	Huyết khối tĩnh mạch sâu, huyết khối tĩnh mạch não	Thuốc tránh thai đường uống	Tăng nguy cơ huyết khối tĩnh mạch sâu, huyết khối tĩnh mạch khi uống thuốc tránh thai

Gen/ protein	Bệnh hoặc đáp ứng thuốc liên quan	Thuốc	Tác động của sự đa hình lên độc tính/ tác dụng
CETP	Tiến triển xơ vữa động mạch, nồng độ HDL-cholesterol	Statin	Làm chậm tiến triển xơ vữa động mạch khi dùng pravastatin
Stromelysin-1	Tiến triển xơ vữa động mạch	Statin	Giảm tai biến tim mạch liên quan đến pravastatin
Parkin	Bệnh Parkinson	Levodopa	Rối loạn vận động do L-dopa

KẾT LUẬN

Các yếu tố không tham gia trực tiếp vào quá trình được động học hay được lực học của thuốc thường không được quan tâm nhiều. Tuy nhiên, các yếu tố này có thể ảnh hưởng rất lớn tới đáp ứng thuốc. Mỗi liên quan giữa đa hình các gen họ *HLA* với các loại phản ứng bất lợi trên da nghiêm trọng của thuốc là một ví dụ điển hình và rất cần được lưu ý trong lâm sàng, đặc biệt, khi các đa hình gen này thường xuất hiện với tần suất cao trong các quần thể người châu Á. Một số nước châu Á nói chung và khu vực Đông Nam Á nói riêng đã có nhiều nghiên cứu và ứng dụng trong lĩnh vực này, nhằm sàng lọc bệnh nhân có nguy cơ cao trước khi chỉ định thuốc, giúp giảm thiểu nguy cơ tác dụng không mong muốn khi dùng thuốc.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tassaneeyakul W, Prabmeechai N, Sukasem C (2016), Associations between HLA class I and cytochrome P450 2C9 genetic polymorphisms and phenytoin-related severe cutaneous adverse reactions in a Thai population, *Pharmacogenet Genomics*. 2016 May; 26(5):225-34.
2. Saksit N, Nakkam N, (2017), Comparison between the *HLA-B*58:01* Allele and Single-Nucleotide Polymorphisms in Chromosome 6 for Prediction of Allopurinol-Induced Severe Cutaneous Adverse Reactions, *J Immunol Res*. 2017;2017:2738784. doi: 10.1155/2017/2738784. Epub 2017 Dec 17.

3. Chonlaphat Sukasem, *HLA-B*58:01* for Allopurinol-Induced Cutaneous Adverse Drug Reactions: Implication for Clinical Interpretation in Thailand, *Front. Pharmacol.*, 18 July 2016.
4. Tran Thu Ha Pham, Quang Binh Tran, Chi Hieu Chu, Thi Quynh Nga Do, Hoang Anh Nguyen, Dinh Van Nguyen, and Thanh Huong Phung, Allopurinol-induced severe cutaneous adverse reactions in Vietnamese: the role of *HLA* alleles and other risk factors, *Pharmacogenomics* 2022; 23:5, 303-313.
5. Tran Thu Ha Pham, Quang Binh Tran, Chonlaphat Sukasem, Van Dinh Nguyen, Chi Hieu Chu, Thi Quynh Nga Do, Ngoc Phuong Mai Tran & Thanh Huong Phung (2021), A Novel Allele-Specific PCR Protocol for the Detection of the HLA-C*03:02 Allele, a Pharmacogenetic Marker, in Vietnamese Kinh People, *The Application of Clinical Genetics*, 14:, 27-35, DOI: 10.2147/TACG.S278652,
6. Tran Thu Ha Pham, Quang Binh Tran, Chonlaphat Sukasem, Van Dinh Nguyen, Chi Hieu Chu, Thi Quynh Nga Do, Ngoc Phuong Mai Tran, Hai Ha Nguyen, Thanh Huong Phung, A novel nested allele-specific PCR protocol for the detection of the HLA-A*33:03, a SCAR-associated allele, in Vietnamese people, *Asian Pac J Allergy Immunol* DOI 10.12932/AP-201120-1000.
7. Huong, PT, Ha, TN, Nhu, TTQ, et al, Allopurinol-induced Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: Signal detection and preventability from Vietnam National pharmacovigilance database. *J Clin Pharm Ther.* 2022; 47(12): 2014-2019. doi:10.1111/jcpt.13740.

Chương 8

ẢNH HƯỞNG CỦA KIỂU GEN ĐẾN TƯƠNG TÁC THUỐC

MỤC TIÊU HỌC TẬP

Phân tích được ảnh hưởng của kiểu gen lên tần suất và ý nghĩa lâm sàng của tương tác thuốc khi xảy ra ở các cá thể khác nhau.

Trong những chương trước, chúng ta đã thấy được sự tương tác phức tạp và đa dạng giữa kiểu gen của người bệnh với thuốc, trong nhiều trường hợp gây ra sự dao động lớn về đáp ứng điều trị giữa các cá thể, có một mối quan hệ tương tác phức tạp khác xảy ra khi có hai hay nhiều thuốc được dùng đồng thời. Vậy mối quan hệ 3 chiều thuốc - gen - thuốc sẽ như thế nào? Chương này phân tích sự khác biệt về tần suất và ý nghĩa lâm sàng của tương tác thuốc xảy ra ở những cá thể bệnh nhân mang kiểu gen khác nhau.

1. KHÁI NIỆM TƯƠNG TÁC THUỐC

Tương tác thuốc xảy ra khi hoạt động hoặc tác dụng của một thuốc trong cơ thể bị thay đổi gây bởi sự có mặt của chất hóa học khác như thuốc, thức ăn hay các yếu tố môi trường.

Theo Dược thư Quốc gia Việt Nam, tương tác thuốc là khả năng của một thuốc có thể làm thay đổi cường độ tác dụng được lý của một thuốc khác khi sử dụng đồng thời. Kết quả cuối cùng có thể là một hoặc cả hai thuốc tăng hoặc giảm tác dụng hoặc xuất hiện một tác dụng mới không thấy có khi dùng riêng từng thuốc.

Dựa vào cơ chế gây tương tác, tương tác thuốc được chia thành ba loại chính: Tương tác dược lực học, tương tác dược học và tương tác dược động học. Trong số đó, các tương tác có liên quan đến sự khác biệt về di truyền chủ yếu là tương tác dược động học. Đây là các tương tác gây bởi tác dụng của một thuốc lên các quá trình dược động học của một thuốc khác trong cơ thể. Tương tác theo cơ chế dược động học chủ yếu bao gồm tương tác trong quá trình chuyển hóa thuốc và tương tác trong quá trình vận chuyển thuốc.

Các trường hợp tương tác thuốc có ý nghĩa lâm sàng quan trọng thường xảy ra khi:

- Thuốc có phạm vi điều trị hẹp.
- Có sự phụ thuộc chặt chẽ giữa nồng độ thuốc trong huyết tương với các đặc điểm lâm sàng như hiệu quả điều trị hoặc tác dụng không mong muốn.

- Quá trình vận chuyển hoặc chuyển hóa thuốc xảy ra chủ yếu bởi một con đường chính và con đường này chịu ảnh hưởng của yếu tố di truyền.

Thông thường, các hướng dẫn lâm sàng hiện hành chủ yếu mới quan tâm đến tương tác giữa các thuốc dùng đồng thời với nhau (drug - drug interaction hay DDI). Trong khi đó, yếu tố kiểu gen ảnh hưởng khá nhiều đến tần suất và ý nghĩa lâm sàng của tương tác thuốc, tạo nên một mối tương tác phức tạp giữa thuốc - thuốc - gen (drug - drug - gene interaction hay DDGI). Trong một nghiên cứu trên 23.000 bệnh nhân tại Mỹ đã phát hiện 6.900 tương tác thuốc, bao gồm 53% tương tác DDI, 22% tương tác DDGI, còn lại là tương tác giữa kiểu gen và 1 thuốc.

2. ẢNH HƯỞNG CỦA KIỂU GEN ĐẾN TƯƠNG TÁC TRONG QUÁ TRÌNH CHUYỂN HÓA THUỐC

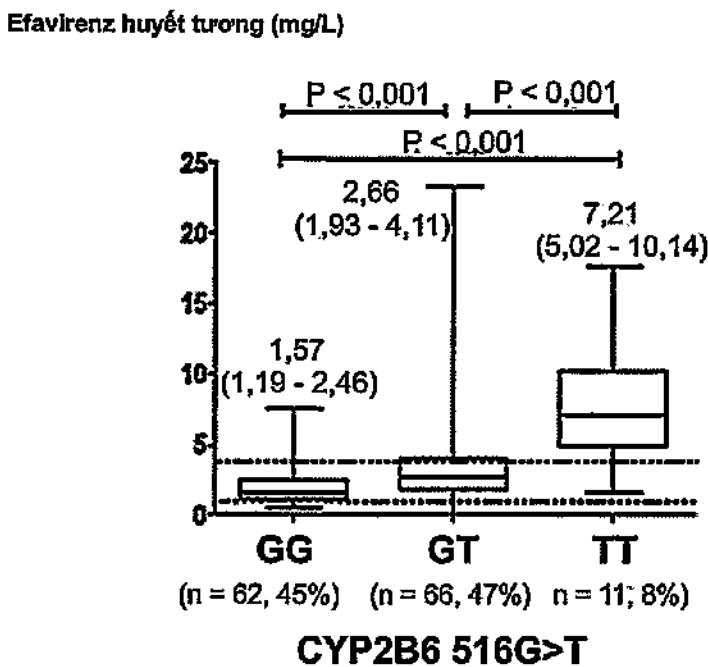
Tương tác được động học dẫn đến thay đổi nồng độ trong máu/ mô của một thuốc hoặc của các dẫn chất chuyển hóa của thuốc đó. Mặc dù các tương tác được động học có thể xảy ra trong quá trình hấp thu hay phân bố, nhưng các tương tác được động học phổ biến và gây nhiều hậu quả lâm sàng nhất là tương tác thuốc xảy ra ở giai đoạn chuyển hóa.

Tương tác thuốc ở giai đoạn chuyển hóa có thể gây ra các biến chứng nguy hiểm và không được mong đợi trong quá trình sử dụng thuốc, đặc biệt thường hay xảy ra với các bệnh nhân nặng phải sử dụng nhiều thuốc và là đối tượng có tính nhạy cảm cao với tương tác thuốc. Ý nghĩa lâm sàng của một tương tác chuyển hóa thuốc phụ thuộc vào mức độ thay đổi nồng độ của dạng hoạt động (chất mẹ và/ hoặc chất chuyển hóa có hoạt tính) tại đích tác dụng và sự thay đổi chỉ số điều trị của thuốc. Sự chênh lệch giữa nồng độ tác dụng và nồng độ gây độc càng nhỏ (thuốc có phạm vi điều trị hẹp) thì khả năng xảy ra các tương tác thuốc nghiêm trọng càng lớn. Khả năng xuất hiện tương tác thuốc và ý nghĩa lâm sàng của tương tác phụ thuộc vào nhiều yếu tố như bản chất của các thuốc dùng đồng thời, liều dùng và đặc tính di truyền của mỗi cá thể bệnh nhân.

Trong giai đoạn chuyển hóa thuốc, các chuyển hóa qua hệ enzym CYP có liên quan nhiều nhất đến tương tác thuốc - thuốc trong lâm sàng bởi đây là họ enzym chuyển hóa nhiều thuốc, các enzym này rất dễ bị cảm ứng hoặc ức chế bởi nhiều tác nhân khác nhau, nhiều cơ chế ức chế khác nhau làm thay đổi hoạt tính của enzym chuyển hóa, từ đó làm thay đổi nồng độ, tác dụng và độc tính của các thuốc. Mặt khác, gen mã hóa cho các CYP thường có tính đa hình cao, do đó, ở các cá thể mang kiểu gen khác nhau, tương tác thuốc - thuốc thông qua CYP450 có thể xảy ra với tần suất và mức độ khác nhau, dẫn đến những đáp ứng thuốc đa dạng trong lâm sàng. Nhìn chung, sự thay đổi nồng độ của một thuốc

do tương tác thuốc trong giai đoạn chuyển hóa thường xảy ra với mức độ rõ rệt hơn ở những người mang kiểu hình chuyển hóa bình thường (EM) của enzym chuyển hóa đó.

CYP2B6 không phải là một CYP chiếm tỷ lệ lớn ở gan nhưng cũng là một CYP được chú ý trong nghiên cứu Gen dược học, bởi đây là enzym chuyển hóa của nhiều thuốc có độc tính cao và phạm vi điều trị hẹp như các thuốc kháng retrovirus, thuốc ung thư, thuốc chống co giật... Gen mã hóa CYP2B6 nằm trên nhiễm sắc thể 19q. Đây là một gen có tính đa hình cao, dẫn đến sự khác biệt lớn giữa các cá thể về số lượng protein biểu hiện và về hoạt tính của protein enzym. Biến thể thường gặp nhất của gen *CYP2B6* là alen *CYP2B6*6* với hai SNP *516G>T* và *785A>G*, xuất hiện với tần suất khoảng 12 - 49% ở các quần thể khác nhau. Người mang biến thể này xuất hiện khiếm khuyết trên mRNA, dẫn đến sự tạo thành phân tử protein giảm hoặc mất hoạt tính. Nói cách khác, hoạt tính enzym CYP2B6 giảm đi ở người mang kiểu gen *CYP2B6*6*, dẫn đến tăng nồng độ trong huyết tương cũng như tăng độc tính của các thuốc chuyển hóa qua CYP2B6, ví dụ như tăng độc tính trên thận của efavirenz và nevirapin ở bệnh nhân HIV. Người mang kiểu gen *CYP2B6*6* đồng hợp tử có kiểu hình PM (chuyển hóa kém), dị hợp tử (*CYP2B6*1/6*) có kiểu hình chuyển hóa trung gian (IM) và kiểu gen *CYP2B6*1/*1* có kiểu hình chuyển hóa bình thường (EM). Những bệnh nhân HIV bị nhiễm lao phải dùng đồng thời efavirenz và rifampicin - một chất cảm ứng CYP2B6, do đó có thể xảy ra tương tác giữa hai thuốc này. Cơ chế gây cảm ứng CYP2B6 là do làm tăng biểu hiện gen, tăng cường tổng hợp các phân tử CYP2B6 trong tế bào, hậu quả là làm tăng chuyển hóa các thuốc, điều này có thể dẫn đến làm giảm nồng độ thuốc trong máu và giảm hiệu quả điều trị của thuốc, nếu không có sự điều chỉnh liều phù hợp. Tuy nhiên, nguy cơ xảy ra tương tác thuốc giữa rifampicin và các cơ chất của CYP2B6 còn tùy thuộc vào kiểu gen của từng bệnh nhân. Một nghiên cứu cho thấy các bệnh nhân mang kiểu gen wild type (*CYP2B6*1/1*) và kiểu gen chứa 1 alen biến thể *516 G>T* (*CYP2B6*1/6*) (tương ứng với kiểu hình EM, IM) đều có nồng độ thuốc trong huyết tương giảm so với bình thường khi dùng đồng thời với rifampicin. Trong khi đó, những người mang kiểu gen *CYP2B6*6/6* (kiểu hình PM) sự thay đổi nồng độ efavirenz do tương tác thuốc rifampicin - efavirenz không quá nhiều (Hình 8.1). Điều đó cho thấy khả năng cảm ứng enzym của rifampicin phụ thuộc vào kiểu gen của từng cá thể, kiểu gen biến thể tương ứng với kiểu hình PM ít chịu ảnh hưởng bởi tương tác rifampicin - efavirenz hơn các kiểu gen khác. Hiện tượng tương tự cũng được ghi nhận khi có sự phối hợp giữa efavirenz và một chất cảm ứng CYP2B6 khác là baicalin, một hoạt chất có nguồn gốc thảo dược.



Hình 8.1. Sự thay đổi nồng độ efavirenz khi dùng đồng thời với rifampicin giữa những người mang kiểu gen CYP2B6 khác nhau

Các trường hợp tương tác thuốc liên quan đến các chất ức chế enzym CYP cũng xảy ra khá phổ biến. Omeprazol là một chất ức chế CYP2C19. Một trong những cơ chất của enzym này là moclobemid, một thuốc chống trầm cảm. Ở những người mang kiểu gen chuyền hóa bình thường - EM (*CYP2C19*1/1*), omeprazol ức chế đáng kể chuyền hóa của moclobemid, làm cho AUC tăng hơn 200%, trong khi ở người có kiểu gen chuyền hóa chậm - PM (*CYP2C19*2/3* và *CYP2C19*2/2*) vốn chiếm 30% số người châu Á, tương tác với omeprazol hầu như không đáng kể.

Qua các ví dụ về hai CYP nói trên, có thể thấy ảnh hưởng của tương tác thuốc - thuốc rất khác nhau giữa những người mang kiểu gen khác nhau. Cho dù ở những người mang kiểu hình chuyền hóa chậm không chịu ảnh hưởng nhiều bởi tương tác thuốc nhưng nồng độ dạng thuốc còn hoạt tính trong máu cũng đều tăng lên ở cả hai trường hợp do tương tác thuốc ở người mang kiểu gen bình thường hay do ảnh hưởng của đa hình gen ở người mang kiểu gen đa hình.

Một số ví dụ khác về tương tác thuốc xảy ra ở những người mang kiểu gen CYP khác nhau được trình bày trong Bảng 8.1.

Bảng 8.1. Ảnh hưởng của đa hình gen CYP đến tương tác thuốc

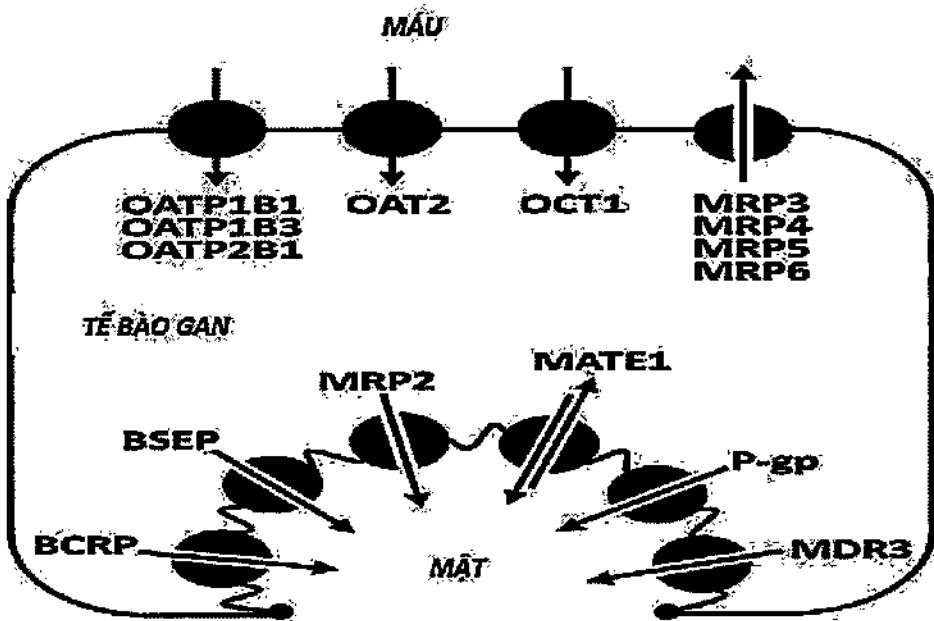
Thuốc ảnh hưởng và có chế ảnh hưởng	Thuốc là chất của CYP	Kiểu gen/ Kiểu hình	Ảnh hưởng của TET đến được động học
Fluconazol 200 mg (ức chế CYP2C9)	Flurbiprofen (50 mg)	<i>CYP2C9*1/*1</i> (wildtype) <i>CYP2C9*1/*3 (IM)</i> <i>CYP2C9*3/*3 (PM)</i>	AUC tăng 102% AUC tăng 79% AUC tăng 41%
Ticlopidin (200 mg) (ức chế CYP2C19)	Omeprazol (20 mg)	<i>CYP2C19*1/*1</i> (wildtype) <i>CYP2C19*1/*2; *1/*3 (IM)</i> <i>CYP2C19*2/*2, *2/*3 (PM)</i>	AUC tăng 522% AUC tăng 401% AUC giảm 2%
Rifampicin (300 mg) Cản ứng CYP2C19	Mephenytoin racemic (100 mg)	<i>CYP2C19*1/*1</i> (wildtype) <i>CYP2C19*1/*2, *1/*3 (IM)</i> <i>CYP2C19*2/*3, *2/*2 (PM)</i>	Thái trừ dạng 4-OH mephenytoin tăng 203,9% Tăng 69,6% Tăng 80,1%
Quinidin (100 mg ngày 2 lần) Ức chế CYP2D6	S-venlafaxin (18,75 mg, ngày 2 lần)	<i>CYP2D6*1/*4, *1/*1 (IM/ wild type)</i> <i>CYP2D6*3/*4, *4/*4 (PM)</i>	AUC tăng 285% AUC tăng 15%
Quinidin (100 mg ngày 2 lần) Ức chế CYP2D6	R-venlafaxin (18,75 mg, ngày 2 lần)	<i>CYP2D6*1/*4, *1/*1 (IM/ wild type)</i> <i>CYP2D6*3/*4, *4/*4 (PM)</i>	AUC tăng 1118% AUC giảm 1%
Paroxetin (20 mg) Ức chế CYP2D6	Desipramin (100 mg)	Wild type PM	Độ thanh thải giảm 78% Độ thanh thải giảm 20%

3. ẢNH HƯỞNG CỦA KIẾU GEN ĐẾN TƯƠNG TÁC TRONG QUÁ TRÌNH VẬN CHUYỂN THUỐC QUA MÀNG SINH HỌC

Như đã trình bày ở trên, một trong những loại protein vận chuyển thuốc được nghiên cứu nhiều nhất và chịu ảnh hưởng nhiều của sự đa hình di truyền là P-glycoprotein (P-gp). Sự đa dạng di truyền của gen mã hóa P-gp (gen *MDR1*) không chỉ ảnh hưởng đến đáp ứng của các thuốc liên quan mà còn có thể đóng vai trò trong sự xuất hiện nguy cơ tương tác thuốc. Trong các biến thể di truyền của gen *MDR1*, biến thể C3435T ở exon 26 có liên quan đến việc làm tăng sinh khả dụng và giảm tốc độ thải trừ qua thận của digoxin đường uống. Việc dùng đồng thời digoxin với clarithromycin, một chất ức chế bom tổng thuốc P-gp về lý thuyết, có thể làm tăng sinh khả dụng của digoxin. Tuy nhiên, hiện tượng tương tác này chỉ thực sự biểu hiện ở những người mang kiểu gen bình thường (3435CC), không xuất hiện ở những người mang kiểu gen CT hoặc TT, tương ứng với kiểu hình ức chế bom P-gp.

Bên cạnh các bom tổng thuốc, các bom đưa thuốc vào tế bào cũng có ảnh hưởng lớn đến số phận của thuốc. Trong số đó, bom OATP1B1 (organic anion transporting peptide 1B1) có chức năng bom thuốc vào bên trong tế bào gan (Hình 8.2). Các thuốc statin hoạt động với cơ chế ức chế enzym tổng hợp cholesterol ở gan, do đó, tác dụng của các thuốc này phụ thuộc rất nhiều vào hoạt động của bom OATP1B1. Trong số hơn 40 biến thể của gen *OATP1B1*, biến thể 521T>C (Val174Ala) làm giảm hoạt động của bom, dẫn đến giảm lượng statin đến tế bào gan để phát huy tác dụng. Mặt khác, có một tương tác thuốc nghiêm trọng liên quan đến các statin là tương tác với gemfibrozil và cyclosporin, hai thuốc này có khả năng ức chế các enzym chuyển hóa statin ở gan và ức chế OATP1B1, hậu quả là làm tăng nồng độ statin trong máu, giảm lượng thuốc ở gan, có nghĩa là giảm tác dụng của thuốc, đồng thời tăng độc tính toàn thân với các tác dụng không mong muốn điển hình là đau cơ, tiêu cơ. Các nghiên cứu cho thấy, tần suất và mức độ nghiêm trọng của tương tác statin - gemfibrozil, cyclosporin là cao nhất ở nhóm người mang kiểu gen wildtype của *OATP1B1*.

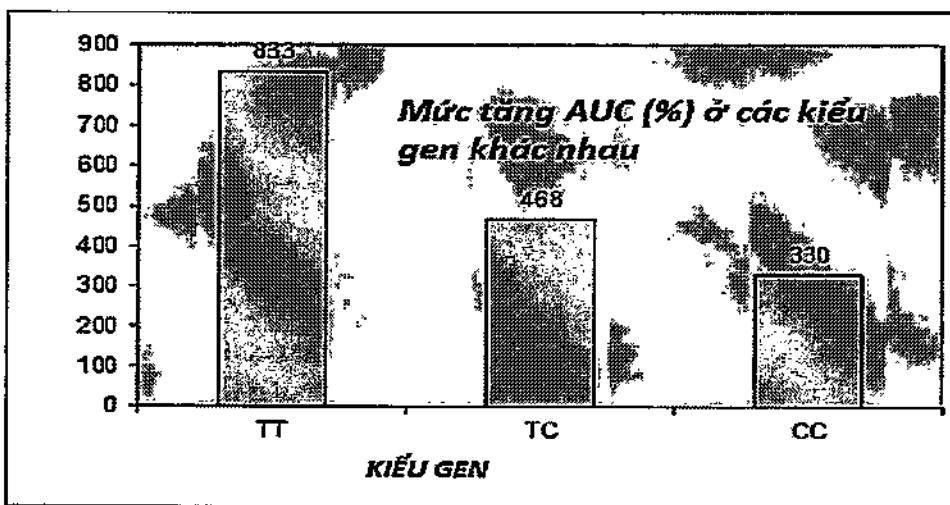
Một chất ức chế biểu hiện gen *OATP1B* khác là rifampicin cũng có thể gây tương tác thuốc với các statin, làm tăng nồng độ statin trong máu, gây phản ứng đau cơ, tiêu cơ vân cắp. Một nghiên cứu cũng cho thấy tương tác này chỉ thực sự có ý nghĩa lâm sàng, làm tăng Cmax của atorvastatin nhiều nhất ở người mang kiểu gen wildtype của gen *OATP1B1*. Người mang ít nhất một alen biến thể (C thay thế cho T, xét tại vị trí 521) mặc dù vẫn có nồng độ atorvastatin cao trong máu do bom *OATP1B1* bị ức chế, nhưng mức tăng không cao bằng so với kiểu gen wildtype. (Bảng 8.2 và Hình 8.2)



Hình 8.2. Các protein vận chuyển thuốc đi vào và đi ra khỏi tế bào gan

Bảng 8.2. So sánh nồng độ Cmax atorvastatin sau khi dùng rifampicin ở những người có kiểu gen OATP1B1 khác nhau (521T>C)

Kiểu gen	Cmax của atorvastatin (ng/ml)		
	TT	TC	CC
Atorvastatin + Placebo	3,4 ± 0,9	5,7 ± 1,6	12,1 ± 8,5
Atorvastatin + Rifampicin	50,5 ± 15,1	42,9 ± 27,4	90,8 ± 31,4
Mức tăng Cmax atorvastatin do tương tác thuốc với rifampicin (%)	1485,3	752,6	750,4



Hình 8.3. So sánh mức tăng AUC của atorvastatin do tương tác thuốc với rifampicin ở những kiểu gen khác nhau

4. ẢNH HƯỞNG CỦA KIẾU GEN ĐẾN TƯƠNG TÁC THUỐC LIÊN QUAN ĐẾN NHIỀU GEN/ PROTEIN KHÁC NHAU

Chỉ riêng tương tác giữa các thuốc dùng đồng thời hoặc tương tác giữa gen với một thuốc đã rất phức tạp và có nhiều kiểu ảnh hưởng đa dạng trên lâm sàng. Trong thực tế, đáp ứng của một thuốc phụ thuộc vào nhiều protein/ gen khác nhau ở nhiều khâu trong quá trình dược động học và dược lực học. Do vậy, khi tương tác thuốc liên quan đến nhiều gen/ protein khác nhau trong cùng một cơ thể càng trở nên phức tạp hơn rất nhiều và hậu quả trong lâm sàng cũng nặng nề hơn. Trường hợp thường gặp là tương tác thuốc xảy ra khi một thuốc là cơ chất của nhiều enzym chuyển hóa khác nhau khi dùng đồng thời với một thuốc ức chế hoặc cảm ứng một trong những enzym chuyển hóa đó, sự thay đổi về một enzym chuyển hóa sẽ dẫn đến sự thay đổi trong chuyển hóa thuốc bởi một hoặc nhiều enzym khác như một hiện tượng bù trừ. Tuy nhiên, sự thay đổi đáp ứng điều trị sẽ rất khác nhau ở những người mang kiểu gen khác nhau của một hoặc nhiều enzym chuyển hóa khác.

Voriconazol là một thuốc chống nấm nhóm triazol được chuyển hóa bởi 3 CYP (CYP3A4, CYP2C19 và CYP2C9). Alen *CYP2C19*2* tương ứng với kiểu hình PM làm AUC tăng gấp 3 lần và giảm tốc độ thải trừ voriconazol so với bình thường. Mặt khác, một tương tác thuốc thường gấp giữa voriconazol với ritonavir do hiện tượng ức chế CYP3A4 bởi ritonavir. Tương tác này gây ảnh hưởng nặng nề nhất ở cá thể mang alen *CYP2C19*2*, làm giảm đến 86% độ thanh thải của voriconazol, trong khi ở các kiểu gen chuyển hóa bình thường (EM), mức giảm trung bình là 34%. Như vậy, khi chuyển hóa qua CYP2C19 giảm (do đa hình gen) sẽ làm CYP3A4 nhạy cảm hơn với tác dụng ức chế của ritonavir. Đó cũng là một quy luật chung, đối với thuốc là cơ chất của nhiều CYP

khác nhau, khi enzym chuyển hóa chính bị giảm hoạt tính (do tương tác thuốc hoặc do đa hình gen), chuyển hóa sẽ tăng lên theo những con đường phụ.

Ngược lại với quy luật thường gặp trong tương tác thuốc liên quan đến một protein/gen, đối với những tương tác thuốc liên quan đến nhiều enzym chuyển hóa, sự ảnh hưởng trầm trọng thường xảy ra nhiều hơn ở những người mang kiểu gen biến thể làm giảm hoạt tính enzym (Bảng 8.4).

Venlafaxin là một thuốc chống trầm cảm, được chuyển hóa ở gan bởi hai con đường: Khử methyl ở O do CYP2D6 và khử methyl ở N do CYP2C9/ 2C19/3A4. Khi dùng đồng thời với cotrimoxazol, một chất ức chế CYP2C9, có thể xảy ra tương tác thuốc làm tăng nồng độ venlafaxin. Nồng độ này tăng cao nhất (30%) ở những người mang kiểu gen biến thể làm giảm hoặc mất hoạt tính CYP2C19 do hiện tượng cộng hưởng của hai yếu tố ức chế chuyển hóa khác nhau.

Mối quan hệ trong tương tác đa chiêu thuốc - gen - thuốc - gen còn phức tạp hơn nữa trong trường hợp đa hình gen làm tăng nồng độ của thuốc gây tương tác thuốc. Tacrolimus là một thuốc được chuyển hóa bởi CYP2C19 và CYP3A4. Khi dùng cùng với itraconazol, một chất ức chế CYP3A4, tương tác thuốc xảy ra làm tăng nồng độ tacrolimus. Khi dùng đồng thời tacrolimus và itraconazol, nồng độ tacrolimus càng tăng cao hơn (đến 200%) ở những người có kiểu gen biến thể làm giảm hoạt tính CYP2C19. Nhưng thậm chí, mức tăng còn gấp đôi khi thay itraconazol bằng một thuốc kháng nấm tương tự là voriconazol. Điều này được giải thích là do voriconazol vừa là chất ức chế CYP3A4 như itraconazol nhưng đồng thời lại là cơ chất của CYP2C19. Những người bị giảm hoạt tính CYP2C19 có nồng độ voriconazol cao hơn dẫn đến tương tác thuốc xảy ra ở mức độ nghiêm trọng hơn nữa, làm tăng 1500% nồng độ tacrolimus.

Bảng 8.4. Ảnh hưởng của đa hình nhiều gen CYP đến tương tác thuốc

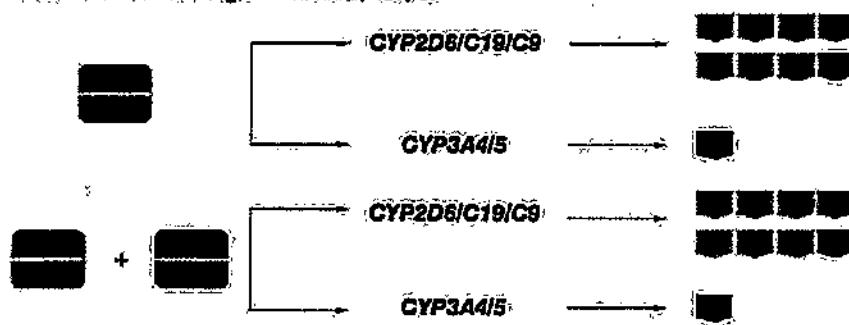
Thuốc ảnh hưởng và cơ chế ảnh hưởng	Thuốc là cơ chất của CYP	Enzym chuyển hóa thứ hai	Kiểu gen/ Kiểu hình của enzym chuyển hóa chính	Ảnh hưởng của TTT đến được động học
Clarithromycin (500 mg, ngày 2 lần) ức chế CYP3A4	Esomeprazol (40 mg)	CYP3A4	<i>CYP2C19*1/*1 (Wild type)</i> <i>CYP2C19*2/*2</i> <i>CYP2C19*2/*3 (PM)</i>	AUC tăng 70% AUC tăng 114%
Troleandomycin (500 mg) ức chế CYP3A4	Omeprazol (20 mg)	CYP3A4	<i>CYP2C9*1/*1 (Wild type)</i> <i>CYP2C9*1/*2, *1/*3 (IM)</i> <i>CYP2C9*2/*2, 3/*3 (PM)</i>	AUC tăng 28% AUC tăng 26% AUC tăng 81%

Thuốc ảnh hưởng và cơ chế ảnh hưởng	Thuốc là chất cản CYP	Enzym chuyển hóa thứ hai	Kiểu gen/ Kiểu hình của enzym chuyển hóa chính	Ảnh hưởng của TTI đến được động học
Clarithromycin (ức chế CYP3A4) và paroxetin (ức chế CYP2D6)	Venlafaxin (75 mg)	CYP3A4	<i>CYP2D6*1/*1, *1/*2 (wild type)</i>	Sau khi dùng clarithromycin: AUC tăng 8% Sau khi dùng clarithromycin và paroxetin: AUC tăng 328% Sau khi dùng clarithromycin: AUC tăng 31% Sau khi dùng clarithromycin và paroxetin: AUC tăng 124%
Itraconazol (200 mg) ức chế CYP3A4	Risperidone (2 - 8 mg)	CYP3A4	<i>CYP2D6*1/*1 (wild type)</i> <i>CYP2D6 *10/*10 (IM)</i>	AUC tăng 55% AUC tăng 99%

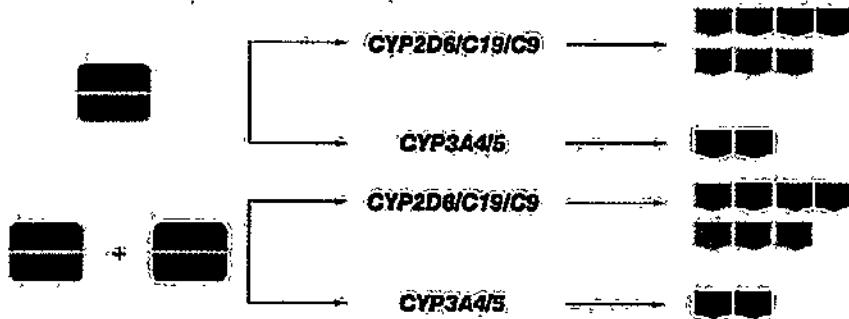
Tính chất phức tạp của tương tác thuốc - thuốc liên quan đến nhiều gen/ protein khác nhau được thể hiện ở Hình 8.4, mô tả các khả năng có thể xảy ra ở những người mang kiểu gen khác nhau. Với cùng một cách phối hợp điều trị, nồng độ thuốc dạng ban đầu và nồng độ các sản phẩm chuyển hóa sẽ rất khác nhau ở những người mang kiểu gen khác nhau, dẫn đến ý nghĩa lâm sàng của tương tác thuốc rất khác nhau.

Một số ví dụ về tương tác thuốc xảy ra ở những người mang kiểu gen CYP khác nhau được trình bày trong Bảng 8.4 và Hình 8.4.

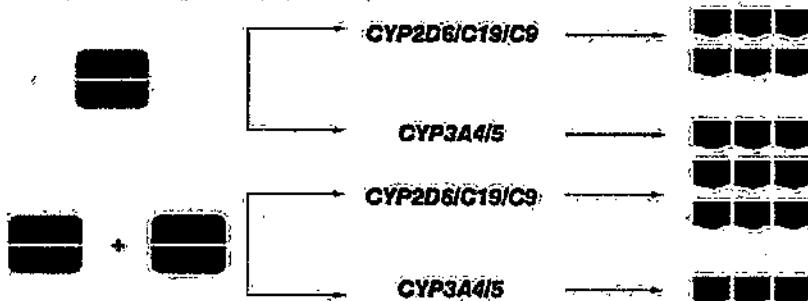
(A) Kiểu hình bình thường của CYP2D6/C19/C9



(B) Kiểu hình giảm hoạt tính CYP2D6/C19/C9



(C) Kiểu hình mất hoạt tính của CYP2D6/C19/C9



Hình 8.4. Tương tác thuốc - gen - thuốc đối với những thuốc là cơ chất của CYP2D6/CYP2C19/CYP2C9 dùng phối hợp với những thuốc ức chế CYP3A4/5

A: Ở người mang kiểu gen bình thường của CYP2D6/CYP2C19/CYP2C9:

- Nếu dùng một thuốc là cơ chất của CYP2D6/CYP2C19/CYP2C9/ CYP3A4/A5: Qua chuyển hóa bởi CYP2D6/CYP2C19/CYP2C9, phần lớn sẽ thành sản phẩm chuyển hóa bước đầu, chỉ một phần nhỏ ở dạng ban đầu, qua chuyển hóa bởi CYP3A4/A5 sẽ thành sản phẩm chuyển hóa tiếp theo.

- Nếu dùng một thuốc là cơ chất của CYP2D6/CYP2C19/CYP2C9/ CYP3A4/A5 đồng thời với một thuốc ức chế CYP3A4/A5: Quá chuyển hóa bởi CYP2D6/CYP2C19/ CYP2C9, phần lớn sẽ thành sản phẩm chuyển hóa bước đầu, chỉ một phần nhỏ ở dạng ban đầu, quá trình chuyển hóa bởi CYP3A4/A5 bị ức chế, do đó thuốc vẫn ở dưới dạng ban đầu.

B: Ở người mang kiểu gen tương ứng kiểu hình giảm hoạt tính của CYP2D6/ CYP2C19/CYP2C9:

- Nếu dùng một thuốc là cơ chất của CYP2D6/CYP2C19/CYP2C9/ CYP3A4/A5: Quá trình chuyển hóa bởi CYP2D6/CYP2C19/CYP2C9 giảm, chỉ một phần chuyển thành sản phẩm chuyển hóa bước đầu, phần còn lại ở dạng ban đầu, qua chuyển hóa bởi CYP3A4/A5 sẽ thành sản phẩm chuyển hóa tiếp theo, quá trình chuyển hóa bởi CYP3A4/A5 tăng lên do giảm quá trình chuyển hóa bởi CYP2D6/CYP2C19/CYP2C9.

- Nếu dùng một thuốc là cơ chất của CYP2D6/CYP2C19/CYP2C9/ CYP3A4/A5 đồng thời với một thuốc ức chế CYP3A4/A5: Quá trình chuyển hóa bởi CYP2D6/ CYP2C19/CYP2C9 giảm, chỉ một phần chuyển thành sản phẩm chuyển hóa bước đầu, phần còn lại ở dạng ban đầu, quá trình chuyển hóa bởi CYP3A4/A5 sẽ thành sản phẩm chuyển hóa tiếp theo, quá trình chuyển hóa bởi CYP3A4/A5 bị ức chế, do đó thuốc vẫn ở dưới dạng ban đầu nhiều hơn trường hợp A.

C: Ở người mang kiểu gen tương ứng kiểu hình mất hoạt tính của CYP2D6/ CYP2C19/CYP2C9:

- Nếu dùng một thuốc là cơ chất của CYP2D6/CYP2C19/CYP2C9/ CYP3A4/A5: Quá trình chuyển hóa bởi CYP2D6/CYP2C19/CYP2C9 không xảy ra, thuốc vẫn tồn tại chủ yếu ở dạng ban đầu, quá trình chuyển hóa bởi CYP3A4/A5 tăng lên nhiều hơn trường hợp B do giảm quá trình chuyển hóa bởi CYP2D6/CYP2C19/CYP2C9.

- Nếu dùng một thuốc là cơ chất của CYP2D6/CYP2C19/CYP2C9/ CYP3A4/A5 đồng thời với 1 thuốc ức chế CYP3A4/A5: Cả hai quá trình chuyển hóa bởi CYP2D6/ CYP2C19/CYP2C9 và CYP3A4/A5 đều không xảy ra, thuốc còn lại nguyên vẹn ở dạng ban đầu.

Trong thực tế, tương tác thuốc - gen - thuốc có thể liên quan đồng thời tới nhiều enzym khác nhau của chuyển hóa thuốc pha I và pha II, thậm chí, liên quan tới cả các protein vận chuyển thuốc. Ví dụ như một trường hợp tương tác thuốc khi dùng haloperidol đồng thời với ciprofloxacin. Haloperidol được chuyển hóa pha I chủ yếu bởi CYP2D6 và một phần bởi CYP3A4, chuyển hóa pha II bởi UDP-Glucuronosyltransferase-2B7 (UGT2B7). Một bệnh nhân mang kiểu gen CYP2D6*6/*6, CYP3A4*1/*1 và UGT2B7 -

161 C/T, tương ứng với kiểu hình của 3 enzym CYP2D6, CYP3A4 và UGT2B7 lần lượt là mất hoạt tính, bình thường và giảm hoạt tính. Khi đó, chuyển hóa haloperidol phụ thuộc chủ yếu vào enzym CYP3A4. Tuy nhiên, việc dùng đồng thời với ciprofloxacin, một chất ức chế CYP3A4 đã dẫn đến tăng nồng độ haloperidol trong máu, với hậu quả là TDKMM hội chứng ngoại tháp nghiêm trọng.

KẾT LUẬN

Chỉ riêng sự tương tác qua lại giữa hai hay nhiều thuốc dùng đồng thời đã có thể tạo ra những thay đổi rất lớn về đáp ứng điều trị. Do vậy, sự ảnh hưởng của đa hình gen giữa những cá thể dùng thuốc càng làm cho mối quan hệ 3 chiều thuốc - gen - thuốc thêm phức tạp, dẫn đến thay đổi đáng kể về hiệu quả điều trị và tác dụng không mong muốn. Nói cách khác, mức độ ảnh hưởng của tương tác thuốc khác nhau giữa các cá thể và phụ thuộc đáng kể vào yếu tố khác biệt di truyền.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bahar MA, Setiawan D, Hak E, Wilffert B, Pharmacogenetics of drug-drug interaction and drug-drug-gene interaction: a systematic review on CYP2C9, CYP2C19 and CYP2D6, *Pharmacogenomics*. 2017 May;18(7):701-739. doi: 10.2217/pgs-2017-0194. Epub 2017 May 8.
2. Brian Thomas Hocum, Cytochrome P-450 gene and drug interaction analysis in patients referred for pharmacogenetic testing, *Am J Health-Syst Pharm* Vol 73(2), 2016.
3. Shabbir Ahmed, Zhan Zhou, Jie Zhou, and Shu-Qing Chen, Pharmacogenomics of Drug Metabolizing Enzymes and Transporters: Relevance to Precision Medicine, *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 2016 Oct; 14(5): 298-313.

Phần 3

DÙNG THUỐC THEO CÁ THỂ - ỨNG DỤNG CỦA GEN DƯỢC TRONG ĐIỀU TRỊ

Chương 9

ĐẠI CƯƠNG VỀ DÙNG THUỐC THEO CÁ THỂ

MỤC TIÊU HỌC TẬP

Trình bày được các khái niệm cơ bản liên quan đến dùng thuốc theo cá thể.

Sử dụng thuốc theo cá thể hay cá thể hóa điều trị là quan điểm trị liệu đã tồn tại từ hàng ngàn năm trước, được làm sáng tỏ và ngày càng được áp dụng rộng rãi từ cuối thế kỷ 20, đầu thế kỷ 21.

Y học phương Đông nguồn gốc Trung Quốc và Ấn Độ, ngay từ trước công nguyên đã nhấn mạnh tầm quan trọng của việc xem xét các đặc điểm của mỗi cá thể bệnh nhân trong chữa bệnh, bởi quan niệm dùng thuốc và y thuật để lập lại cân bằng trong cơ thể, từ đó loại trừ bệnh tật.

Hippocrates, ông tổ của ngành y hiện đại cũng đã kết luận: “Điều quan trọng là phải hiểu được bệnh này do người nào mang hơn là người này mang bệnh nào”. Đầu thế kỷ 20, Sir William Osler, người được coi là cha đẻ của ngành phẫu thuật thần kinh hiện đại cũng đã có một câu nói nổi tiếng: “Người thầy thuốc tốt chữa bệnh, người thầy thuốc vĩ đại chữa người mang bệnh”.

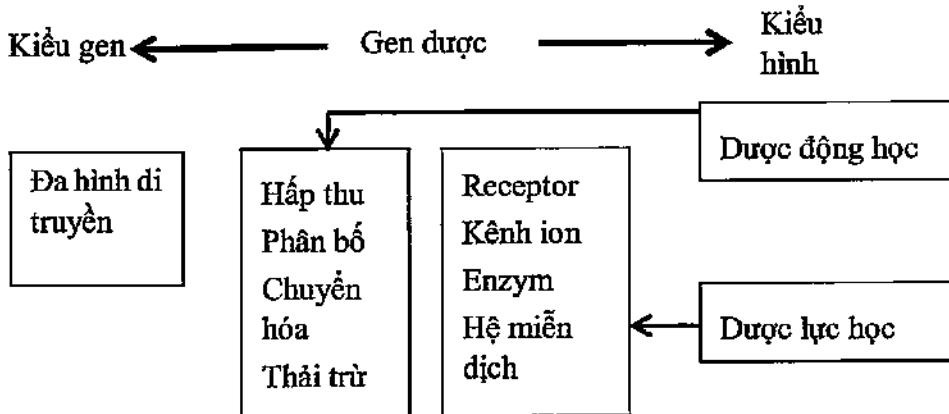
Như vậy, ý tưởng về “Cá thể hóa điều trị” đã có từ rất lâu đời, nhưng mãi tới giữa thế kỷ 20, với sự phát triển của y dược học, di truyền học, của công nghệ chẩn đoán hình ảnh và công nghệ khai thác dữ liệu, những nghiên cứu về sự khác biệt trong đáp ứng thuốc giữa các cá thể khác nhau, tập trung chủ yếu vào các enzym chuyển hóa thuốc mới được quan tâm. Đặc biệt, từ đầu thế kỷ 21, khi những thông tin về hệ gen người ngày càng sáng tỏ cùng với sự phát triển nhanh chóng của công nghệ genomics, công nghệ tin sinh học, đã có sự thay đổi mạnh mẽ, giúp các nhà khoa học có những công cụ hiệu quả để đưa “Cá thể hóa điều trị” từ ý tưởng trở thành hiện thực, phát triển thực sự trong thực tế lâm sàng.

1. “DÙNG THUỐC THEO CÁ THỂ” VÀ CÁC KHÁI NIỆM LIÊN QUAN

Thực ra chưa có một định nghĩa chính thức về “Dùng thuốc theo cá thể” (Personalized medicine) hay “Cá thể hóa điều trị” (Personalized therapy). Khái niệm này được sử dụng lần đầu tiên trong một chuyên luận năm 1998 và bắt đầu xuất hiện trên MEDLINES từ năm 1999. Đến nay, có nhiều định nghĩa khác nhau về “Dùng thuốc theo

cá thể”, tùy theo quan điểm của từng tổ chức. Một cách ngắn gọn, theo quan điểm của châu Âu, “Cá thể hóa điều trị” là “*Đưa ra đúng liệu pháp điều trị cho đúng người, đúng đúng liệu, vào đúng thời điểm*”. Theo Hiệp hội Y học Hoa Kỳ, “Cá thể hóa điều trị” là “*Toàn bộ các hoạt động chăm sóc y tế dựa trên thông tin cụ thể của từng bệnh nhân về lâm sàng, di truyền và môi trường*”. Theo Viện Ung thư Hoa Kỳ, thuốc cá thể hóa là “*Thuốc sử dụng thông tin của cá nhân về gen, protein và môi trường để phòng, chẩn đoán và điều trị một bệnh*”.

Bên cạnh đó, có một số khái niệm thường được dùng đồng thời hoặc thay thế cho khái niệm “Dùng thuốc theo cá thể”. Y học chính xác (precision medicine) là thuật ngữ được Viện Hàn lâm Khoa học Hoa Kỳ dùng để chỉ: “Việc sử dụng các dữ liệu genomic, epigenomic và các dữ liệu khác để thiết lập những mô hình cá nhân của một bệnh, nhằm đạt được những phương pháp điều trị tốt hơn cho cá nhân đó”. Y học phân tầng (stratified medicine) là khái niệm chỉ sự phân chia quần thể bệnh nhân thành những nhóm nhỏ, dựa trên một số đặc điểm chung, mỗi nhóm sẽ đáp ứng tốt hơn với một thuốc nhất định hoặc một liệu pháp điều trị nhất định. Y học phân tầng được coi là cốt lõi của “Cá thể hóa điều trị”, cho phép có những biện pháp chiến lược để chẩn đoán, điều trị phù hợp và hiệu quả cho từng bệnh nhân hoặc nhóm bệnh nhân.



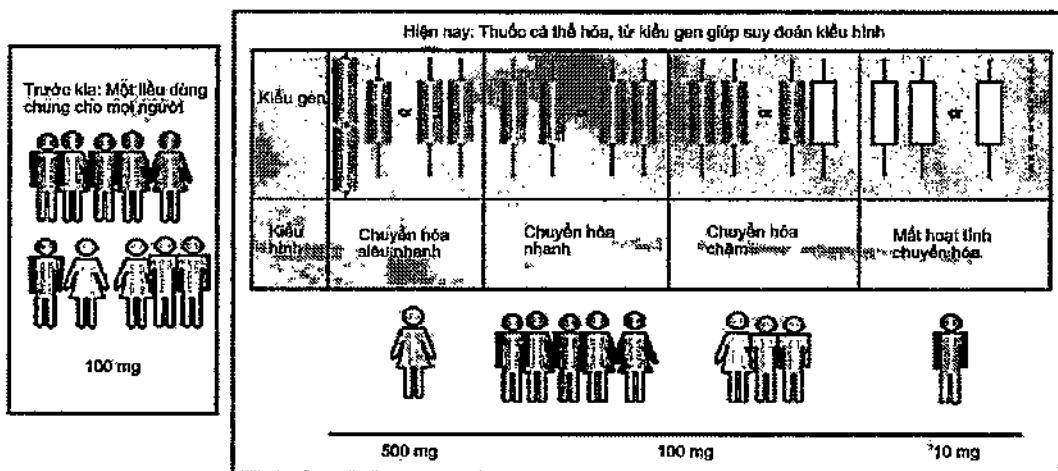
Hình 9.1. Vai trò kết nối giữa kiểu gen và kiểu hình của gen được

Bên cạnh đó, một khái niệm được coi là quan trọng đặc biệt trong “Dùng thuốc theo cá thể”, giúp cho nó từ một ý tưởng trở thành một lĩnh vực phát triển nhanh chóng trong thế kỷ 21 là khái niệm Gen được/ Hệ gen được (Pharmacogenetics/ Pharmacogenomics). Việc nghiên cứu các thông tin về ADN, ARN với các kỹ thuật sinh học phân tử và công nghệ sinh học hiện đại, cho phép sử dụng các thông tin về di truyền của bệnh nhân để đưa ra những quyết định điều trị phù hợp nhất nhờ dự đoán được đáp ứng thuốc ở mỗi bệnh nhân thông qua các yếu tố dược động học và dược lực học.

2. Ý NGHĨA CỦA DÙNG THUỐC THEO CÁ THỂ

Trước kia, phần lớn các thuốc được thiết kế và phát triển để điều trị tất cả bệnh nhân mắc cùng một bệnh nhất định. Một thực tế được thừa nhận rộng rãi là một thuốc cho dù có chất lượng tốt nhất, được thử nghiệm chặt chẽ, thận trọng trước khi đưa ra thị trường đều có thể không đạt hiệu quả hoặc có nhiều tác dụng không mong muốn đối với một số bệnh nhân. Đối với những bệnh có nhiều lựa chọn về thuốc điều trị, việc quyết định dùng thuốc nào thường do kinh nghiệm và thói quen của thầy thuốc. Y học bằng chứng thường đưa ra một phác đồ điều trị chuẩn mà không tính đến sự khác biệt về đáp ứng thuốc giữa các cá thể bệnh nhân khác nhau. Các thử nghiệm lâm sàng thường dựa trên các phân tích thống kê với cỡ mẫu lớn trên cả quần thể nói chung để đưa ra kết luận và hướng dẫn sử dụng áp dụng cho từng người bệnh. Trong khi đó, một thực tế là các cá thể có đặc điểm khác nhau thường có đáp ứng rất khác biệt với từng thuốc nhất định. Thông thường trước kia, các trường hợp không đáp ứng tốt sau khi dùng một phác đồ điều trị nào đó sẽ được thay thế bằng phác đồ khác. Tuy nhiên, đôi khi đáp ứng thuốc kém có thể dẫn đến những hậu quả nghiêm trọng cho bệnh nhân, nhiều trường hợp không cho phép có cơ hội sửa sai.

Tất cả các vấn đề nói trên có thể được khắc phục bằng cách tiếp cận “Dùng thuốc theo cá thể”. Việc phân loại bệnh nhân dựa trên các đặc điểm riêng về lâm sàng, cận lâm sàng, môi trường và đặc biệt là gen di truyền giúp lựa chọn phác đồ điều trị riêng cho từng nhóm dựa trên những dự đoán về đáp ứng điều trị đối với đặc điểm của nhóm bệnh nhân đó. Điều này nhằm hướng tới mục tiêu tối ưu hóa: Tăng cường hiệu quả điều trị và/hoặc hạn chế tác dụng không mong muốn, giảm tối đa tai biến, giảm chi phí điều trị do thời gian điều trị kéo dài hoặc do phải xử trí các tác dụng không mong muốn.



Hình 9.2. So sánh “Cá thể hóa điều trị” với điều trị kiểu truyền thống

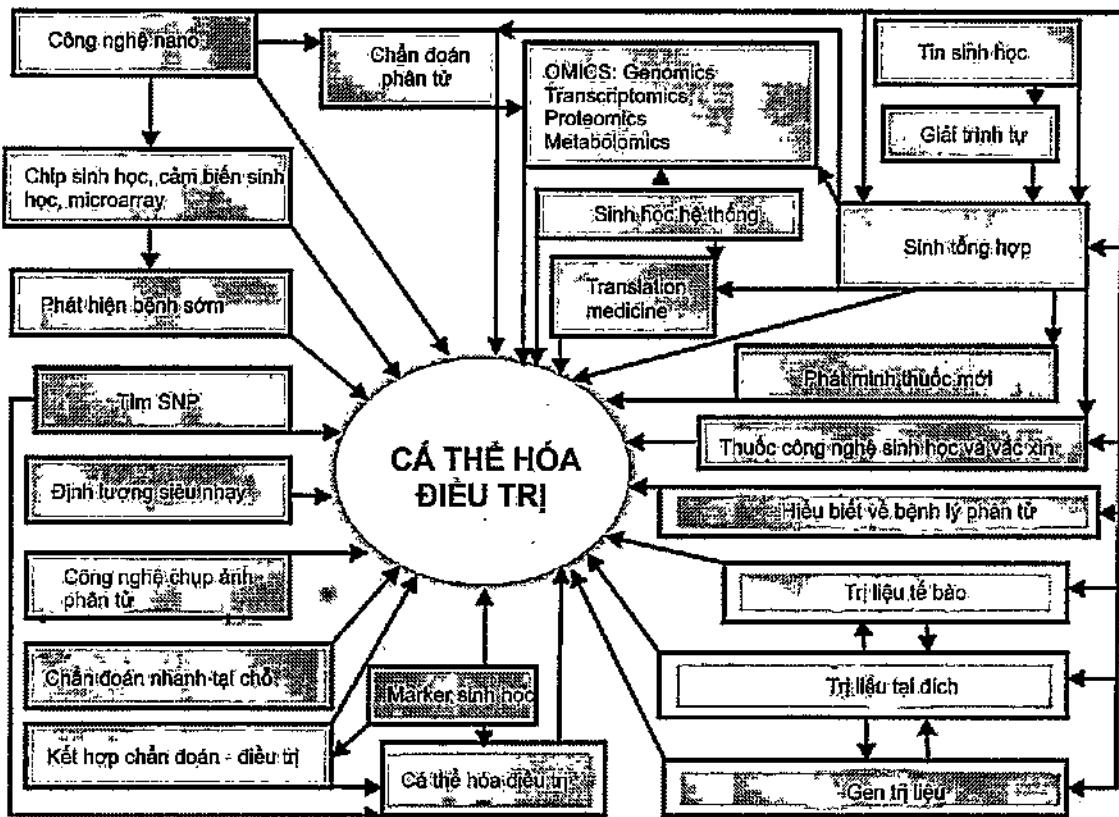
Bên trái: Mọi người đều dùng cùng 1 thuốc, cùng 1 liều; Bên phải: Lựa chọn liều của thuốc dựa trên thông tin di truyền về kiểu gen, kiểu hình.

3. CÁC ĐIỀU KIỆN CẦN THIẾT ĐỂ TRIỂN KHAI VIỆC DÙNG THUỐC THEO CÁ THỂ

Với mục tiêu lựa chọn được đúng thuốc, đúng liều, đúng đúng thời điểm cho đúng người, cá thể hóa điều trị thường liên quan đến sử dụng kết hợp hai sản phẩm y học, thông thường là một công cụ chẩn đoán/ xét nghiệm và một thuốc điều trị. Các công cụ chẩn đoán bao gồm cả chẩn đoán *in vitro* (ví dụ: xét nghiệm một đột biến gen di truyền, xác định sự có mặt, vắng mặt hoặc định lượng một marker sinh học) và chẩn đoán *in vivo* (ví dụ: điện não đồ, điện tâm đồ, chẩn đoán hình ảnh). Mức độ của các chẩn đoán có thể đi từ những thông số đơn giản như trọng lượng cơ thể, diện tích bề mặt da, huyết áp đến những thông số xét nghiệm hóa sinh, huyết học như độ thanh thải creatinin, thời gian đông máu và gần đây là các xét nghiệm di truyền như đột biến làm giảm hoạt tính của một enzym chuyển hóa thuốc hay sự có mặt của một receptor đặc hiệu... Rất nhiều các công cụ chẩn đoán khác nhau đã được phát triển nhằm cung cấp những thông tin về đặc điểm cá thể của từng bệnh nhân.

“Cá thể hóa điều trị” có thể phát triển và thực sự thành công hay không phụ thuộc vào các công cụ chẩn đoán có cho các thông tin đáng tin cậy hay không. Nếu công cụ chẩn đoán cho kết quả không chính xác có thể dẫn đến những quyết định sai lầm dựa trên các kết quả đó. Ví dụ: Dựa trên một chẩn đoán không chính xác, có thể lựa chọn thuốc không phù hợp cho một bệnh nhân dẫn đến không đạt hiệu quả điều trị và/ hoặc có tác dụng không mong muốn. Để có các công cụ chẩn đoán chính xác, đáng tin cậy, điều kiện cốt lõi là trình độ công nghệ. Điều đó giải thích vì sao “Cá thể hóa điều trị” thực sự phát triển và đi vào thực tế từ đầu thế kỷ 21, với sự phát triển vượt bậc của nhiều công nghệ tiên tiến. Hình 9.3 thể hiện mối quan hệ của “Cá thể hóa điều trị” với các ngành công nghệ khác nhau.

Bên cạnh yếu tố công nghệ, để phát triển những ứng dụng của “Cá thể hóa điều trị”, thực sự đem lại những lợi ích cho bệnh nhân, thì các yếu tố về truyền thông và chính sách cũng đóng vai trò hết sức quan trọng. Minh chứng rõ nhất là Hoa Kỳ, một trong những nước có “Cá thể hóa điều trị” phát triển mạnh nhất, Cơ quan Quản lý Dược và An toàn thực phẩm (FDA) có nhiều chính sách, quy định, hướng dẫn hỗ trợ việc triển khai áp dụng “Dùng thuốc theo cá thể” vào thực tế lâm sàng.



Hình 9.3. Tương quan giữa “Cá thể hóa điều trị”
và các ngành công nghệ tiên tiến

Bảng 9.1. Một số thuốc được FDA khuyến cáo cần cân nhắc thông tin
về dì truyền của bệnh nhân khi dùng

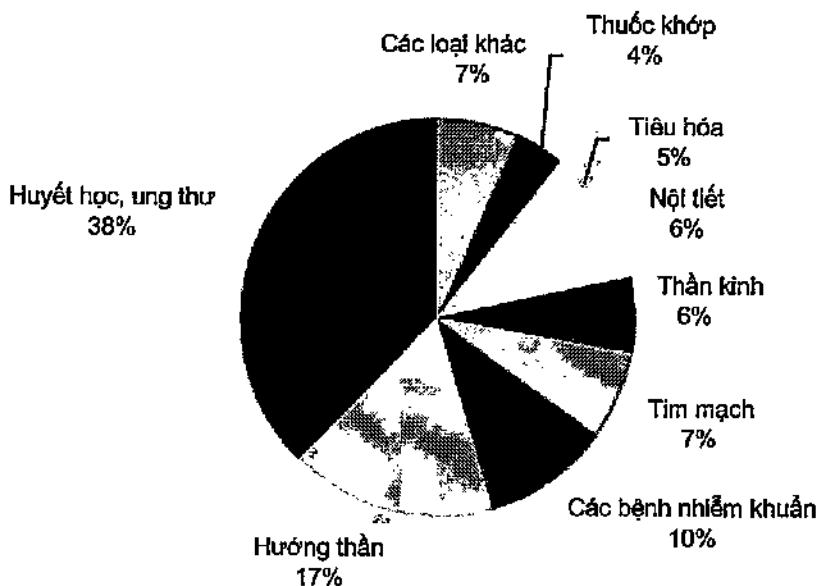
Thuốc	Gen	Thuốc	Gen
Clopidogrel	CYP2C19	Azathiopurin	TPMT
Atomoxetin	CYP2D6	Irinotecan	UGT1A1
Codein	CYP2D6	Cetuximab	EGFR
Tamoxifen	CYP2D6	Erlotinib	EGFR
Warfarin	CYP2C9, VKORC1	Imatinib mesylate	C-KIT
Abacavir	HLA-B*5701	Panitumumab	KRAS
Carbamazepin	HLA-B*1502	Trastuzumab	Her2/neu

Chỉ tính riêng trong 2 năm 2017 - 2018, 1/3 số thuốc được FDA phê duyệt đã đưa các thông tin cá thể hóa điều trị vào nhãn thuốc và tờ hướng dẫn sử dụng nhằm làm tăng hiệu quả điều trị/ giảm thiểu TDKMM (Bảng 9.1).

Tại Việt Nam, việc áp dụng “Dùng thuốc theo cá thể” dựa trên biểu hiện của marker sinh học cũng đã được áp dụng. Thông tư số 40/2014/TT-BYT về danh mục các thuốc tân dược được BHYT chi trả cũng đã đưa ra quy định về bằng chứng cần thiết để chỉ định, thanh toán cho một số thuốc điều trị ung thư khi và chi khi bệnh nhân dương tính với marker sinh học như *EGFR*, *KRAS*, *Her2*. Thông tư số 37/2015/TTLT-BYT-BTC quy định chi trả chi phí xét nghiệm phát hiện đột biến gen *EGFR*, *KRAS* và *BRAS*.

4. CÁC LĨNH VỰC LÂM SÀNG ĐANG ÁP DỤNG DÙNG THUỐC THEO CÁ THỂ

“Dùng thuốc theo cá thể” đã và đang được áp dụng trong nhiều lĩnh vực điều trị khác nhau, bước đầu đem lại những kết quả khả quan, cải thiện đáp ứng điều trị, trong một số trường hợp tạo ra những ý nghĩa lâm sàng đáng kể. Một trong những sự thể hiện rõ nhất của “Dùng thuốc theo cá thể” trong lâm sàng là những thay đổi trên nhãn thuốc và tờ hướng dẫn sử dụng. Cho đến nay, đã có hơn 150 thuốc được lưu hành với thông tin trên nhãn có nội dung liên quan đến marker sinh học và di truyền (ví dụ như: các biến thể gen, các thiếu hụt chức năng, thay đổi biểu hiện gen, các bất thường nhiễm sắc thể...). Trong số đó, một số thuốc trên nhãn có cả thông tin về những điều chỉnh cần thiết dựa trên thông tin di truyền của bệnh nhân. Các thông tin này có thể xuất hiện trên nhãn thuốc ở mục chỉ định hoặc mục thận trọng, cảnh báo... Trong các nhóm điều trị, điều trị ung thư là lĩnh vực phát triển “Cá thể hóa điều trị” mạnh mẽ nhất. Bên cạnh đó, “Dùng thuốc theo cá thể” cũng đang bước đầu được áp dụng trong các lĩnh vực điều trị khác như: Điều trị bệnh về huyết học, nhiễm khuẩn, điều trị rối loạn thần kinh, rối loạn tâm thần, điều trị các bệnh tim mạch, các bệnh phổi, các bệnh di truyền, các bệnh miễn dịch... (Hình 9.4).



Hình 9.4. Các nhóm điều trị có thông tin nhãn thuốc liên quan đến marker sinh học/ di truyền

Một trong các lĩnh vực đang có những thay đổi mạnh mẽ, tích cực nhờ áp dụng “Cá thể hóa điều trị” là lĩnh vực thử nghiệm lâm sàng trong phát triển thuốc mới. Trước kia, các thử nghiệm lâm sàng thường tiến hành trên một số lượng lớn bệnh nhân với nhóm thử nghiệm, nhóm placebo, kết luận về đáp ứng điều trị được rút ra sau những phân tích thống kê. Trong nhiều trường hợp, sau khi bỏ ra một lượng tiền lớn cùng thời gian dài để thử nghiệm, thuốc không cho kết quả mong muốn và không được lưu hành. Từ thực tế đó, ý tưởng về việc áp dụng “Cá thể hóa điều trị”, phân tầng bệnh nhân trước khi lựa chọn đưa vào thử nghiệm lâm sàng đã được triển khai nhằm mục đích rút ngắn thời gian, giảm số người tham gia thử nghiệm và giảm thiểu chi phí để rút ra kết luận, tăng tỷ lệ thành công của thử nghiệm lâm sàng. Ví dụ như crizotinib, một thuốc chống ung thư theo cơ chế ức chế tạo thành phức hợp ALK-EML4, vốn chỉ xuất hiện ở 4% bệnh nhân ung thư phổi. Thử nghiệm lâm sàng được tiến hành chỉ trên 82 bệnh nhân ung thư mang đột biến ALK thay vì hàng nghìn bệnh nhân ung thư như những thử nghiệm khác. Tuy nhiên, các kết luận về hiệu quả điều trị của crizotinib được rút ra với ý nghĩa thống kê rất cao. Crizotinib được FDA cấp phép lưu hành chỉ sau 2 năm, trở thành kỷ lục trong phát triển thuốc cho đến nay. Các nhà khoa học thậm chí đã bắt đầu đưa ra khái niệm “Thử lâm sàng đơn bệnh nhân” (single person trial). Kết hợp kết quả của nhiều thử nghiệm lâm sàng đơn bệnh nhân (tiến hành theo cùng một cách) sẽ cho những thông tin về các cách điều trị tối ưu cho một nhóm đối tượng trong quần thể hoặc thậm chí cho cả quần thể.

KẾT LUẬN

Như vậy, “Cá thể hóa điều trị” đã và đang có những bước phát triển vượt bậc, đặc biệt trong những năm gần đây, bước đầu đem lại những hiệu quả tích cực trong các lĩnh vực lâm sàng khác nhau. Để “Cá thể hóa điều trị” thực sự phát huy được những tiềm năng lợi ích hơn nữa, cần có sự phối hợp chặt chẽ của các nhà khoa học, các nhà quản lý và đội ngũ những người làm lâm sàng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế (2014), *Thông tư số 40 - Ban hành và hướng dẫn thực hiện danh mục thuốc tân dược thuộc phạm vi thanh toán của quỹ bảo hiểm y tế*.
2. Bousquet J., Jorgensen C. Dauzat M. (2014), System medicine approaches for the definition of complex phenotypes in chronic diseases and ageing. From concept to implementation and policies. *Curr Pharm Des* 20, 5928-44.
3. FDA (2013), *Paving the Way for Personalized Medicine - FDA's Role in a New Era of Medical Product Development*.

4. Garassino M. (2013), *ESMO Patients Guide Series: ESMO Personalised Medicine*, European Society for Medical Oncology ESMO Press.
5. Jain KK. (2015), *Textbook of Personalized Medicine*, Humana Press.
6. Rodriguez C., Taron M. (2014), Pharmacogenomic biomarkers for personalized cancer treatment, *J Intern Med* 277, 201-217.
7. Toshihisa Ishikawa (2012), Emerging New Technology to Advance Personalized Medicine, *J Pharmacogenomics Pharmacoproteomics* 3:e113.

Chương 10

DÙNG THUỐC THEO CÁ THỂ ĐỐI VỚI THUỐC CHỐNG ĐÔNG VÀ CHỐNG KẾT TẬP TIỂU CẦU

MỤC TIÊU HỌC TẬP

Phân tích được khả năng ứng dụng của gen được trong cá thể hóa điều trị đối với các thuốc chống đông và chống kết tập tiểu cầu.

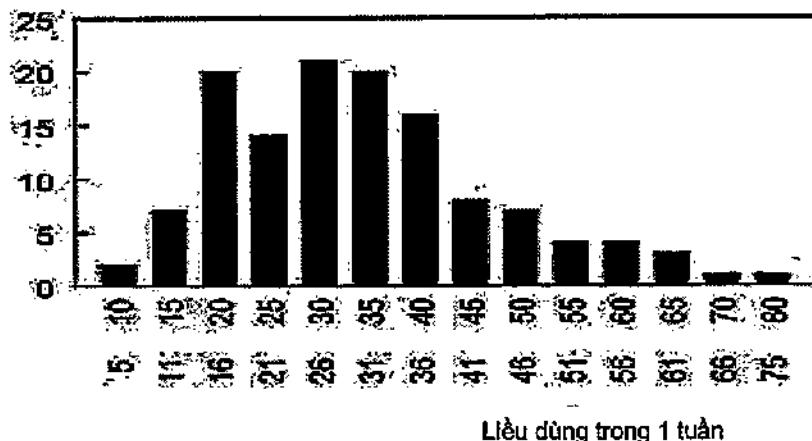
Thuốc chống đông và thuốc chống kết tập tiểu cầu đều là các thuốc tác động lên hệ thống đông máu, có thể giúp ngăn ngừa và điều trị nhiều bệnh lý phức tạp và nguy hiểm, giúp bảo vệ tính mạng người bệnh. Mặt khác, đây cũng là hai nhóm thuốc có phạm vi điều trị hẹp, có thể dẫn đến nhiều tai biến nguy hiểm khi dùng thuốc. Do vậy, việc sử dụng các thông tin về cá thể người bệnh để lựa chọn được đúng thuốc phù hợp với liều phù hợp có ý nghĩa rất quan trọng đối với việc sử dụng hai nhóm thuốc này.

1. DÙNG THUỐC THEO CÁ THỂ ĐỐI VỚI CÁC THUỐC CHỐNG ĐÔNG

1.1. Warfarin

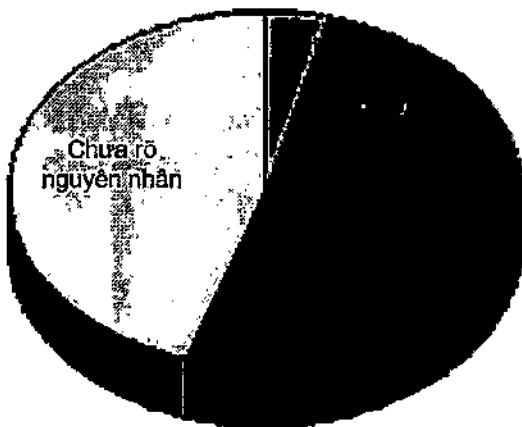
Trong các thuốc chống đông, một trong những thuốc được dùng nhiều nhất và cũng “nổi tiếng” nhất về sự dao động đáp ứng điều trị là warfarin. Sự dao động về đáp ứng điều trị này càng đặc biệt chú ý bởi warfarin là một thuốc có phạm vi điều trị hẹp, nếu không đạt hoặc vượt quá phạm vi điều trị đều có thể gây những tai biến nghiêm trọng. Liều dùng thích hợp của warfarin giữa các bệnh nhân khác nhau có thể chênh lệch nhau tới hơn 15 lần (Hình 10.1). Chính vì vậy, các biến chứng do liều warfarin không hợp lý là loại biến chứng thường được báo cáo về FDA nhiều nhất và cũng là một trong những nguyên nhân hàng đầu trong các trường hợp cấp cứu do tai biến dùng thuốc ở Mỹ.

Số bệnh nhân



Hình 10.1. Sự dao động về liều warfarin giữa các bệnh nhân khác nhau

Bên cạnh sự khác biệt giữa các cá thể về giới, tuổi, trọng lượng cơ thể... dẫn đến sự dao động về đáp ứng thuốc, trong điều trị bằng warfarin có sự ảnh hưởng quan trọng của hai loại protein: CYP2C9 và VKOR. Một số phân tích gộp đã cho thấy nguyên nhân từ sự đa hình của hai gen *CYP2C9* và *VKORC1* chiếm khoảng 50% các nguyên nhân gây ra hiện tượng dao động về đáp ứng điều trị với warfarin (Hình 10.2).



Hình 10.2. Các nguyên nhân chính gây ra sự dao động về đáp ứng điều trị của warfarin

VKOR (vitamine K epoxide reductase) là enzym xúc tác phản ứng khử hóa vitamin K. Đây chính là đích tác dụng của warfarin, bằng cách ức chế VKOR, warfarin ức chế sự tạo thành vitamin K dạng khử và từ đó làm giảm tổng hợp các yếu tố đông máu. Vì vậy, ở những người có số lượng VKOR giảm, thường do nguyên nhân biến đổi trình tự gen mã hóa enzym VKOR, liều dùng cần thiết của warfarin sẽ thấp hơn những người bình thường. Gen mã hóa cho VKOR có tên là *VKORC1*, loại biến đổi thường gặp của gen này là sự thay thế một nucleotid trong trình tự gen (G1639A). Hiện tượng đa hình này của gen *VKORC1* xuất hiện với tần suất khá cao (91% những người có nguồn gốc châu Á và

37% những người da trắng nguồn gốc châu Âu). Một nghiên cứu trên người Việt Nam đã tìm thấy 87,3 bệnh nhân thay van tim có kiểu gen đồng hợp tử gồm cả 2 alen đa hình GG. Nếu những người mang kiểu gen biến thể của gen *VKORC1* không được giảm liều warfarin, sẽ có thể gặp nguy cơ quá liều, dẫn đến các tai biến xuất huyết nghiêm trọng.

Bên cạnh sự ảnh hưởng của protein đích, đáp ứng điều trị với warfarin còn chịu ảnh hưởng lớn của các yếu tố được động học, đặc biệt là enzym chuyển hóa thuốc ở gan. *CYP2C9* là enzym chuyển hóa chủ yếu của đồng phân warfarin S, dạng đồng phân mang hoạt tính. Các nguyên nhân làm thay đổi hoạt tính chuyển hóa của *CYP2C9* đều có thể dẫn đến sự thay đổi lượng warfarin trong máu, dẫn đến thay đổi đáp ứng điều trị. Trong số đó, hiện tượng đa hình gen cũng có thể là nguyên nhân quan trọng làm thay đổi hoạt tính *CYP2C9*. Hai alen biến thể thường gặp của gen mã hóa *CYP2C9* là *CYP2C9*2* (c.430C>T; p.Arg144Cys; rs1799853) và *CYP2C9*3* (c.1075A>C; p.Ile359Leu; rs1057910), trong đó có sự thay đổi một nucleotid trong trình tự ADN. Khi kiểu gen của một người xuất hiện ít nhất một trong hai alen *CYP2C9*2* hoặc *CYP2C9*3*, hoạt tính chuyển hóa của enzym *CYP2C9* giảm, dẫn đến nồng độ warfarin trong máu cao hơn nồng độ cần thiết để đạt hiệu quả điều trị. Hậu quả là tai biến xuất huyết có thể xảy ra. Tần suất xuất hiện của hai alen đa hình nói trên vào khoảng 20% ở người da trắng châu Âu và khoảng 2 - 4% ở người châu Á và châu Phi.

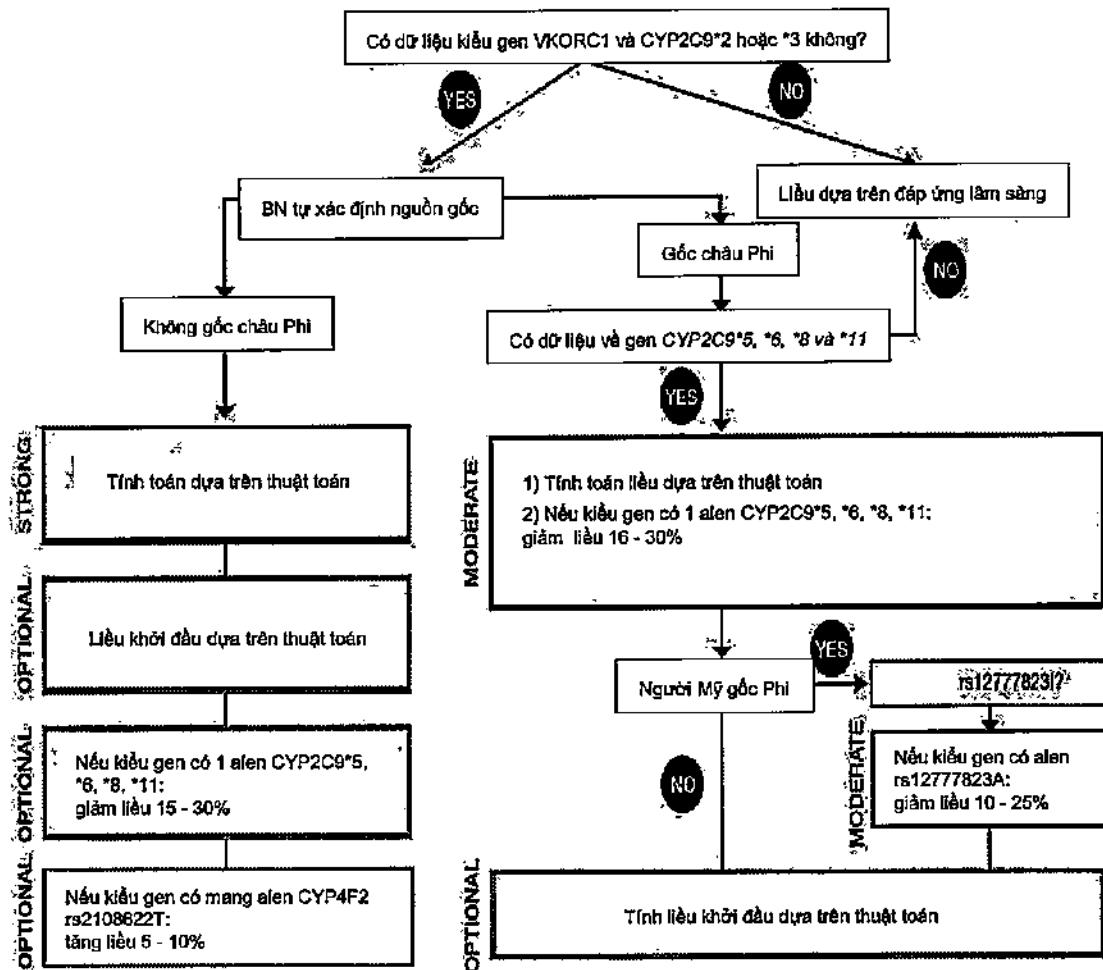
Từ các kết quả nghiên cứu về ảnh hưởng của hiện tượng đa hình hai gen *VKORC1* và *CYP2C9*, năm 2010, FDA đã đưa ra khuyến cáo về nhãn thuốc đối với warfarin, theo đó, trên tờ hướng dẫn sử dụng của thuốc phải ghi rõ liều dùng tương ứng với từng kiểu gen của hai gen này (Hình 10.3). Trên tờ hướng dẫn sử dụng theo FDA cũng ghi rõ: Các bệnh nhân có kiểu gen *CYP2C9 *1/*3*, **2/*2*, **2/*3*, và **3/*3* có thể cần nhiều thời gian hơn (nhiều hơn 2 - 4 tuần) để đạt tới ngưỡng INR mục tiêu so với người mang kiểu gen *CYP* khác dùng cùng một liều trình warfarin.

VKORC1	CYP2C9 (mg/ngày)					
	*1/*1	*1/*2	*1/*3	*2/*2	*2/*3	*3/*3
GG	5-7	5-7	3-4	3-4	3-4	0.5-2
AG	5-7	3-4	3-4	3-4	0.5-2	0.5-2
AA	3-4	3-4	0.5-2	0.5-2	0.5-2	0.5-2

Hình 10.3. Khuyến cáo chọn liều theo kiểu gen *CYP2C9* và *VKORC1* trên tờ hướng dẫn sử dụng warfarin theo quy định của FDA

Trong khi đó, Ủy ban Thực hành gen được trong lâm sàng (CPIC) cho rằng bảng hướng dẫn điều chỉnh liều của FDA chỉ nên dùng khi không thể tiếp cận với internet bởi ủy ban này đã đưa ra những thuật toán cho phép tính toán liều dùng tối ưu của warfarin dựa trên kiểu gen. Các thuật toán này được chia sẻ công khai trên trang web <http://www.warfarindosing.org>.

Năm 2017, Ủy ban CPIC cũng đưa ra các hướng dẫn về liều dùng warfarin dựa trên kiểu gen cho các bệnh nhân người lớn và bệnh nhi, trong đó, không chỉ dựa trên dữ liệu về các alen biến thể thường gặp của gen *VKORC1* và *CYP2C9* mà còn dựa trên một số alen khác như *CYP2C9*5, *6, *8, *11* hoặc *CYP2F4 rs 2108622T*, gen mã hóa cho một enzym chuyển hóa khác của warfarin (Hình 10.4).



Hình 10.4. Hướng dẫn điều chỉnh liều warfarin theo kiểu gen của CPIC

Cho đến nay, đã có một số thử nghiệm lâm sàng lớn, chủ yếu ở châu Âu, được tiến hành để đánh giá hiệu quả của việc lựa chọn liều warfarin dựa trên kiểu gen. Năm 2013, nghiên cứu về gen được trong dùng thuốc chống đông (EU-PACT) đã cho thấy hiệu quả

của các thuật toán xác định liều dựa trên kiểu gen trong giảm thời gian cần thiết để ổn định liều, tăng khoảng thời gian đạt ngưỡng điều trị, giảm số lần có INR quá cao (> 4) so với dùng liều theo cách thông thường, dựa trên đáp ứng lâm sàng. Trong khi đó, cũng trong năm 2013, nghiên cứu Xác định liều dùng tối ưu của thuốc chống đông dựa trên gen di truyền (COAG) không ghi nhận sự khác biệt về hiệu quả điều trị giữa hai nhóm thử nghiệm. Sự khác nhau về kết luận của hai nghiên cứu này có thể do đối tượng của nghiên cứu EU-PACT khá đồng nhất, trên chủ yếu là người da trắng châu Âu, trong khi đối tượng của nghiên cứu COAG có sự đa dạng về nguồn gốc chủng tộc, bao gồm 27% là người gốc Phi. Những người này có thể mang alen *CYP2C9*5*, *6, *8 và *11, những alen cũng có ảnh hưởng đến đáp ứng điều trị của warfarin nhưng đã không được sàng lọc trong nghiên cứu COAG.

Cuối năm 2016, một nghiên cứu lâm sàng ngẫu nhiên có đối chứng mang tên GIFT đã đánh giá hiệu quả và độ an toàn của việc áp dụng thuật toán xác định liều warfarin cho các bệnh nhân phẫu thuật chỉnh hình. Với cỡ mẫu là 1597, các alen được sàng lọc trong nghiên cứu này gồm *CYP2C9*2* và *3, *CYP4F2*3*, *VKORC1-1639*. Kết quả cho thấy, việc xác định liều nhờ thuật toán làm giảm 27% các tai biến so với liệu trình thông thường, giúp kiểm soát INR tốt hơn.

1.2. Các thuốc chống đông đường uống mới

Trong những năm gần đây, bên cạnh warfarin, các thuốc chống đông đường uống mới đã được dùng ngày càng phổ biến hơn, nhờ những ưu điểm so với warfarin, đặc biệt là sự ít dao động hơn về đáp ứng điều trị giữa các cá thể, dẫn đến không phải theo dõi chặt chẽ và có thể sử dụng liều dùng cố định. Tuy nhiên, đã có những ghi nhận về vai trò của yếu tố di truyền ảnh hưởng đến đáp ứng điều trị của dabigatran, một thuốc chống đông đường uống mới. Mới đây, một nghiên cứu của châu Âu (RE-LY) xác định các SNP liên quan đến nồng độ đáy và nồng độ đỉnh của dabigatran trong số 1490 bệnh nhân gốc châu Âu. Kết quả cho thấy, 1 SNP ở gen *CES1* và 1 SNP ở gen *ABCB1* liên quan đến nồng độ đỉnh và 2 SNP ở gen *CES1* liên quan đến nồng độ đáy của dabigatran. Những người mang biến thể của cả hai gen này có nồng độ dabigatran dao động từ +29,6% đến -20,2% so với những người không mang gen biến thể. Tuy nhiên, người ta chưa tìm thấy sự liên quan giữa các SNP này với sự gia tăng nguy cơ tai biến ở người dùng dabigatran.

2. DÙNG THUỐC THEO CÁ THỂ ĐỐI VỚI CÁC THUỐC CHỐNG KẾT TẬP TIỂU CẦU

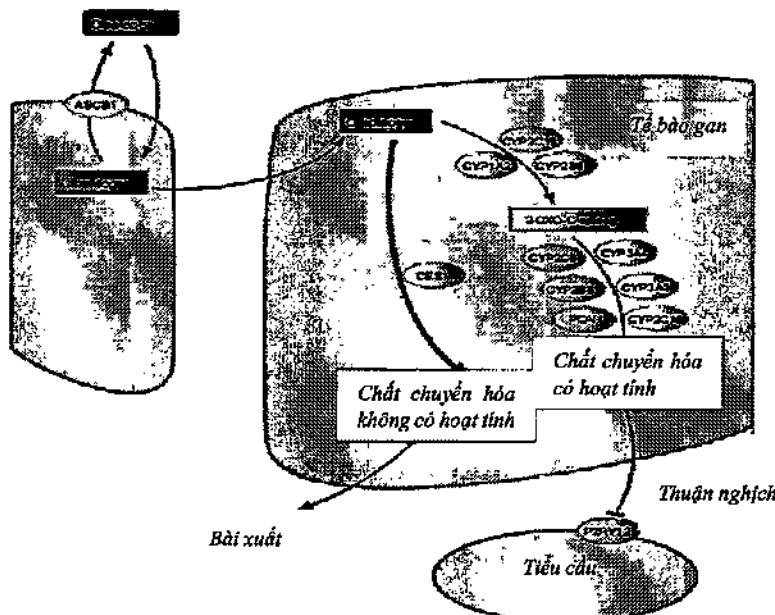
2.1. Clopidogrel

Với ưu điểm về hiệu quả điều trị và giá thành rẻ, cho đến nay, clopidogrel vẫn đang là một trong những thuốc chống kết tập tiểu cầu được kê đơn rộng rãi nhất để phòng các

biến chứng ở bệnh nhân hội chứng mạch vành cấp, nhồi máu cơ tim, những bệnh nhân đang dùng can thiệp mạch vành qua da. Tuy nhiên, khoảng 30 - 40% bệnh nhân không đáp ứng tốt với thuốc hoặc có phản ứng tiêu cầu cao trong điều trị (high on-treatment platelet reaction - HTPR), dẫn đến các biến chứng tim mạch. Bên cạnh các yếu tố ảnh hưởng như tuổi, BMI, bệnh mắc kèm, tương tác thuốc..., người ta đã phát hiện ra một số gen ảnh hưởng đáng kể đến đáp ứng với clopidogrel.

Clopidogrel là một tiền thuốc của nhóm thienopyridin thế hệ 2, phải qua chuyển hóa ở gan, chủ yếu nhờ CYP2C19, để khoảng 15% biến đổi thành sản phẩm thiol có hoạt tính. Số còn lại được thoái hóa nhờ các enzym esterase, mà chủ yếu là carboxyesterase 1 (CES1) thành các dẫn chất của acid carboxylic không có hoạt tính.

Trong các enzym chuyển hóa pha I của clopidogrel, CYP2C19 là enzym chủ chốt và cũng là enzym mà gen mã hóa có tính đa hình cao. Alen biến thể gây giảm chức năng phổ biến nhất của gen mã hóa CYP2C19 là *CYP2C19*2* (rs4244285), sự thay thế chỉ một nucleotid ở exon 5 đã dẫn đến tạo thành mã kết thúc sớm nghĩa là thay đổi cấu trúc và chức năng của protein tương ứng. Alen biến thể này chiếm khoảng 20 - 30% ở người châu Âu và châu Phi, 60% ở người châu Á.



Hình 10.5. Các gen/protein liên quan tới được động học và được lực học của clopidogrel

Có nhiều bằng chứng về ảnh hưởng của alen *CYP2C19*2* tới được động học và được lực học của clopidogrel. Năm 2006, lần đầu tiên, Hulot công bố kết quả trên 28 người tình nguyện khỏe mạnh cho thấy những người mang alen biến thể này có đáp ứng kém hơn với clopidogrel, thông qua phản ứng hoạt hóa tiểu cầu dưới tác dụng của ADP. Kết quả này được giải thích do giảm hoạt tính CYP2C19, giảm số lượng sản phẩm chuyển

hóa có hoạt tính của thuốc. Trong những năm gần đây, có nhiều nghiên cứu ghi nhận ảnh hưởng của alen *CYP2C19*2* tới hiệu quả điều trị về tim mạch. Những bệnh nhân mà kiểu gen mang ít nhất 1 alen *CYP2C19*2* có nguy cơ tai biến tim mạch cao hơn đáng kể so với những người mang kiểu gen đồng hợp từ wildtype, cụ thể là nguy cơ huyết khối stent tăng 2 - 3 lần. Hầu hết các phân tích meta đều cho thấy alen này ảnh hưởng nhiều nhất ở những bệnh nhân can thiệp mạch vành qua da là những người có nguy cơ cao bị huyết khối stent.

Đáng chú ý là tại Việt Nam cũng đã có những kết quả nghiên cứu bước đầu về đa hình gen *CYP2C19* trong điều trị hội chứng mạch vành cấp. Trong 116 bệnh nhân hội chứng mạch vành cấp dùng clopidogrel, số người mang alen *CYP2C19*2* và *3 lần lượt là 40,5% và 16,4%, trong đó, phân tích hồi quy đa biến cho thấy chỉ kiểu gen mang *CYP2C19*2* có ảnh hưởng tới độ kết tập tiểu cầu và tỷ lệ kháng clopidogrel. Bên cạnh alen đa hình này, có thêm một yếu tố ảnh hưởng tới mức độ kháng clopidogrel là tiền sử hút thuốc lá. Với tỷ lệ *CYP2C19*2* lên tới 20,5% ở người Kinh Việt Nam, rất cần có những lưu ý về yếu tố di truyền trong sử dụng clopidogrel cho người Việt Nam.

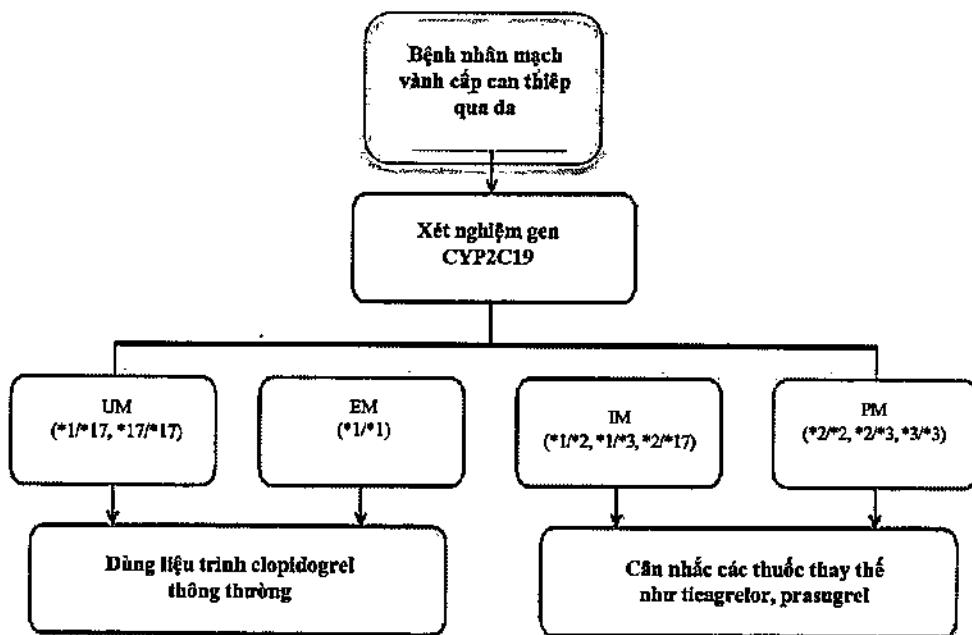
Ngược lại với *CYP2C19*2*, alen *CYP2C19*17* là một alen biến thể làm tăng hoạt tính của enzym *CYP2C19*. Năm 2009, trong một nghiên cứu hồi cứu trên 598 bệnh nhân hội chứng mạch vành cấp điều trị bằng clopidogrel, những người có kiểu gen mang alen *CYP2C19*17* có đáp ứng điều trị tốt hơn đáng kể, thể hiện qua mức độ phản ứng tiểu cầu dưới tác dụng kích thích của yếu tố giãn mạch (VASP). Tuy nhiên, các nghiên cứu sau đó, đánh giá thông qua nồng độ các sản phẩm chuyển hóa của clopidogrel, mức độ kết tập tiểu cầu, các tiêu chí hiệu quả về tim mạch cũng như các phân tích meta đã cho kết quả trái ngược nhau. Ví dụ như: Hai phân tích meta năm 2012 cho thấy alen *CYP2C19*17* liên quan tới giảm các tai biến lâm sàng nhưng tăng nguy cơ xuất huyết.

Bên cạnh enzym chuyển hóa pha I, enzym chuyển hóa pha II của clopidogrel mà chủ yếu là carboxyesterase 1 (CES1) cũng có ảnh hưởng đáng kể tới đáp ứng điều trị. Khoảng 85% liều điều trị của clopidogrel được thoái hóa và đào thải ra khỏi cơ thể nhờ CES1. Trong một nghiên cứu trên 566 bệnh nhân dùng clopidogrel, đã ghi nhận một biến thể của gen *CES1* (ký hiệu là p. 143G>E, rs71647871) làm thay thế Gly bằng Glu trong chuỗi acid amin, đã ảnh hưởng đến được động học và dược lực học của thuốc. Những người mang kiểu gen 143E đồng hợp từ có nồng độ các sản phẩm chuyển hóa có hoạt tính của clopidogrel cao hơn đáng kể so với kiểu gen wildtype, kèm theo hoạt tính kết tập tiểu cầu dưới tác dụng của ADP cao hơn. Một ghi nhận khác trên 350 bệnh nhân mạch vành cho thấy, người mang alen *CES1* 143E có đáp ứng với clopidogrel tốt hơn, thể hiện qua hoạt tính kết tập tiểu cầu, 0% những người mang alen này bị tai biến tim mạch trong vòng 1 năm theo dõi. Các kết quả này tương đồng với một kết quả nghiên cứu trên gan

người, trong đó phản ứng thùy phân clopidogrel và 2-oxo-clopidogrel bị ức chế ở những người mang alen 143E.

Ngoài các gen liên quan đến được động học của clopidogrel, đã có một số nghiên cứu quan tâm đến các gen liên quan đến được lực học của thuốc này. Khi vào máu, các sản phẩm chuyển hóa có hoạt tính của clopidogrel gắn không thuận nghịch và ức chế receptor P2Y12 trên bì mặt tiêu cùu, dẫn đến giảm sự hoạt hóa và kết tập tiểu cầu dưới tác dụng của ADP. Điều đó có nghĩa là P2Y12 là protein đích của clopidogrel. Có 1 Haplotype gồm các SNP thường đi kèm nhau trên gen *P2RY12* (gen mã hóa receptor P2Y12), dẫn đến tăng biểu hiện gen, tăng hoạt tính tiểu cầu khi dùng clopidogrel. Tuy nhiên, các kết quả về ảnh hưởng của Haplotype này trên đáp ứng với clopidogrel trên lâm sàng cho kết quả khá mâu thuẫn.

Như vậy, trong các gen liên quan đến đáp ứng với clopidogrel, gen *CYP2C19* có nhiều bằng chứng lâm sàng về ảnh hưởng tới đáp ứng điều trị. Vì vậy, clopidogrel cũng là thuốc được FDA khuyến cáo về việc ghi nhãn thuốc cần có thông tin hướng dẫn sử dụng dựa trên kiểu gen. Cụ thể là những người mang alen *CYP2C19* làm giảm hoạt tính enzym chuyển hóa cần cân nhắc thay clopidogrel bằng một thuốc ức chế P2Y12 khác. Bên cạnh đó, Ủy ban áp dụng gen được trong lâm sàng (CPIC) cũng đưa ra phác đồ hướng dẫn dùng thuốc chống kết tập tiểu cầu đối với các kiểu gen khác nhau của gen *CYP2C19* (Hình 10.6).



Hình 10.6. Hướng dẫn của CPIC về sử dụng clopidogrel dựa trên kiểu gen CYP2C19

2.2. Aspirin

Aspirin là một thuốc chống kết tập tiểu cầu được dùng phổ biến để ngăn ngừa nhồi máu cơ tim, đột quỵ... với cơ chế úc chế prostaglandin synthase 1 (PTGS1) hay còn gọi là cyclooxygenase 1 (COX1). Hiện tượng kém đáp ứng với aspirin đã được báo cáo trong 6 - 60% các trường hợp. Nhiều nghiên cứu về liên quan kiểu gen trong quần thể (GWAS) đã thống kê một loạt gen liên quan đến đáp ứng của aspirin, từ những gen liên quan đến enzym chuyển hóa thuốc như butyrylcholinesterase (BCHE) cho đến các gen liên quan đến tiểu cầu, tế bào đích của thuốc. Thậm chí, một nghiên cứu đã thống kê một nhóm 62 gen được gọi chung là "chữ ký đáp ứng với aspirin" (Aspirin response signature - ARS) gồm các gen mà biểu hiện của chúng liên quan chặt chẽ đến chức năng của tiểu cầu dưới tác dụng của aspirin. Mặc dù đã được khẳng định qua các nghiên cứu *in vitro* và *ex vivo*, ý nghĩa lâm sàng của các gen này còn là vấn đề gây nhiều tranh cãi qua các thử nghiệm lâm sàng gần đây. Trong số đó, chỉ có một số ít gen được chứng minh vai trò bởi nghiên cứu lâm sàng, ví dụ như gen *PEAR1*, thường biểu hiện ở tiểu cầu, tham gia vào sự hoạt hóa tiểu cầu. Một alen biến thể của gen này (rs12041331) làm giảm chức năng tiểu cầu trong đáp ứng với aspirin. Nghiên cứu lâm sàng cho thấy những người mang alen này có nguy cơ tai biến tim mạch trong điều trị bằng aspirin cao hơn người mang kiểu gen bình thường.

Trong khi các gen trực tiếp liên quan tới cơ chế tác dụng của aspirin không thể hiện ảnh hưởng đáng kể lên đáp ứng điều trị trong nghiên cứu lâm sàng thì một gen rất gián tiếp lại có liên quan rõ rệt với đáp ứng của thuốc này. Đó là gen *LPA*, mã hóa apolipoprotein A, một thành phần cấu tạo lipoprotein. Một nghiên cứu lâm sàng quy mô lớn, có đối chứng đã phát hiện những bệnh nhân mang alen biến thể hiếm gặp của gen này (rs3798220) có nguy cơ tai biến tim mạch giảm hơn 2 lần so với kiểu gen bình thường, khi dùng aspirin. Các tác giả đã đề xuất sử dụng alen này như một marker để dự đoán những người đáp ứng tốt khi dùng liệu pháp aspirin để dự phòng tai biến tim mạch. Người ta chưa tìm được mối liên quan trực tiếp giữa *LPA* với được động học hoặc được lực học của aspirin mà chỉ biết được gen này có liên quan tới tiến triển của các bệnh mạch vành cấp.

2.3. Các thuốc úc chế P2Y12 thế hệ mới

Sự dao động trong đáp ứng điều trị với clopidogrel đặt ra một nhu cầu cấp thiết về các thuốc thế hệ mới có thể hạn chế được những nhược điểm của clopidogrel. Prasugrel, tương tự như clopidogrel, là một tiền thuốc cần được chuyển hóa qua gan thành hoạt chất úc chế receptor P2Y12 ở tiểu cầu. Tuy nhiên khác với clopidogrel, phần lớn lượng prasugrel đưa vào đều được chuyển thành hoạt chất, do đó, hoạt tính úc chế tiểu cầu mạnh

hơn. Một chất ức chế P2Y12 mới khác là ticagrelor là dạng chất có hoạt tính, không cần qua giai đoạn hoạt hóa ở gan.

Mặc dù có những ưu điểm như vậy nhưng cả prasugrel và ticagrelor vẫn có hiện tượng dao động về đáp ứng điều trị, đánh giá qua hoạt tính tiêu cầu *ex vivo* và các tai biến tim mạch khi dùng thuốc. Một số tác giả đề xuất dùng test chức năng tiêu cầu *ex vivo* làm biomarker để dự đoán bệnh nhân nào đáp ứng tốt với thuốc. Cho đến nay, mặc dù chưa có các nghiên cứu GWAS về đáp ứng với prasugrel nhưng đã xác định được một số gen liên quan. Một số nghiên cứu đã cho thấy alel *CYP2C19** và *CYP2C19*17* có ảnh hưởng đáng kể tới hoạt động tiêu cầu ở bệnh nhân đặt stent mạch vành dùng prasugrel. Ticagrelor không cần qua chuyển hóa ở gan để trở thành dạng có hoạt tính, do đó, đáp ứng với thuốc này ít chịu ảnh hưởng của đa hình các CYP. Tuy nhiên, một số gen mã hóa các protein có liên quan tới được động học của ticagrelor đã được xác định là ảnh hưởng tới nồng độ của thuốc trong máu. Ví dụ như: Một alel biến thể gây giảm chức năng (*SLC01B1*5*) của gen mã hóa protein vận chuyển SLC01B1 và một alel biến thể (rs61361928) của gen *UGT2B7* mã hóa enzym UDP-Glucuronosyltransferase-2B7, enzym chuyển hóa pha II của ticagrelor liên quan tới hiện tượng tăng nồng độ ticagrelor và các chất chuyển hóa có hoạt tính của nó trong máu của bệnh nhân dùng thuốc. Tuy nhiên, chưa tìm thấy các bằng chứng lâm sàng của việc tăng nồng độ thuốc đi kèm theo tăng các biến chứng xuất huyết hoặc nhồi máu ở người dùng ticagrelor.

KẾT LUẬN

Trong các thuốc chống đông và chống kết tập tiểu cầu, mới chỉ hai thuốc kinh điển là warfarin và clopidogrel có nhiều dữ liệu về ảnh hưởng của đa hình gen tới đáp ứng điều trị, bao gồm cả dữ liệu nghiên cứu trên người Việt Nam. Các dữ liệu này đã đưa tới các hướng dẫn về lựa chọn thuốc và điều chỉnh liều trong lâm sàng cũng như những khuyến cáo cần thiết trên nhãn thuốc.

Với các thuốc còn lại trong hai nhóm điều trị này chủ yếu mới chỉ dùng ở mức độ nghiên cứu cơ bản, các kết quả nghiên cứu cho đến nay vẫn chưa chứng minh được mức độ ảnh hưởng đáng kể của đa hình gen lên đáp ứng điều trị.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đào Văn Đôn (2019), Ảnh hưởng của đa hình CYP2C19 tới độ ngưng tập tiểu cầu trên bệnh nhân sử dụng clopidogrel điều trị nhồi máu cơ tim cấp có ST chênh tại Bệnh viện Quân y 103, Tạp chí Y học Việt Nam 1(481), 210-213.
2. Nhung Phuong Vu (2019), CYP2C19 genetic polymorphism in the Vietnamese population, *Annals Of Human Biology*. 2019, Vol. 46, No. 6, 491-497.
3. Thuy Thi Pham (2019), VKORC1 and CYP2C9*3 Polymorphisms and Their Impacts to Acenocoumarol Dosage in Vietnamese Heart Valve Replacement Patients†1, *Walailak J Sci & Tech.* 2019; 16(3): 207-215.
4. Johnson JA et al (2017), Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for Pharmacogenetics-Guided Warfarin Dosing: 2017 Update, *Clin Pharmacol Ther.* 2017 Sep;102(3):397-404.
5. Melissa D. Klein (2019), Clinical Utility of *CYP2C19* Genotyping to Guide Antiplatelet Therapy in Patients With an Acute Coronary Syndrome or Undergoing Percutaneous Coronary Intervention, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, DOI: 10.1161/ATVBAHA.118.311963.

Chương 11

DÙNG THUỐC THEO CÁ THỂ ĐỐI VỚI THUỐC ĐIỀU TRỊ ĐÁI THÁO ĐƯỜNG

MỤC TIÊU HỌC TẬP

Phân tích được khả năng ứng dụng của gen được trong dùng thuốc theo cá thể đối với các thuốc điều trị đái tháo đường.

Cho đến nay, điều trị đái tháo đường (ĐTĐ) typ 1 vẫn chủ yếu dựa vào insulin với nhiều dạng bào chế khác nhau. Các nghiên cứu về gen trong ĐTĐ typ 1 hầu hết tập trung vào các gen liên quan đến bệnh sinh ĐTĐ, hầu như chưa có những nghiên cứu về ảnh hưởng của đa hình gen đến đáp ứng điều trị với insulin. Các nghiên cứu về dùng thuốc theo cá thể chủ yếu tập trung vào thuốc điều trị ĐTĐ typ 2.

Bên cạnh những biện pháp điều trị thông qua thay đổi chế độ ăn uống, sinh hoạt, cho đến nay, đã có nhiều thuốc hạ glucose máu đường uống được sử dụng trong điều trị ĐTĐ typ 2. Tuy nhiên, nhiều nghiên cứu cho thấy chỉ khoảng 53% bệnh nhân ĐTĐ typ 2 dùng các thuốc hạ glucose đường uống có đáp ứng điều trị tốt, giảm được HbA1c xuống dưới 7%. Có sự dao động về cả hiệu quả điều trị và tác dụng không mong muốn giữa các bệnh nhân. Thực tế này do nhiều nguyên nhân khác nhau, bao gồm cả các yếu tố sinh học như khả năng tiếp cận với dịch vụ y tế, nghiệp vụ kê đơn của thầy thuốc và các yếu tố sinh học như tuổi, giới, trọng lượng cơ thể, sự khác biệt về chức năng gan, thận, ruột... cũng như sự khác biệt về di truyền. Dưới đây là tổng hợp những kết quả nghiên cứu về cá thể hóa điều trị liên quan đến một số thuốc điều trị ĐTĐ typ 2 phổ biến nhất.

1. METFORMIN

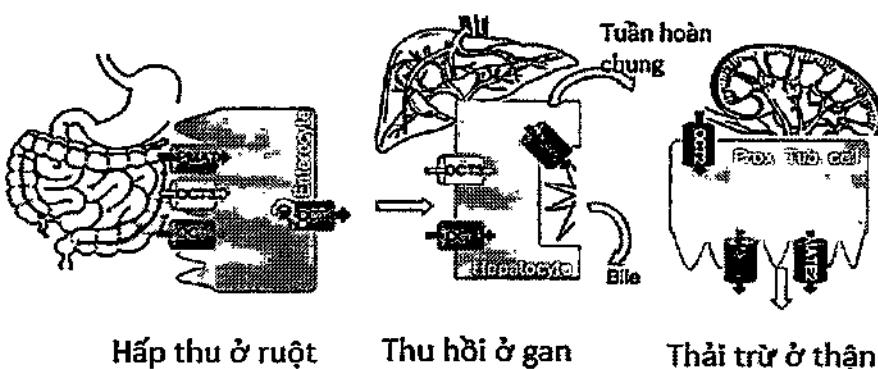
Metformin là thuốc được dùng rộng rãi trong điều trị ĐTĐ typ 2. Tuy nhiên, có khoảng 1/3 người dùng metformin không đạt được mức kiểm soát glucose máu cần thiết. Bên cạnh đó, gần 63% bệnh nhân gặp rối loạn tiêu hóa, khoảng 5 - 10% phải ngưng dùng thuốc.

Ở pH sinh lý của cơ thể, metformin tích điện dương, do đó, khó qua được các màng sinh học mà phải nhờ các protein vận chuyển. Ở gan, mô đích quan trọng của metformin, thuốc vào tế bào gan thông qua organic cation transporter 1 (OCT1), một protein vận chuyển ở tế bào gan (Hình 11.1). Một số nghiên cứu đã chứng minh có sự liên quan giữa những kiểu gen mang biến thể của gen *SLC22C1* (gen mã hóa OCT1) với đáp ứng điều trị bởi metformin, tùy từng loại đa hình sẽ có thể làm thay đổi đáp ứng điều trị theo một

cách khác nhau. Một nghiên cứu sử dụng test dung nạp glucose đường uống với các bệnh nhân điều trị bằng metformin cho thấy những người mang biến thể gen mã hóa OCT1 làm giảm chức năng bơm vận chuyển này có AUC glucose cao hơn đáng kể những người mang kiểu gen bình thường. Trong nghiên cứu này, vai trò của biến thể gen mã hóa OCT1 đối với đáp ứng điều trị bởi metformin không chỉ làm giảm hiệu quả kiểm soát glucose máu mà còn làm tăng nguy cơ tác dụng không mong muốn khi dùng thuốc. Một nghiên cứu khác tiến hành trên 2166 bệnh nhân ĐTD typ 2 dùng metformin cho thấy các bệnh nhân có kiểu gen mang alen biến thể làm giảm chức năng OCT1 có nguy cơ bị tác dụng không mong muốn trên hệ tiêu hóa cao gấp 2,4 lần những người mang kiểu gen bình thường.

Bên cạnh OCT1, OCT2 là bơm vận chuyển biểu hiện nhiều ở màng đáy của tế bào ống thận, đóng vai trò quan trọng (80%) trong thanh thải của metformin qua thận. Một số nghiên cứu trên người khỏe mạnh cũng như bệnh nhân ĐTD cho thấy, mối liên quan giữa biến thể gen làm giảm chức năng OCT2 với hiện tượng tăng nồng độ huyêt tương và giảm độ thanh thải của metformin. Một nghiên cứu trên 209 bệnh nhân ĐTD ở Trung Quốc, dùng metformin hàng ngày với liều 1500 mg/ngày trong vòng 1 năm cho thấy mục tiêu điều trị làm giảm HbA1c ở những người mang kiểu gen OCT2 mang cả 2 alen làm giảm chức năng của bơm này đạt được tốt hơn so với người mang kiểu gen bình thường.

Ngoài các OCT, MATE1 (Multidrug and toxin extrusion 1) là một loại protein vận chuyển biểu hiện nhiều ở màng đỉnh của tế bào biểu mô thận, cũng đóng vai trò quan trọng trong sự bài xuất của metformin ra đường nước tiểu. Một nghiên cứu đã ghi nhận những người mang cả 2 alen biến thể làm giảm chức năng MATE1 (rs2289669G>A) đều xuất hiện giảm thanh thải metformin. Một vài nghiên cứu khác đã khẳng định mối liên quan giữa biến thể này với sự tăng hiệu quả giảm HbA1c bởi metformin.



Hình 11.1. Vai trò của các loại protein vận chuyển trong sự hấp thu, phân bố, thải trừ của metformin

Mức độ ảnh hưởng của các biến thể gen liên quan đến sự vận chuyển, phân bố, đào thải metformin càng thể hiện rõ khi có sự xuất hiện đồng thời các alen biến thể của các

gen đó trong cùng một cá thể. Trong một nghiên cứu năm 2013, trong khi biến thể c.808 (rs316019) của gen mã hóa OCT2 không ảnh hưởng đáng kể đến sự đào thải metformin qua thận thì những người mang Haplotype gồm cả alen biến thể này và alen biến thể rs2252281 của gen *MATE1* có độ thanh thải tăng rõ rệt. Hiện tượng tương tự được ghi nhận với những người mang Haplotype gồm cả alen biến thể rs2252281 của gen *MATE1* và alen biến thể rs2289669 hoặc rs622342 của gen mã hóa OCT1, có mức độ giảm glucose máu sau dùng metformin tốt hơn những người mang kiểu gen bình thường. Một nghiên cứu khác phát hiện sự tương tác giữa hai biến thể của gen *MATE1* và *MATE2* làm tăng đáng kể bài xuất metformin qua thận. Như vậy, tùy từng loại alen biến thể và tương tác giữa các biến thể của các gen khác nhau mà sự ảnh hưởng đến đáp ứng điều trị bởi metformin rất khác biệt và phức tạp.

Trong khi đã có những bằng chứng về sự liên quan giữa kiểu gen của các gen tham gia vào quá trình được động học với đáp ứng điều trị của metformin thì với các gen tham gia vào quá trình được lực học, các kết quả còn gây nhiều tranh cãi. Cho đến nay, gen duy nhất được chứng minh trong một số nghiên cứu là có ảnh hưởng đến được lực học của metformin là gen *ATM* (ataxia telangiectasia mutated). Sự thay đổi hoạt tính ATM làm thay đổi hoạt tính AMPK - đích phân tử của metformin. Ngoài ra, các nghiên cứu trên chuột chuyên gen còn cho thấy vai trò của ATM đối với quá trình truyền tín hiệu của insulin và chức năng sản xuất insulin của tế bào beta. Một nghiên cứu trên 1.024 bệnh nhân ĐTDĐ typ 2 cho thấy có liên quan giữa alen biến thể rs11212617 của gen ATM với đáp ứng điều trị bởi metformin. Kết quả này được tái khẳng định với hai nghiên cứu cohort của Scotland (trên 1.783 người) và Anh (trên 1.113 người).

Bảng 11.1. Tổng hợp các biến thể gen có ảnh hưởng đến đáp ứng điều trị bởi metformin

Gen	Loại đột biến	Quy mô nghiên cứu	Sự thay đổi trong đáp ứng lâm sàng	Tác giả
<i>OCT1/SLC22A1</i>	R61C (rs12208357)	1531 bệnh nhân dùng metformin (GO-DARTS cohort)	Không ảnh hưởng tới kết quả điều trị	Zhou
	420del (rs72552763)	159 bệnh nhân điều trị metformin trong 9 tháng	Giảm nồng độ thuốc trong huyết tương	Christensen
	G401S (rs3413095)		Giảm HbA1c	Christensen
	Rs461473			

Gen	Loại đa hình	Quy mô nghiên cứu	Sự thay đổi trong đáp ứng lâm sàng	Tác giả
<i>OCT2/SLC22A2</i>	c.808G>T (rs316019)	400 bệnh nhân Trung Quốc dùng metformin	Nồng độ acid lactic huyết tương tăng	Li
	A270S	Người khỏe mạnh dùng liều đơn	Tăng thanh thiếu qua thận	Christensen
	T201M (rs145450955)	40 bệnh nhân điều trị bằng metformin	Tăng glucose máu, HbA1c, tăng kháng insulin	Kashi
<i>MATE1/SCL47A1</i>	Rs2289669 G>A	116 bệnh nhân dùng metformin	Tăng hiệu quả giảm HbA1c	Becker
		220 người da trắng điều trị bằng metformin trong 12 tháng	Tăng hiệu quả giảm HbA1c Tăng nồng độ thuốc trong huyết tương Giảm thanh thiếu qua thận	He
		103 người da trắng khỏe mạnh dùng liều đơn	Không khác biệt về độ thanh thiếu qua thận	Tzvetkov
		159 bệnh nhân dùng metformin trong 9 tháng	Không khác biệt về nồng độ thuốc trong huyết tương và nồng độ HbA1c	Christensen
	Rs8065082G>A	900 người tiền đái tháo đường dùng metformin	Giảm hiệu quả giảm glucose máu và dung nạp glucose	Jablonski
		148 bệnh nhân điều trị bằng metformin trong 6 tháng	Tăng hiệu quả giảm HbA1c	Tkas

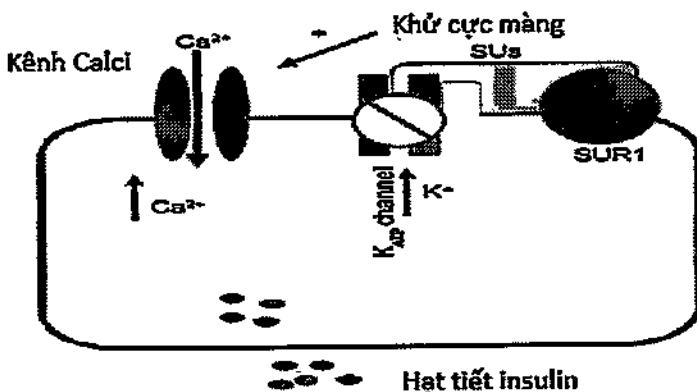
Gen	Loại đột biến	Quy mô nghiên cứu	Sự thay đổi trong đáp ứng lâm sàng	Tác giả
	g.66T>C	249 bệnh nhân da trắng và da đen dùng metformin	Tăng hiệu quả giảm HbA1c	Stocker
		57 người khỏe mạnh dùng 2 liều metformin	Tăng hiệu quả tăng dung nạp glucose	Stocker
<i>MATE1/SCL47A1</i>	g.130G>A	57 người khỏe mạnh dùng 2 liều metformin	Tăng thanh thải qua thận Giảm hiệu quả về dung nạp glucose	Stocker
		253 bệnh nhân da trắng và da đen dùng metformin	Giảm hiệu quả về HbA1c	Choi
<i>ATM</i>	Rs11212617	3920 bệnh nhân dùng metformin	Tăng đáp ứng với metformin	Zhou
		929+182+254 bệnh nhân dùng metformin	Tăng đáp ứng với metformin	Van Leeuwen

2. SULFONYLUREA

Sự dao động về đáp ứng với các sulfonylurea cũng đã được ghi nhận từ lâu, với khoảng 10 - 20% bệnh nhân không đạt hiệu quả giảm glucose máu tối thiểu 20 mg/dL. Bên cạnh ảnh hưởng của các yếu tố lâm sàng như mức glucose máu trước khi điều trị, thời gian mắc bệnh, chức năng tế bào beta, mức độ kháng insulin của bệnh nhân, sự khác biệt về gen di truyền cũng là một yếu tố ảnh hưởng đáng kể tới cả dược động học và dược lực học của thuốc.

Các sulfonylurea được chuyển hóa chủ yếu ở gan bởi CYP2C9, do đó, kiểu gen *CYP2C9* của bệnh nhân có ảnh hưởng đáng kể tới nồng độ thuốc trong máu. Một nghiên cứu trên người tình nguyện khỏe mạnh mang kiểu gen đồng hợp tử *CYP2C9*3/*3* hoặc *CYP2C9*2/*2* làm giảm độ thanh thải glyburid lần lượt là 50% và 10%, đi kèm với tăng rõ rệt AUC và T1/2. Một nghiên cứu với tolbutamid cũng cho kết quả tương tự. Đối với

sulfonylurea thế hệ 2, những bệnh nhân mang kiểu gen *CYP2C9* *3/*3 hoặc *3/*1 có AUC glimepirid tăng lần lượt 40% và 30% so với kiểu gen *1/*1. Những ảnh hưởng trên chuyển hóa và thái trù của sulfonylurea thông qua biến thể gen *CYP2C9* đã dẫn đến những thay đổi về đáp ứng thuốc trên lâm sàng. Một nghiên cứu quy mô lớn trên 1073 bệnh nhân dùng sulfonylurea cho thấy những người mang kiểu gen chứa alen *CYP2C9**2 hoặc *CYP2C9**3 dễ đạt được mục tiêu điều trị hơn gấp 3 - 4 lần, HbA1c giảm nhiều hơn 0,5% so với người mang kiểu gen bình thường. Một nghiên cứu khác với 172 bệnh nhân dùng tolbutamid đã chỉ ra những người mang alen *CYP2C9**3 trong kiểu gen cần liều tolbutamid thấp hơn để đạt được cùng một mức độ kiểm soát glucose máu. Một báo cáo tương tự thu được từ nghiên cứu trên người Nhật Bản dùng glimepirid. Những kết quả này có thể giúp *CYP2C9* trở thành một marker giúp lựa chọn thuốc phù hợp cho bệnh nhân ĐTD typ 2.



Hình 11.2. Cơ chế tác dụng của sulfonylurea

Bên cạnh các yếu tố được động học, ảnh hưởng của các gen và protein liên quan đến được lực học của sulfonylurea đối với đáp ứng điều trị cũng được quan tâm nghiên cứu. Sulfonylurea làm tăng giải phóng insulin phụ thuộc glucose bằng cách gắn vào kênh kali nhạy cảm với ATP (kênh K_{ATP}) (Hình 11.2). Kênh này gồm 4 tiểu đơn vị SUR1 (sulfonylurea receptor) và 4 tiểu đơn vị Kir 6.2 (Potassium inward rectifier channel). Để phát huy tác dụng, thuốc gắn vào cả hai loại protein đích này, úc chế kênh kali, gây khử cực màng dẫn đến mở kênh Ca phụ thuộc điện thế. Dòng Ca⁺⁺ đi vào tế bào làm tăng nồng độ Ca⁺⁺ nội bào, đây là tín hiệu kích thích giải phóng insulin dự trữ trong các hạt tiết của tế bào beta.

Sau khi phát hiện vai trò quan trọng của SUR1 và Kir6.2 trong cơ chế hoạt động của sulfonylurea, người ta tiếp tục tìm hiểu vai trò của các gen mã hóa hai protein này đối với đáp ứng điều trị. Một nghiên cứu trên 115 người Trung Quốc dùng gliclazid trong 8 tuần cho thấy kiểu gen mang SNP rs757110 (A1369S) của gen *ABCC8* (mã hóa SUR1) đạt hiệu quả giảm HbA1c tốt hơn so với kiểu gen bình thường. Một nghiên cứu khác cũng

cho kết quả tương tự khi đánh giá hiệu quả điều trị với gliclazid bằng mức glucose máu lúc đói và test dung nạp glucose đường uống. Một biến thể thường gặp của gen *KCNJ11* (mã hóa Kir6.2) là rs5219 (E23K) cũng được chứng minh là có ảnh hưởng đến đáp ứng của sulfonylurea. Một nghiên cứu trên 101 bệnh nhân ĐTD typ 2 da trắng dùng sulfonylurea sau khi dùng metformin cho thấy sau 6 tháng điều trị, người mang kiểu gen gồm cả 2 alen biến thể (KK) có mức giảm HbA1c tốt hơn người mang kiểu gen bình thường (EE). Một nghiên cứu trên 108 bệnh nhân ĐTD typ 2 Trung Quốc cũng cho kết quả tương tự với gliclazid MR sau 16 tuần điều trị.

Bảng 11.2. Tổng hợp các biến thể gen có ảnh hưởng đến đáp ứng điều trị bởi sulfonylurea

Gen	Loại đột biến	Quy mô nghiên cứu	Sự thay đổi trong đáp ứng lâm sàng	Tác giả
<i>KCNJ11</i>	E23K	101 bệnh nhân điều trị bằng metformin + sulfonylurea trong 6 tháng	Tăng hiệu quả về HbA1c	Javorsky
		525 bệnh nhân dùng glibenclamid hoặc glibenclamid + metformin	Giảm hiệu quả điều trị	Sesti
		278 bệnh nhân không béo phì dùng metformin + sulfonylurea	Giảm hiệu quả điều trị	Shimajiri
<i>ABCC8</i>	S1369A	1268 bệnh nhân dùng gliclazid trong 8 tuần	Tăng hiệu quả về HbA1c, glucose máu và dung nạp glucose	Feng
		115 bệnh nhân dùng gliclazid trong 8 tuần	Tăng hiệu quả về HbA1c	Zhang
<i>TCF7L2</i>	Rs12255372	901 bệnh nhân dùng sulfonylurea	Giảm hiệu quả điều trị ở nhóm đồng hợp tử TT	Pearson
	Rs7903146	189 bệnh nhân dùng sulfonylurea	Giảm hiệu quả điều trị ở nhóm đồng hợp tử TT	Holstein

Gen	Loại đa hình	Quy mô nghiên cứu	Sự thay đổi trong đáp ứng lâm sàng	Tác giả
<i>CYP2C9</i>	Rs16889462 (*2) Rs1057910 (*3)	1.073 bệnh nhân dùng sulfonylurea, chủ yếu là gliclazid	Tăng hiệu quả điều trị ở nhóm mang kiểu gen biến thể	Zhou
		475 bệnh nhân dùng sulfonylurea	Tăng hiệu quả điều trị ở nhóm mang kiểu gen biến thể	Becker

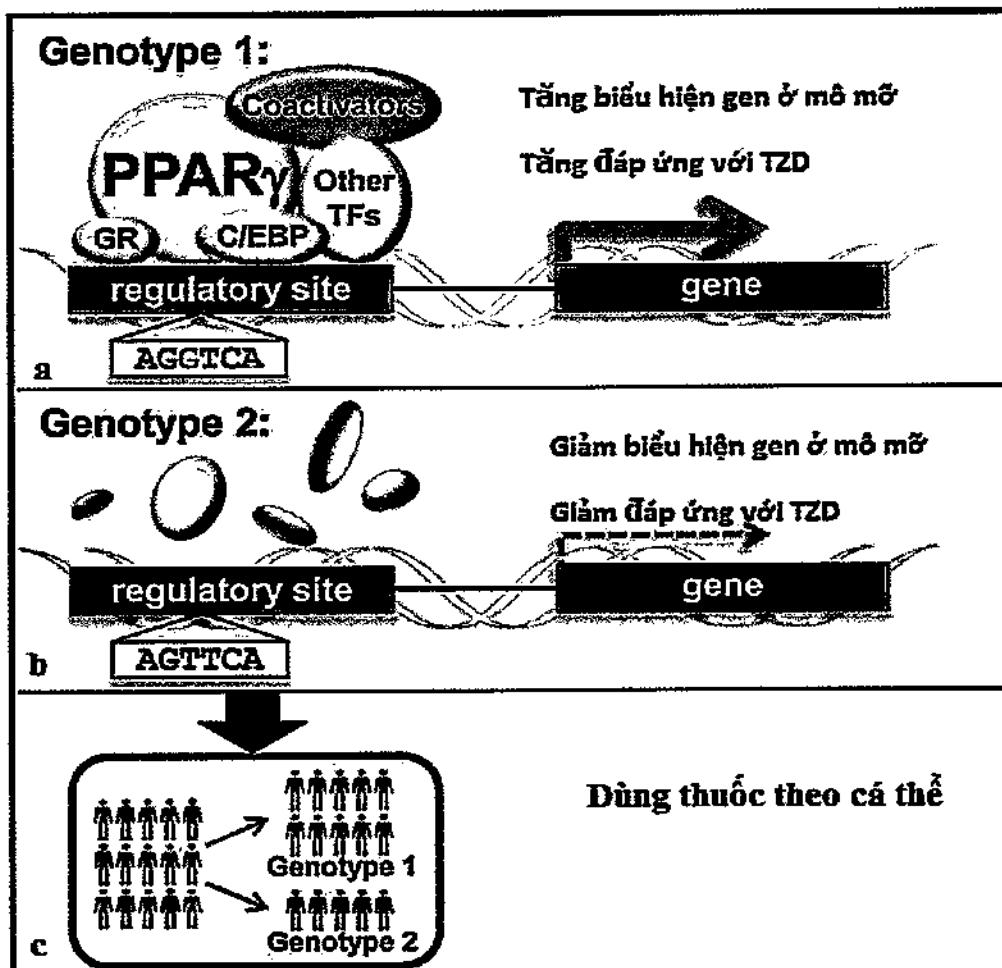
3. THIAZOLIDINDION

Đây là nhóm thuốc điều trị ĐTD typ 2 tác động theo cơ chế tăng cường nhạy cảm với insulin của 3 mô đích chính là gan, cơ và mỡ. Các thiazolidindion (TZD) được chuyển hóa ở gan chủ yếu bởi CYP2C8. Do đó, enzym này và gen mã hóa nó có ảnh hưởng tới nồng độ thuốc trong huyết tương. Một nghiên cứu trên người tình nguyện khỏe mạnh cho thấy người mang kiểu gen đồng hợp tử chứa 2 alen biến thể *CYP2C8*3* có nồng độ rosiglitazon huyết tương thấp hơn 36%. Hai nghiên cứu khác với pioglitazon cũng cho kết quả tương tự.

Đích phân tử của TZD là receptor PPAR- γ , bằng cách gắn và hoạt hóa receptor này, TZD điều hòa phiên mã các gen tham gia chuyển hóa glucid và lipid. Do vậy, gen *PPARG* (gen mã hóa PPAR- γ) cũng là một gen được quan tâm trong các nghiên cứu gen được liên quan đến TZD (Hình 11.13). Biến thể thường gặp nhất của gen này là SNP rs1801282 (P12A), dẫn đến thay thế Pro bằng Ala ở vị trí 12 trong chuỗi peptid của receptor, làm thay đổi cấu trúc và chức năng của PPAR. Biến thể này đã được ghi nhận mối liên quan với đáp ứng điều trị của 250 bệnh nhân dùng pioglitazon trong vòng 24 tuần. Những người mang alen P12A có đáp ứng tốt hơn trong mục tiêu giảm HbA1c và glucose máu lúc đói gấp hơn 2 lần so với người mang kiểu gen thông thường. Một nghiên cứu khác trên 67 bệnh nhân dùng pioglitazon và 198 bệnh nhân dùng rosiglitazon cũng cho thấy mối liên quan theo cùng xu hướng.

Một trong những vấn đề đáng chú ý khi dùng TZD là tác dụng không mong muốn đáng kể. Năm 2000, troglitazon bị rút khỏi thị trường toàn thế giới do độc tính trên gan, rosiglitazon cũng đã bị rút khỏi châu Âu và giám sát chặt chẽ ở Mỹ do liên quan đến nguy cơ tim mạch. Thậm chí, Pháp và Đức cũng đang nghi ngờ pioglitazon có liên quan đến tăng nguy cơ ung thư bàng quang. Vì vậy, đã có nhiều nghiên cứu về ảnh hưởng của kiểu gen khác nhau đến nguy cơ tác dụng không mong muốn khi dùng TZD. Một nghiên cứu sàng lọc 68 SNP của 51 gen nghiên cứu liên quan đến TDKMM trên 110 bệnh nhân Nhật Bản cho thấy kiểu gen mang cả hai alen giảm chức năng của hai gen *glutathione-S-*

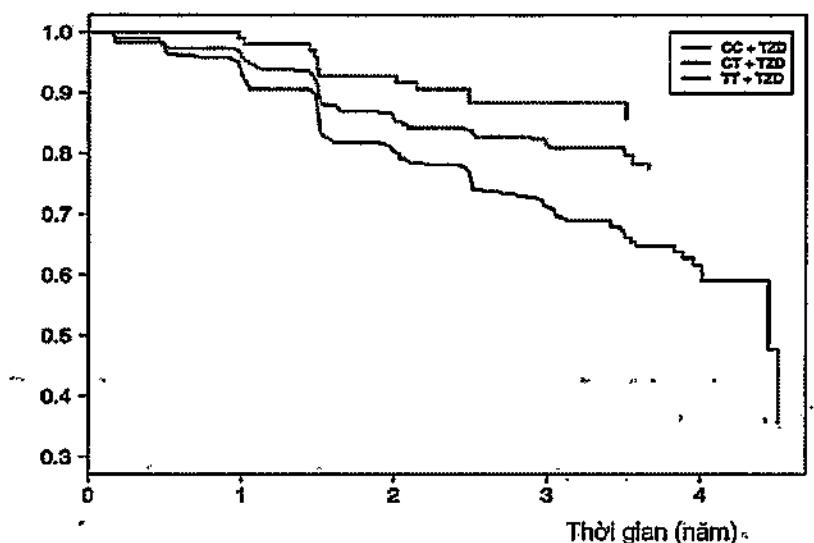
transferase theta-1 và *glutathion-S-transferase mu-1* có liên quan đến độc tính trên gan do troglitazon. Đây là hai gen mã hóa cho các enzym tham gia vào quá trình giải độc ở gan. Một nghiên cứu khác của Nhật đã ghi nhận sự liên quan của biến thể gen *CYP2C19* với nguy cơ tổn thương gan do troglitazon. Năm 2010, một nghiên cứu của Canada trên 4197 bệnh nhân dùng rosiglitazon, sau khi sàng lọc 32088 SNP đã phát hiện SNP rs6123045 của gen *NFATC2* có liên quan đến nguy cơ phù ngoại vi do rosiglitazon. *NFATC2* (Nuclear Factor of Activated T-cells, Cytoplasmic, Calcineurin-Dependent 2) là một gen liên quan đến hoạt động của hệ miễn dịch. Kiểu gen mang ít nhất một allele biến thể của *NFATC2* (CC hoặc TT) có nguy cơ phù cao hơn kiểu gen wildtype (TT) (Hình 11.4)



Hình 11.3. Mô hình dùng thuốc theo cá thể dựa trên kiểu gen PPARG

a) Kiểu gen bình thường: Thuốc gắn được vào receptor *PPAR γ* dẫn đến điều hòa biểu hiện gen ở mô mỡ theo hướng làm giảm kháng insulin; b) Kiểu gen mang SNP: Thuốc không gắn được vào receptor *PPAR γ* , giảm đáp ứng điều trị; c) Sàng lọc kiểu gen *PPARG* có thể lựa chọn được những người đáp ứng tốt với TZD

Tỷ lệ không bị phù



Hình 11.4. So sánh tỷ lệ không bị phù do rosiglitazon giữa các kiểu gen khác nhau của gen NFATC2

Bảng 11.3. Tổng hợp các biến thể gen có ảnh hưởng đến đáp ứng điều trị bởi thiazolidindion

Gen	Loại đa hình	Quy mô nghiên cứu	Sự thay đổi trong đáp ứng lâm sàng	Tác giả
CYP2C8	R139K (rs11572080)	31 người khỏe mạnh dùng liều đơn hoặc liều đa rosiglitazon	Tăng thanh thải thuốc, không ảnh hưởng đến glucose máu	Kirchheimer
	K399R (rs10509681)	187 bệnh nhân dùng rosiglitazon + insulin trong 24 tháng	Giảm nồng độ thuốc trong huyết tương, giảm hiệu quả trên HbA1c	Stage
UGT2B15	D85Y	644 bệnh nhân dùng sitagliptin hoặc rosiglitazon trong 3 tháng	Tăng hiệu quả, giảm liều dùng cần thiết	Stringer

Gen	Loại đột biến	Quy mô nghiên cứu	Sự thay đổi trong đáp ứng lâm sàng	Tác giả
<i>PPARγ</i>	P12A (rs1801282)	189 bệnh nhân dùng rosiglitazon trong 12 tháng	Tăng hiệu quả điều trị về HbA1c và glucose máu	Kang
		250 bệnh nhân Trung Quốc dùng pioglitazon trong 24 tháng	Tăng hiệu quả điều trị về glucose máu	Hsieh
		101 bệnh nhân Iran dùng pioglitazon trong 12 tuần	Tăng hiệu quả điều trị	Namvaran
ACDC	45T>G (rs2241766)	80 bệnh nhân Trung Quốc dùng pioglitazon trong 12 tuần	Giảm hiệu quả điều trị về HbA1c và glucose máu (chủ yếu ở người đồng hợp tử)	Yang
		101 bệnh nhân Iran dùng pioglitazon trong 12 tuần	Không thay đổi đáp ứng điều trị	Namvaran
	276G>T	166 bệnh nhân dùng pioglitazon trong 12 tuần	Giảm hiệu quả về HbA1c và glucose máu	Kang
PGC-1 α	G482S (rs8192678)	41 bệnh nhân dùng rosiglitazon trong 12 tuần	Giảm hiệu quả về HbA1c và tăng kháng insulin	Zhang
<i>UCP2</i>	866G>A	199 bệnh nhân Trung Quốc dùng rosiglitazon trong 12 tuần	Tăng hiệu quả về HbA1c	Yang

4. CÁC THUỐC HẠ GLUCOSE MÁU ĐƯỜNG UỐNG KHÁC

Bên cạnh các nhóm thuốc kể trên, hiện nay đã có một số nhóm thuốc hạ glucose máu đường uống mới. Mặc dù thời gian sử dụng trên lâm sàng chưa nhiều nhưng đã có những nghiên cứu bước đầu về ảnh hưởng của gen di truyền đến đáp ứng với các nhóm thuốc mới này.

Một trong những hướng điều trị ĐTD theo cơ chế tăng insulin nội sinh là thông qua hiệu ứng incretin. Các chất đồng vận trên thụ thể Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) có tác dụng tương tự GLP-1 nội sinh, làm tăng tiết insulin phụ thuộc nồng độ glucose từ tuyến tụy. Một nghiên cứu trên người tình nguyện châu Âu cho thấy có sự khác biệt đáng kể trong đáp ứng tiết insulin với các chất chủ vận GLP-1 ngoại sinh giữa những người mang 2 alen biến thể của gen *GLP-1R* (mã hóa receptor của GLP-1). Cụ thể là với SNP rs6923761 G>A (được tìm thấy ở 29% người da trắng châu Âu), những người mang kiểu gen đồng hợp tử wildtype có lượng insulin sản xuất từ tế bào beta tăng 15% so với kiểu gen mang ít nhất 1 alen rs6923761 G>A. Ngược lại, với SNP rs3765467C>T, kiểu gen đồng hợp tử hoặc dị hợp tử mang alen biến thể này có lượng insulin nội sinh tăng 100% so với kiểu gen bình thường. Không chỉ ảnh hưởng đến đáp ứng điều trị của các chất chủ vận receptor GLP-1, SNP rs6923761 G>A còn làm thay đổi hiệu quả điều trị với một nhóm thuốc có liên quan đến hiệu ứng incretin là các chất ức chế DPP4. Trong một nghiên cứu trên 246 bệnh nhân ĐTD typ 2 tại Hàn Quốc điều trị trong vòng 24 tuần, những người có kiểu gen mang ít nhất 1 alen biến thể rs6923761 G>A có HbA1c cao hơn hẳn những người mang kiểu gen wildtype (GG).

KẾT LUẬN

Vิệc ứng dụng gen được trong cá thể hóa điều trị bệnh đái tháo đường còn rất hạn chế, chủ yếu mới dừng ở giai đoạn nghiên cứu. Các kết quả nghiên cứu cho thấy chưa có một cặp gen - thuốc nào thực sự có liên quan đáng kể. Rất có thể đáp ứng điều trị của các thuốc đái tháo đường không phụ thuộc vào một gen mà vào nhiều gen khác nhau cũng như phụ thuộc vào nhiều yếu tố lâm sàng khác.

TÀI LIỆU THAM KHÁO

1. Mannino GC, Andreozzi F, Sesti G (2019) Pharmacogenetics of type 2 diabetes mellitus, the route toward tailored medicine, *Diabetes Metab Res Rev.* 2019 Mar;35(3).
2. Nisa M. Maruthur, The Pharmacogenetics of Type 2 Diabetes: A Systematic Review, *Diabetes Care* 2014 Mar; 37(3): 876-886.
3. Lam F. (2019), Chapter 9 - The Role of Pharmacogenomics in Diabetes, Pharmacogenomics (Second Edition) Chalenges and Opportunities in *Therapeutic Implementation* 2019, Pages 247-269.

Chương 12

DÙNG THUỐC THEO CÁ THỂ ĐỐI VỚI THUỐC HƯỚNG THẦN

MỤC TIÊU HỌC TẬP

Phân tích được khả năng ứng dụng của gen được trong dùng thuốc theo cá thể đối với các thuốc chống loạn thần và thuốc chống trầm cảm.

Theo WHO, các rối loạn tâm thần, thần kinh được xếp vào hàng thứ hai trong các nguyên nhân gây tàn tật, sau các bệnh tim mạch. Một vấn đề lớn trong điều trị các rối loạn này là sự không tuân thủ y lệnh, dẫn đến tái phát và giảm chất lượng cuộc sống. Nguyên nhân chủ yếu của tình trạng này là các tác dụng không mong muốn đáng kể gặp phải khi dùng thuốc hướng thần. Bệnh nhân dùng thuốc hướng thần có nguy cơ béo phì tăng gấp 2 lần, tăng nguy cơ rối loạn lipid máu, không dung nạp glucose, đái tháo đường typ 2 và các bệnh tim mạch. Hội chứng ngoại tháp và rối loạn chức năng tình dục cũng là những tác dụng không mong muốn thường gặp khi dùng thuốc hướng thần. Ngoài ra còn một số loại tác dụng không mong muốn đe dọa tính mạng người bệnh như: Hội chứng tự tử do thuốc, quá mẫn, phản vệ...

Đa hình di truyền được cho là đóng một vai trò quan trọng trong sự nhạy cảm với nguy cơ tác dụng không mong muốn, chiếm 20 - 95% nguyên nhân gây ra dao động về được động học và được lực học, khoảng 50% các trường hợp tác dụng không mong muốn khi dùng thuốc điều trị rối loạn thần kinh trung ương. Các nghiên cứu trên các cặp sinh đôi cùng trứng cho thấy đa hình di truyền là nguyên nhân của 60 - 80% các trường hợp khác biệt về tác dụng tăng cân khi dùng thuốc chống loạn thần. Thông tin về di truyền có thể mang lại nhiều lợi ích khi giúp lựa chọn thuốc hướng thần phù hợp cho từng cá thể bệnh nhân. Dưới đây là một số ví dụ về dùng thuốc theo cá thể đối với một số nhóm thuốc hướng thần cụ thể.

Bảng 12.1. Các nhóm thuốc hướng thần

- Thuốc chống loạn thần
- Thuốc chống trầm cảm
- Thuốc bình thần
- Thuốc giải lo âu
- Các thuốc khác (chất kích thích, thuốc điều trị nghiện ma túy...)

1. DÙNG THUỐC THEO CÁ THỂ ĐỐI VỚI CÁC THUỐC CHỐNG LOẠN THẦN

Đa hình di truyền liên quan đến các đích của thuốc chống loạn thần có ảnh hưởng lớn đến sự dao động về hiệu quả điều trị. Nhiều nghiên cứu đã tập trung vào các gen trong hệ thống dẫn truyền thần kinh thông qua receptor dopaminergic và serotonergic. Kết quả cho thấy mối liên quan chặt chẽ giữa đa hình gen mã hóa receptor Dopamin D2 (*DRD2*), Dopamin D3 (*DRD3*), serotonin 1A (*HTR1A*), serotonin 2A (*HTR2A*) với đáp ứng điều trị loạn thần (Bảng 12.2). Bên cạnh các gen trực tiếp liên quan tới hệ thống truyền tín hiệu, gen mã hóa protein chứa ngón tay kẽm (*ZNF*)*804A* cũng là một gen được chú ý nhiều trong các nghiên cứu GWAS. Alen biến thể của gen này ((*ZNF*)*804A* - rs1344706) liên quan đến các bất thường về kết nối thông tin não ở các bệnh nhân tâm thần phân liệt. Người ta chưa biết cơ chế chính xác của sự liên quan giữa chức năng sinh học của protein này với hoạt động não.

Bảng 12.2. Các đa hình gen liên quan đến thay đổi hiệu quả điều trị của thuốc chống loạn thần

Gen	SNP	Kết quả lâm sàng	OR	Thay đổi về chức năng protein
<i>DRD2</i>	141C del	Thay đổi đáp ứng có ý nghĩa lâm sàng	0,65	Giảm biểu hiện protein
<i>DRD3</i>	Ser9Gly	Thay đổi đáp ứng có ý nghĩa lâm sàng	0,82	Giảm ái lực gắn ligand, giảm hiệu quả truyền tín
<i>HTR1A</i>	C1019G	Cải thiện các triệu chứng âm tính		Tăng biểu hiện HTR1A
<i>HTR2A</i>	T102C (rs6313)	Thay đổi đáp ứng có ý nghĩa lâm sàng	0,61	Giảm biểu hiện protein

Gen	SNP	Kết quả lâm sàng	OR	Thay đổi về chức năng protein
	His452Tyr (rs6314)	Thay đổi đáp ứng có ý nghĩa lâm sàng	0,18	Giảm ái lực gắn ligand, giảm hiệu quả truyền tin
ZNF804A	Rs1344706	Cải thiện các triệu chứng dương tính	.	Tăng biểu hiện protein

Đa hình di truyền liên quan đến tác dụng không mong muốn của các thuốc chống loạn thần được quan tâm nhiều hơn so với các đa hình di truyền liên quan đến hiệu quả điều trị bởi đây là vấn đề lớn trong sử dụng nhóm thuốc này. Thống kê cho thấy tỷ lệ không tuân thủ phác đồ điều trị lên đến 42% ở bệnh nhân dùng thuốc điều trị tâm thần phân liệt. Lý do chủ yếu là các tác dụng không mong muốn, trong đó, đáng chú ý nhất là tác dụng tăng cân, rối loạn vận động muộn và mất bạch cầu hạt.

Tăng cân là một tác dụng không mong muốn nghiêm trọng và thường gặp trong dùng thuốc chống loạn thần, khoảng 30% bệnh nhân tăng trên 7% trọng lượng cơ thể. Nhiều bằng chứng cho thấy đa hình gen mã hóa receptor serotonin 2C (*HTR2C*) và melanocortin 4 (*MC4R*) có liên quan đến tăng cân do thuốc chống loạn thần. Các protein mà các gen này mã hóa đóng vai trò quan trọng trong điều hòa cảm giác thèm ăn và do đó có liên quan đến sự tăng cân.

Mất bạch cầu hạt là tác dụng không mong muốn hiếm gặp khi dùng clopazin, với tần suất khoảng 0,8 - 1,5% trong năm điều trị đầu tiên, nhưng có thể gây tử vong. Đây là nguyên nhân dẫn đến xu hướng giảm sử dụng clopazin mặc dù hiệu quả tốt trong điều trị tâm thần phân liệt. Nhiều nghiên cứu đã cho thấy một số allele biến thể của gen *HLA*, đặc biệt là allele *HLA-DQB1 rs113332494* có liên quan đến hiện tượng mất bạch cầu hạt khi dùng clopazin. Với vai trò đó, trên thị trường đã có kit thương mại PgxCredict: CLOPAZINE phục vụ cho việc xét nghiệm phát hiện allele biến thể này nhằm dự đoán nguy cơ mất bạch cầu hạt ở bệnh nhân có chỉ định dùng clopazin. Xét nghiệm này có độ nhạy 21% và độ đặc hiệu 98%.

Rối loạn vận động muộn là một loại rối loạn vận động toàn thân gặp phải ở 25% bệnh nhân điều trị lâu dài bằng các thuốc chống loạn thần thế hệ 1. Đã có những bằng chứng về ảnh hưởng của đa hình các gen *CYP2D6*, *DRD2* và *HTR2A* đến nguy cơ gặp phải tác dụng không mong muốn này.

Bảng 12.3. Các đa hình gen liên quan đến tác dụng không mong muốn khi dùng thuốc chống loạn thần

Gen	SNP	Kết quả lâm sàng	OR	Thay đổi về chức năng protein
<i>Liên quan đến tác dụng gây tăng cân</i>				
<i>HTR2C</i>	C759T	Tăng trên 7% trọng lượng cơ thể	5,4	Ảnh hưởng đến sự gắn yếu tố phiên mã vào promoter của gen, làm thay đổi biểu hiện protein
<i>MC4R</i>	rs489693	Tăng cân		Chưa rõ
<i>Liên quan đến tác dụng mất bạch cầu hạt</i>				
<i>HLA-DQBI</i>	G6672C	Giảm bạch cầu trung tính < 500/mm ³	16,9	Chưa rõ
<i>Liên quan đến rối loạn vận động muộn</i>				
<i>CYP2D6</i>	*3, *4, *5, *6, *10	Rối loạn vận động muộn	1,83	Giảm hoạt tính enzym
<i>DRD2</i>	Rs1800497	Rối loạn vận động muộn	1,3	Tăng số lượng receptor DRD2
<i>HTR2A</i>	T102C	Rối loạn vận động muộn	1,64	Giảm biểu hiện protein, giảm ái lực gắn ligand
<i>HSPG2</i>	Rs2445142	Rối loạn vận động muộn	2,09	Tăng biểu hiện protein

Cho đến nay, việc áp dụng dữ liệu kiểu gen vào lâm sàng đối với các thuốc chống loạn thần chủ yếu là với các enzym chuyển hóa CYP, đặc biệt là CYP2D6 và CYP2C19. Bảng 12.4 tổng hợp các khuyến cáo về điều chỉnh liều của thuốc chống loạn thần theo loại kiểu hình CYP mà FDA và Cơ quan Dược phẩm châu Âu (EMA) yêu cầu ghi trên nhãn thuốc.

Bảng 12.4. Khuyến cáo điều chỉnh liều của các thuốc chống loạn thần dựa trên kiểu hình enzym chuyển hóa

Thuốc	Enzym	Tỷ lệ thay đổi về liều dựa trên thay đổi về dược động học (%)				Thay đổi độc tính/ hiệu quả	Bằng chứng trong nghiên cứu lâm sàng	Thay đổi trong phác đồ điều trị
		PM	IM	EM	UM			
Thioridazin	CYP2D6	42	83	125	153	Chi có dữ liệu dược động học	Bằng chứng hạn chế về độc tính	Xem xét điều chỉnh liều
Aripiprazol	CYP2D6	66	90	115	139	Phạm vi điều trị rộng, không thay đổi về đáp ứng, ngoại trừ ở kiểu hình UM có thể làm giảm hiệu quả điều trị	Bằng chứng lâm sàng hạn chế	Xem xét điều chỉnh liều ở kiểu hình UM
Clopazin	CYP1A2					Không bị chuyển hóa bởi các CYP có tính đa hình	Không có bằng chứng lâm sàng	Không cần thiết
Risperidon	CYP2D6	56	88	119	146	Lo ngại về độ an toàn ở người kiểu hình PM	Có bằng chứng lâm sàng về hiệu quả và độc tính	Thay thuốc ở những người mang kiểu hình PM, UM, IM
Diazepam	CYP2C19	51	81	109	138	Chi có dữ liệu dược động học	Không có bằng chứng lâm sàng	Không có khuyến cáo
Atomoxetin	CYP2D6					Chi có dữ liệu dược động học sơ bộ, không đủ để tính toán điều chỉnh liều	Không có bằng chứng lâm sàng	Xem xét thuốc thay thế ở kiểu hình UM

2. DÙNG THUỐC THEO CÁ THỂ ĐỔI VỚI CÁC THUỐC CHỐNG TRẦM CẨM

Khoảng 30% bệnh nhân trầm cảm không hồi phục hoàn toàn sau nhiều phác đồ điều trị khác nhau. Đáp ứng điều trị chống trầm cảm phụ thuộc vào hai yếu tố quan trọng là đặc điểm lâm sàng và đặc điểm di truyền của bệnh nhân. Nhiều gen khác nhau đã được xác định là có ảnh hưởng đáng kể tới đáp ứng điều trị của thuốc chống trầm cảm, trong đó, 8 gen được trình bày dưới đây được các nghiên cứu GWAS ghi nhận là có ảnh hưởng lớn nhất.

Các thuốc hướng thần nói chung và thuốc chống trầm cảm nói riêng được chuyển hóa ở gan chủ yếu bởi hai enzym CYP2D6 và CYP2C19. Đây đều là những thuốc có phạm vi điều trị hẹp, do đó, sự đa hình của gen *CYP2D6* và *CYP2C19* có thể gây ra những thay đổi lớn về hoạt tính chuyển hóa thuốc và về nồng độ thuốc trong huyết tương, gây ra những thay đổi đáng kể về đáp ứng thuốc, đặc biệt là tác dụng không mong muốn. Với những ý nghĩa lâm sàng quan trọng và sự đa hình gen mã hóa, *CYP2D6* và *CYP2C19* trở thành những gen được nghiên cứu nhiều nhất trong mối liên quan với các thuốc hướng thần. Sự đa dạng về kiểu hình tương ứng với kiểu gen của hai enzym này được tổng hợp ở Bảng 12.5.

Một lý do khác khiến dữ liệu về kiểu gen *CYP2D6* và *CYP2C19* được ứng dụng nhiều trong lâm sàng là bởi xét nghiệm phát hiện biến thể của hai gen này rất thông dụng, với bộ kit AmpliChip CYP450 (Roche Molecular System). Đây là xét nghiệm gen được đầu tiên được FDA phê chuẩn để ứng dụng trong lâm sàng. Bộ kit này cho phép sàng lọc được 33 alen biến thể của *CYP2D6* và 3 alen biến thể của *CYP2C19*. Cùng với sự phê chuẩn bộ kit nói trên, năm 2005, FDA đã đưa ra khuyến cáo về việc bổ sung thông tin liên quan đến kiểu gen *CYP2D6* và *CYP2C19* trong nhãn thuốc của 20 thuốc hướng thần, trong đó chủ yếu là các thuốc chống trầm cảm ba vòng và thuốc ức chế thu hồi serotonin chọn lọc.

Dựa trên rất nhiều bằng chứng thu được từ các nghiên cứu lâm sàng về liên quan giữa kiểu gen, kiểu hình *CYP2D6* và *CYP2C19* với đáp ứng điều trị, Ủy ban Thực hành gen được trong lâm sàng đã đưa ra các hướng dẫn điều trị của một số thuốc chống trầm cảm ba vòng dựa trên kiểu hình của hai enzym này (Bảng 12.6 và Bảng 12.7).

Bảng 12.5. Đa dạng kiểu gen và kiểu hình CYP2D6 và CYP2C19

Kiểu hình	Ví dụ về sự tổ hợp alel trong kiểu gen
CYP2D6	
Chuyển hóa siêu nhanh - UM (1 - 2%)	(*1/*1)xN, (*1/*2)xN, (*2/*2)Xn
Chuyển hóa nhanh - EM (77 - 92%)	*1/*1, *1/*2, *1/*9, *1/*41, *41/*41, *1/*5, *1/*4
Chuyển hóa trung bình - IM (2 - 11%)	*4/*41, *5/*9, *4/*10
Chuyển hóa kém - PM (5 - 10%)	*4/*4, *3/*4, *5/*5, *5/*6
CYP2C19	
Chuyển hóa siêu nhanh - UM (5 - 30%)	*17/*17, *1/*17
Chuyển hóa nhanh - EM (35 - 50%)	*1/*1
Chuyển hóa trung bình - IM (18 - 45%)	*1/*2, *1/*3
Chuyển hóa kém - PM (2 - 15%)	*2/*2, *2/*3, *3/*3

Bảng 12.6. Hướng dẫn điều trị đối với amitriptylin và nortriptylin dựa trên kiểu hình CYP2D6 của CPIC

Kiểu hình	Ý nghĩa trong lâm sàng	Khuyến cáo về điều trị	Phân loại mức độ khuyến cáo
Chuyển hóa siêu nhanh	<ul style="list-style-type: none"> - Tăng chuyển hóa thành các hợp chất không có hoạt tính - Giảm nồng độ thuốc trong huyết tương 	<p>Tránh dùng thuốc chống trầm cảm ba vòng do có thể giảm hiệu quả điều trị, xem xét thay thế bằng các thuốc không chuyển hóa qua CYP2D6</p> <p>Nếu vẫn dùng chống trầm cảm ba vòng, cần xem xét tăng liều khởi đầu, cần theo dõi nồng độ thuốc để điều chỉnh liều</p>	Mạnh

Kiểu hình	Ý nghĩa trong lâm sàng	Khuyên cáo về điều trị	Phân loại mức độ khuyến cáo
Chuyển hóa nhanh	Chuyển hóa thuốc chống trầm cảm ba vòng ở giới hạn bình thường	Dùng liều tiêu chuẩn	Mạnh
Chuyển hóa trung bình	Giảm chuyển hóa thành các chất không có hoạt tính Tăng nồng độ thuốc trong huyết tương, có nguy cơ tăng tác dụng không mong muốn	Xem xét giảm 25% liều khởi đầu, theo dõi nồng độ thuốc để điều chỉnh liều	Trung bình
Chuyển hóa kém	Giảm đáng kể chuyển hóa thành các chất không có hoạt tính Tăng nồng độ thuốc trong huyết tương, có nguy cơ tăng tác dụng không mong muốn	Tránh dùng thuốc chống trầm cảm ba vòng do có thể giảm hiệu quả điều trị, xem xét thay thế bằng các thuốc không chuyển hóa qua CYP2D6 Nếu vẫn dùng chống trầm cảm ba vòng, cần xem xét giảm 50% liều khởi đầu, cần theo dõi nồng độ thuốc để điều chỉnh liều	Mạnh

Bảng 12.7. Hướng dẫn điều trị đối với amitryptylin dựa trên kiểu hình CYP2C19 của CPIC

Kiểu hình	Ý nghĩa trong lâm sàng	Khuyên cáo về điều trị	Phân loại mức độ khuyến cáo
Chuyển hóa siêu nhanh	Tăng chuyển hóa	Xem xét thay thế bằng các thuốc không chuyển hóa qua CYP2C19 Nếu vẫn dùng chống trầm cảm ba vòng, cần theo dõi nồng độ thuốc để điều chỉnh liều	Tùy ý

Kiểu hình	Ý nghĩa trong lâm sàng	Khuyến cáo về điều trị	Phân loại mức độ khuyến cáo
Chuyển hóa nhanh	Chuyển hóa thuốc ở giới hạn bình thường	Dùng liều tiêu chuẩn	Mạnh
Chuyển hóa trung bình	Giảm chuyển hóa	Khởi đầu với liều tiêu chuẩn	Mạnh
Chuyển hóa kém	Giảm đáng kể chuyển hóa thành các chất không có hoạt tính Tăng nồng độ thuốc trong huyết tương, có nguy cơ tăng tác dụng không mong muốn	Cần xem xét giảm 50% liều khởi đầu, cần theo dõi nồng độ thuốc để điều chỉnh liều	Trung bình

Bên cạnh các enzym chuyển hóa, đáp ứng với các thuốc chống trầm cảm còn bị ảnh hưởng bởi một yếu tố được động học là bơm P-gp. Đây là loại bơm tống thuốc chủ yếu qua hàng rào máu não, do đó, ảnh hưởng nhiều đến nồng độ trong não của nhiều thuốc chống trầm cảm như: citalopram, venlafaxin, despiramin, paroxetin và amitriptilin. Các nghiên cứu về liên quan giữa đa hình gen mã hóa P-gp (gen *MDR1* hay còn gọi là gen *ABCB1*) với đáp ứng của các thuốc chống trầm cảm cho kết quả rất trái ngược. Một phân tích meta dựa trên 16 nghiên cứu gen được đã kết luận có 2 SNP của gen này liên quan chặt chẽ tới hiệu quả điều trị trầm cảm bởi các thuốc là cơ chất của P-gp. Alen C (rs2032583) phổ biến ở người da trắng châu Âu và người Mỹ Latinh và alen T (rs2235015) phổ biến ở người Mỹ Latinh làm giảm tỷ lệ tái phát trầm cảm. Những trường hợp có đa hình về gen *ABCB1* có thể cần nhắc thay thế bằng một số thuốc chống trầm cảm không phải là cơ chất của P-gp như mirtazapin, bupropion và fluoxetin.

Bên cạnh các gen liên quan đến được động học, các gen liên quan đến đích tác dụng của thuốc chống trầm cảm cũng ảnh hưởng đến đáp ứng của thuốc. Gen *FKBP5* (FK506 binding protein 5) mã hóa cho một protein kiểm soát sự nhạy cảm của glucocorticoid receptor. Ngoài ra, protein này còn tham gia vào nhiều con đường truyền tín hiệu có thể ảnh hưởng tới bệnh sinh tâm thần kinh và hoạt tính chống trầm cảm của thuốc. Một số đa hình gen *FKBP5* đã được chứng minh có liên quan tới hiệu quả của nhiều loại thuốc chống trầm cảm khác nhau. Một phân tích meta cho thấy hai biến thể rs1360780 và

rs3800373 thường gặp ở những người da trắng có đáp ứng tốt với thuốc chống trầm cảm trong khi biến thể rs352428 có xu hướng ngược lại. Trong khi đó, vẫn hai biến thể rs1360780 và rs3800373 lại không ảnh hưởng tới đáp ứng điều trị ở người châu Á. Kết quả này cho thấy những khuyến cáo lâm sàng dựa trên kiểu gen phải dựa trên từng chủng tộc cụ thể.

Yếu tố hướng thần nguồn gốc từ não (BDNF) là một protein thuộc họ yếu tố tăng trưởng, được cảm ứng bởi nơron hướng thượng thận và cần thiết cho hoạt động của nơron thần kinh. Protein này tham gia bảo vệ thần kinh và hạn chế sự phì đại hồi hải mã do các thuốc chống trầm cảm. BDNF còn tham gia vào hoạt động khác nhau của hồi hải mã và liên quan đến trí nhớ. Đa hình gen mã hóa BDNF làm thay thế Val ở vị trí 66 bằng Met đã được chứng minh liên quan đến lượng sản xuất BDNF ở hồi hải mã và đáp ứng với thuốc chống trầm cảm. Những người châu Á mang đa hình này có đáp ứng nhanh hơn và ít tái phát hơn khi dùng các thuốc ức chế tái hấp thu serotonin chọn lọc. Tuy nhiên, mối liên quan này không được ghi nhận ở người da trắng. Ngược lại, một nghiên cứu trên người da trắng cho thấy kiểu gen đa hình tương ứng với Met có nguy cơ tái phát cao hơn 6 lần khi điều trị bằng các thuốc ức chế tái thu hồi serotonin - noradrenalin (SNRI) hoặc thuốc chống trầm cảm ba vòng.

Guanin nucleotide binding protein beta polypeptide 3 (GNB3) thuộc họ protein G có vai trò quan trọng trong con đường truyền tín hiệu nội bào của nhiều receptor. Biến thể 825 C>T của gen mã hóa GNB3 làm kích thích các con đường truyền tín hiệu, biến thể này được chứng minh là liên quan tới đáp ứng với thuốc chống trầm cảm. Một nghiên cứu ở người da trắng cho thấy biến thể này liên quan tới tác dụng tăng cân, giảm mất ngủ ở người dùng nortriptylin nhưng không ảnh hưởng đến các triệu chứng về tâm trạng của bệnh nhân trầm cảm. Biến thể này chiếm tới 77,9% người Mỹ gốc Phi, do đó, rất cần có những nghiên cứu về mối liên quan với đáp ứng thuốc trên cộng đồng này.

KẾT LUẬN

Ứng dụng của gen được trong cá thể hóa việc dùng thuốc hướng thần chủ yếu dựa trên dữ liệu kiểu gen *CYP2D6* và *CYP2C19* với những hướng dẫn điều chỉnh liều cho từng kiểu gen khác nhau. Điều này rất có ý nghĩa trong lâm sàng bởi hầu hết các thuốc hướng thần đều có phạm vi điều trị hẹp và độc tính cao, giúp hạn chế tác dụng không mong muốn và cải thiện sự tuân thủ điều trị, cải thiện hiệu quả điều trị.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. A. Serretti, S. Gibino, and P. Olgiati, Pharmacogenetics of antidepressants and mood stabilizers, *Handbook of Clinical Neurology*, Vol. 106 (3rd series), 2012 Elsevier B.V.
2. Chad A. Bousman (2017), Antidepressant prescribing in the precision medicine era: a prescriber's primer on pharmacogenetic tools, *BMC Psychiatry*. 2017; 17: 60.
3. Cynthia Reyes-Barron, Pharmacogenetics of Antidepressants, A Review of Significant Genetic Variants in Different Populations, *Clin Depress*. 2016, 2:2.
4. 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*. 2015 Feb; 277(2):167-177.
5. Jian-Ping Zhang, Anil K. Malhotra, Pharmacogenomics of Antipsychotic Drugs, Current Treatment Options in Psychiatry June 2017, Volume 4, Issue 2, pp 127-138.
6. JK Hicks, Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guideline for *CYP2D6* and *CYP2C19* Genotypes and Dosing of Tricyclic Antidepressants, *CPIC Guidelines*, Vol 93 No 5 2013.
7. Joseph R.Boland (2018), Clinical utility of pharmacogenetics-guided treatment of depression and anxiety, *Personalized Medicine in Psychiatry*, Volumes 7-8, March-April 2018, Pages 7-13.
8. Kathryn R. Gardner, The Potential Utility of Pharmacogenetic Testing in Psychiatry, *Psychiatry Journal*, Volume 2014, Article ID 730956.
9. MJ Arranza, C Gallegoa, J Salazarc and B Arias (2016), Pharmacogenetic studies of drug response in schizophrenia, *Expert Review Of Precision Medicine And Drug Development*, 2016 Vol. 1, No. 1, 79-91.

Chương 13

DÙNG THUỐC THEO CÁ THỂ

ĐỐI VỚI THUỐC TIM MẠCH

MỤC TIÊU HỌC TẬP

Phân tích được các kiểu đa hình ảnh hưởng tới tác dụng của thuốc tim mạch.

Các bệnh lý tim mạch là một nhóm lớn bệnh có đặc điểm là chịu ảnh hưởng của rất nhiều yếu tố. Để điều trị các bệnh này có tới 13 nhóm thuốc, ngoài ra còn nhiều dưới nhóm. Tuy nhiên, đáp ứng của người bệnh với các thuốc điều trị tim mạch lại rất khác nhau.

Có thể liệt kê ra 5 nhóm gen có liên quan đến sự khác biệt trong đáp ứng thuốc tim mạch:

- Nhóm gen liên quan đến được động học của thuốc. Cytochrome P450 như 2C6 và C9-19 thường gặp nhất, ngoài ra còn có họ các protein ABC cũng có ảnh hưởng.
- Nhóm gen liên quan đến được lực học của thuốc như: Các enzym bị ức chế bởi thuốc (enzym chuyển angiotensin, HMG-CoA reductase), các receptor liên quan đến tác dụng của thuốc (receptor β -adrenergic, receptor angiotensin I và II) và các lipoprotein bị thay đổi biểu hiện trong huyết tương (apoE, apoB, apoCIII, CETP).
- Các bệnh lý và con đường chuyển hóa liên quan đến kiểu đa hình gen ở những bệnh nhân đang được điều trị một thuốc thứ ba (thuốc khác) ví dụ các gen trong con đường gây viêm.
- Cơ chế sinh lý, sức khỏe như tuổi, giới, dân tộc, cân nặng ảnh hưởng đến tác động của kiểu đa hình gen.
- Cuối cùng, các gen nhạy cảm với các yếu tố môi trường như: Chế độ ăn, hút thuốc, ô nhiễm... cũng đóng vai trò quan trọng trong đáp ứng của nhiều thuốc.

Do ảnh hưởng của các yếu tố trên mà việc phát triển các thuốc tim mạch mới và sử dụng các thuốc đã có sẵn cần quan tâm tới các kiểu đa hình này để điều chỉnh liều cho từng cá thể, nhằm tránh các tác dụng không mong muốn.

Bệnh tim mạch là một nhóm các bệnh với nhiều nguyên nhân bệnh lý khác nhau, các bệnh tim mạch có thể chia ra thành hai nhóm chính: Bệnh lý về hệ tuần hoàn và các rối loạn chuyển hóa. Các bệnh lý về hệ tuần hoàn như: Tăng huyết áp, thiếu máu cơ tim, nhồi máu cơ tim cấp, xơ vữa động mạch... Các bệnh về rối loạn chuyển hóa gồm: Tiểu

đường, hội chứng chuyển hóa. Các thuốc điều trị bệnh tim mạch bao gồm: Thuốc chống đau thắt ngực, thuốc chống tăng huyết áp, thuốc chống loạn nhịp tim, thuốc chống co mạch, thuốc giãn mạch, thuốc chống đông máu, thuốc chống ngưng kết, thuốc chống đái tháo đường, thuốc chống viêm và thuốc giảm lipid máu. Do bệnh tim mạch có ảnh hưởng đến các tổ chức và chức năng khác ngoài tim và mạch, thuốc chữa bệnh tim mạch có thể mở rộng đến các nhóm thuốc như: Thuốc điều trị bệnh tuyến giáp, thuốc cai nghiện thuốc lá, thuốc tránh thai, thuốc trị liệu thay thế hormon, các thuốc này đều ảnh hưởng đến chức năng của hệ tim mạch.

1. CÁC GEN LIÊN QUAN ĐẾN DƯỢC ĐỘNG HỌC CỦA THUỐC

Rất nhiều thuốc tim mạch là những phân tử thân lipid, do đó chịu ảnh hưởng của 4 giai đoạn dược động học: Hấp thu, phân bố, chuyển hóa và thải trừ. Các gen mã hóa cho các enzym chuyển hóa thuốc, các gen mã hóa cho các protein vận chuyển thuốc và các chất chuyển hóa của thuốc là các gen ảnh hưởng lớn đến quá trình dược động học của thuốc (Hình 13.1). Mặc dù các enzym liên quan đến chuyển hóa của thuốc phần lớn được tìm thấy ở gan, các enzym này cũng được biểu hiện trong các mô khác.

1.1. Các enzym chuyển hóa thuốc

Các enzym chuyển hóa pha I liên quan đến các thuốc tim mạch chủ yếu là họ CYP2C, CYP2D, CYP3A. Đối với các thuốc có khoảng điều trị rộng như propanolol, kiểu đa hình của CYP2C9 có thể coi như không gây hậu quả gì trên lâm sàng. Trong số các CYP2C, CYP2C19 tham gia rất ít vào chuyển hóa của các thuốc tim mạch như metoprolol và warfarin, CYP2C8 đóng vai trò quan trọng trong chuyển hóa thuốc tiểu đường, do đó có ảnh hưởng gián tiếp đến hệ tuần hoàn. Các enzym CYP3A tham gia vào chuyển hóa gần như 50% các loại thuốc có trên thị trường, vì vậy theo lý thuyết, chúng thường liên quan đến tác dụng không mong muốn hoặc các tương tác thuốc - thuốc. CYP3A4 được coi là enzym có hoạt tính chủ yếu trong các CYP3A liên quan đến thuốc tim mạch. Mặc dù có những biểu hiện khác nhau của CYP3A4 và CYP3A5 trên các cá thể nhưng theo các nghiên cứu sự biểu hiện khác nhau này không ảnh hưởng nhiều đến hoạt tính CYP3A. Một số CYP khác như CYP1A1, CYP2A6, CYP2B6 cũng liên quan đến chuyển hóa các thuốc tim mạch. Một số kiểu gen của CYP2A6 cũng cho thấy làm giảm hoạt tính của enzym, do đó ảnh hưởng đến chuyển hóa các thuốc như nicotin, coumarin.

Một số CYP khác như CYP1A1, CYP2A6, CYP2B6 cũng liên quan đến chuyển hóa các thuốc tim mạch. Một số kiểu gen của CYP2A6 cũng cho thấy làm giảm hoạt tính của enzym, do đó ảnh hưởng đến chuyển hóa các thuốc như nicotin, coumarin.

Hiện tượng đa hình gen đã được phát hiện ở rất nhiều enzym chuyển hóa thuốc pha II, tuy vậy chúng thường ít ảnh hưởng đến các thuốc tim mạch. Quá trình acetyl hóa procainamid chịu ảnh hưởng của N-acetyltransferase-2 (NAT-2). Các cá thể mang kiểu

gen acetyl hóa chậm sẽ dễ bị hội chứng lupus ban đỏ gây ra bởi thuốc hơn các gen mang kiểu en acetyl hóa nhanh. Đối với enzym UDP-glucuronosyl-transferase (UGTs) mới phát hiện thấy thuốc tranilast (dùng cho các bệnh nhân đặt stent không được thông mại hóa) là có ảnh hưởng của kiểu gen trên lâm sàng. Các cá thể mang đồng hợp tử (TA)7 của gen UGT1A1 có nồng độ bilirubin huyết thanh cao hơn so với các cá thể mang alen (TA)6. Kiểu gen đồng hợp tử (TA)7 có liên quan đến hội chứng Gilbert và làm tăng nguy cơ bilirubin máu cao gây ra bởi tranilast gấp ở 2% bệnh nhân Âu Mỹ nhưng ít gặp ở các bệnh nhân châu Á. Kiểu đa hình gen của enzym sulfotransferase chưa được nghiên cứu. Glutathione S-transferase có liên quan đến quá trình khử độc các chất chuyển hóa của thuốc lá và đường như có ảnh hưởng đến thuốc tim mạch.

1.2. Các protein vận chuyển

Chuyển hóa thuốc không phải là yếu tố duy nhất ảnh hưởng đến được động học của thuốc. Hệ thống vận chuyển thuốc ngày càng được chú ý đến vai trò của chúng trong việc phân bố, hấp thu ở đường tiêu hóa và thải trừ ở thận của thuốc. Có 5 hệ thống chất vận chuyển vào của thuốc:

- Các chất vận chuyển anion hữu cơ (OATPs).
- Các chất vận chuyển cation hữu cơ (OCTs).
- Các chất vận chuyển dipeptid (PEPTs).
- Các chất vận chuyển nucleosid (CNTs).
- Các chất vận chuyển monocarboxylat (MCTs).

Việc vận chuyển ra khỏi tế bào và ra khỏi cơ thể của các thuốc và các chất chuyển hóa chủ yếu do các chất vận chuyển ABC (ATP-binding cassette transporter). Họ các chất vận chuyển ABC có thể được chia thành 7 dưới họ. Gen ABCB1 (còn có tên là gen đa kháng thuốc MDR1) có vai trò trong quá trình kháng thuốc độc tế bào bởi các tế bào ung thư thông qua quá trình bơm thuốc ra khỏi tế bào. Gen này mã hóa cho các chất vận chuyển thuốc chính P-glycoprotein (P-gp) biểu hiện ở ruột, thận, não, gan và các cơ quan khác.

P-gp vận chuyển rất nhiều thuốc qua tế bào thận và ruột vì vậy đóng vai trò quan trọng trong phân bố và thải trừ thuốc. Rất nhiều thuốc là cơ chất, chất hoạt hóa, chất ức chế của P-gp. Một số thuốc vừa là cơ chất, vừa là chất ức chế P-gp, trong khi các thuốc khác chỉ là chất ức chế (nifedipin) hoặc cơ chất (digoxin). CYP3A và P-gp có chung nhiều cơ chất (digoxin) và chất điều hòa (verapamil - ức chế), do đó họ enzym và chất vận chuyển này phải luôn được xem xét cùng nhau. Trong một số trường hợp chúng bổ sung tác dụng cho nhau. Đặc biệt là mibepradil, chất ức chế kênh calci vừa là cơ chất vừa là chất ức chế của cả CYP3A và P-gp, điều này gây ra các tác dụng không mong muốn nghiêm trọng làm thuốc này bị rút giấy phép. Kiểu đa hình của P-gp làm thay đổi biểu hiện của P-gp, do đó

làm thay đổi phoi nhiễm thuốc trên bệnh nhân. Đặc biệt kiểu đa hình 3435C/T của gen ABCB1 làm giảm biểu hiện ABCB1 trong đường tiêu hóa làm tăng phoi nhiễm digoxin trên bệnh nhân. Các bệnh nhân mang kiểu đa hình này cần sử dụng liều tối thiểu các thuốc tim mạch là cơ chất của P-gp.

Bảng 13.1. Các enzym chính pha I, pha II và các chất vận chuyển liên quan đến chuyển hóa và vận chuyển các thuốc tim mạch

Cơ chất	Enzym (CYP450 và pha II)	Chất vận chuyển
Các chất đổi vận aldosterol		
Spironolacton		ABCB1
Chất đổi vận receptor angiotensin II		
Candesartan	2C9	
Irbesartan	2C9	
Losartan	3A - 2C9	ABCB1
Valsartan	2C9	
Các chất ức chế enzym chuyển angiotensin		
Captopril	2D6	OATP, PEPT
Enalapril	3A	OATP, PEPT
Losartan	3A	
Các thuốc chống tăng huyết áp khác		
Clonidin	2D6	OCT1
Debrisoquin	2D6, 2D7P2, 2D8P1/P2	ABCB1
Guanoxan	2D6	
Prazoxin		ABCB1, ABCG2, OCT1
Reserpine		ABCB1
Spironolacton		ABCB1
Thuốc ức chế cảm giác thèm ăn		
Amphetamine	2D6	
Dexfenfluramin	2D6	

Cơ chất	Enzym (CYP450 và phâ ⁿ II)	Chất vận chuyển
Fenfluramin	2D6	
Thuốc chống kết tập tiểu cầu		
Clopidogrel	3A	
Dipyridamol		ABCB1
Ticlopidin	2C19	
Thuốc chống loạn nhịp tim		
Amidaron	3A, 2D6, 2C8	ABCB1
Dysopyramid	3A	
Encainid	2D6	
Flecainid	3A, 2D6	
Lidocain	1A2, 2A6, 3A4, 2D6	ABCB1
Mexiletin	1A2, 2D6	
N-Propylajmalin	2D6	
Procainamid	2D6	OCT
Propafenon	1A2, 3A, 2D6	ABCB1
Quinidin	3A	ABCB1, OATP, OCT
Spartein	2D6	
Verapamin	3A, 2C8	
Các thuốc kháng vitamin K		
Acenocoumarol	1A2, 2C9, 2C19	
Wafarin	1A2, 3A, 2C8, 2C9, 2C19	
Các thuốc điều trị đái tháo đường		
Glimeprid	2C9	
Glipizid	2C9	
Glyburid/glibenclamid	3A, 2C9	
Nateglinid	3A, 2C9, 2D6	
Phenformin	2D6	

Cơ chất	Enzym (CYP450 và pheo II)	Chất vận chuyển
Repaglinid	3A, 2C8	
Rosiglitazon	2C8, 2C9	
Tolbutamid	2C8, 2C9, 2C19	
Troglitazon	3A, 2C8	
Các thuốc chẹn β		
Acebutolol		ABCB1
Alprenolol	2D6	
Atenolol		ABCB1
Bisoprolol	3A - 2D6	
Bufuralol	1A2 - 3A - 2C19 - 2D6	
Bunitrolol		ABCB1
Bupranolol	2D6	
Carvedilol	1A2 - 2C9 - 2D6 - 2E1	ABCB1
Celiprolol	3A	ABCB1
Labetalol	2D6	
Metoprolol	2C19 - 2D6	ABCB1
Nadolol		ABCB1
Pindolol	2D6	
Propanolol	1A2 - 3A - 2D6 - 2C19	ABCB1, OCT2
Talinolol		ABCB1
Timolol	2D6	ABCB1
Các thuốc chẹn kênh calci		
Amlodipin	3A	
Bepridil	3A	ABCB1
Cinnarizin	2D6	
Diltiazem	3A - 2C9 - 2D6	ABCB1
Felodipin	3A	

Có chất	Enzym (CYP450 và p-hydro)	Chất vận chuyển
Flunarizin	2D6	
Isradipin	3A	
Lercanidipin	3A	
Mibepradil	1A2 - 3A - 2D6	ABCB1
Nevirapin	3A	
Nicardipin	3A - 2C9 - 2D6	ABCB1
Nifedipin	3A - 2C9 - 2D6	ABCB1
Niludipin	3A	
Nimodipin	3A - 2D6	
Nisoldipin	3A	
Nitrendipin	3A - 2D6	ABCB1
Perhexilin	2D6	
Verapamil	1A2 - 3A - 2C8	ABCB1, OCT1
Các glycosid tim		
Digitoxin	3A	ABCB1
Digoxin	3A	ABCB1, OATP
Các thuốc lợi tiểu		
Amilorid		OCT2
Bumetanid		OAT4
Furosemid	UGT1A8	
Indapamid	3A - 2D6 - 2C9	
Triamteren	Sulfotransferase	OCT2
Tienilic acid	2C9	
Torasemid	2C9	
Các thuốc hạ lipid máu		
Atorvastatin	3A	ABCB1
Cerivastatin	3A - 2C8	
Fluvastatin	2C9	

Cơ chất	Enzym (CYP450 và pha II)	Chất vận chuyển
Lovastatin	3A	ABCB1
Pravastatin	3A	ABCB1, MCT, OATP
Simvastatin	3A	
Rosuvastatin	3A	

2. CÁC GEN LIÊN QUAN ĐẾN DƯỢC LỰC CỦA THUỐC

Có rất nhiều đích được lý như: Receptor, enzym, kênh ion, lipoprotein, yếu tố kết tập và con đường truyền tín hiệu được phân bố và biểu hiện khác nhau ở các mô và tế bào. Sự biến đổi về kiểu gen của các đích này có thể làm biến đổi ái lực của hoặc sản phẩm chuyển hóa của thuốc do đó làm thay đổi tác dụng. Đối với các thuốc tim mạch các kiểu đa hình chính ảnh hưởng đến đích được lý có thể kể đến là:

- α -adducin (ADD1) (Gly460Trp).
- Angiotensinogen (AGT) (Met235Thr).
- Angiotensin-II receptor type 1 (AGTR1) (A1166C).
- Angiotensin-converting enzym (ACE) (insertion/deletion [I/D]).
- Apolipoprotein E (APOE) (ϵ 2/ ϵ 4).
- β 2-Adrenoreceptor (ADRB2) (Arg16Gly).
- Bradykinin receptor B2 (BDKRB2) (C-58T).
- Cholesteryl ester transfer protein (CETP) (B1/B2).
- Factor V Leiden (F5) (Arg506Gln).
- Hepatic lipase (LIPC) (C-514T).
- HMG CoA reductase (HMGCR) (SNPs 12 and 29).
- Glycoprotein IIIa (ITGB3) (P1 A1/A2), and
- Kênh kali (KCNE2) (T8 in MiRP1).

Tác động của các kiểu đa hình trên được tổng kết trong Bảng 13.2.

Bảng 13.2. Ảnh hưởng của các kiểu đa hình gen lên được lực thuốc tim mạch

Kiểu đa hình gen	Tên protein	Thuốc	Hậu quả lâm sàng
<i>ADRB2</i> (<i>Arg16Gly</i>)	B2-Adenoreceptor	Albuterol, Isoproterenol	Tác dụng điều trị suy tim bị thay đổi
<i>KCNE2 (T8A in MiR01)</i>	Kênh K ⁺	Sulfamethoxazol, trimethoprim	Hội chứng QT dài gây ra bởi thuốc trên cá thể mang kiểu đa hình
<i>α-Adducin (Gly460Trp)</i>	α-Adducin	Hydrochlorothiazid	Tác dụng hạ huyết áp mạnh hơn trên các cá thể 460Gly/Trp
<i>CETP (B1/B2)</i>	Cholesteryl ester transfer protein	Pravastatin	Tác dụng làm chậm quá trình vữa xơ động mạch bởi pravastatin trên cá thể B1B1
<i>APOE (E2/E4)</i>	Apolipoprotein E	Statin, HRT, vitaminK	Mức độ giảm cholesterol và thay đổi nồng độ apolipoprotein khác nhau
<i>ACE (I/D)</i>	Angiotensin-I-converting enzym	Hydrochlorothiazid, enalaprilat	Tác dụng mạnh và kéo dài hơn trên cá thể mang alen ACE II
<i>GPIIIa (PIA1/A2)</i>	Glycoprotein IIIa	Thuốc chống kết tập tiểu cầu (aspirin, abciximab)	Cá thể mang PIA2 đáp ứng với thuốc kém hơn
<i>Factor V Leiden (Arg506Gln)</i>	Factor V	Estrogen, thuốc tránh thai đường uống	Tăng nguy cơ huyết khối tĩnh mạch
<i>AGT (Met235Thr)</i>	Angiotensinogen	Các thuốc hạ huyết áp	Giảm huyết áp và giảm phì đại tâm thất trái
<i>AGTR1</i>	Thụ thể Angiotensin-	Chất đối vận	Tăng đáp ứng với

Kiểu đa hình gen	Tên protein	Thuốc	Hậu quả lâm sàng
(A1166C)	II type 1	Angiotensin-II receptor	angiotensin II trên bệnh nhân thiếu máu cơ tim và tăng xơ cứng động mạch chủ trên bệnh nhân cao huyết áp
<i>BDKRB2</i> (<i>C-58T</i>)	Bradykinin receptor B2	Thuốc ức chế men chuyển	Ho liên quan đến thuốc ức chế men chuyển
<i>LIPC</i> (<i>C-514T</i>)	Hepatic lipase	Các statin	Ảnh hưởng đến thay đổi nồng độ HDL-cholesterol
<i>HMGCR</i> (<i>SNPs 12 and 29</i>)	3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzym A reductase	Pravastatin	Giảm nồng độ cholesterol toàn phần và LDL-cholesterol ít hơn

3. THUỐC CHỐNG KẾT TẬP TIỀU CẦU

Tiêu cầu đóng vai trò quan trọng trong hiện tượng đông máu cấp, bao gồm cả cơn nhồi máu. Điều trị chống kết tập tiểu cầu dựa trên việc ức chế một vài con đường như: Sản xuất thromboxan A2, hoạt hóa ADP, hoặc GPIIb/IIIa gắn fibrinogen. Aspirin được sử dụng rộng rãi như thuốc chống kết tập tiểu cầu để ngăn ngừa hiện tượng hình thành cục máu đông trong lòng động mạch. Cơ chế tác dụng của aspirin là ức chế con đường thromboxan A2 bằng cách acetyl hóa không thuận nghịch cyclooxygenase-1 (COX-1) ở tiểu cầu. Tuy nhiên, trên thực tế có 10% bệnh nhân tim mạch bị kháng aspirin. Kiểu đa hình của COX1 đường nhì không tham gia vào hiện tượng kháng aspirin.

Kiểu đa hình P1A2 của gen ITGB3 mã hóa phần GPIIIa của phức hợp GPIIb/IIa làm tăng hiện tượng kết tập tiểu cầu và được coi là yếu tố nguy cơ của bệnh nhàn mạch vành cấp đã được điều trị bằng aspirin. Các nghiên cứu cho thấy aspirin ức chế kết tập tiểu cầu ở kiểu gen P1A1/A2 mạnh hơn kiểu gen P1A1/A, thời gian máu chảy của kiểu gen P1A1/A2 cũng ngắn hơn trong cả hai trường hợp trước và sau điều trị.

4. THUỐC CHỐNG ĐÔNG

Wafarin, một thuốc chống đông coumarin là thuốc được sử dụng để điều trị và dự phòng bệnh huyết khối. Wafarin đóng vai trò như một chất kháng vitamin K bằng cách ức chế sự tái hình thành của vitamin K dạng khử, một yếu tố quan trọng trong dòng thác tín hiệu đông máu. Enzym đích của wafarin là vitamin K epoxide reductase complex 1 (VKORC1) xúc tác cho phản ứng quyết định tốc độ của chu trình vitamin K. Các kiểu đa hình trên vùng điều hòa của gen *VKORC1* tương quan với tác dụng của wafarin trong khoảng liều sử dụng. Ở người châu Á và Âu Mỹ, kiểu gen VKORC1 có thể giúp dự đoán 25% sự thay đổi liều wafarin.

5. THUỐC ĐIỀU TRỊ RỐI LOẠN LIPID MÁU

5.1. Statin

Hiện tượng khác nhau giữa các cá thể trong đáp ứng với statin đã được ghi nhận trong nghiên cứu của Pedra-Botet và cộng sự. Trong nghiên cứu này, 328 đối tượng gồm cả hai giới tham gia vào thử nghiệm lâm sàng đa trung tâm, mù kép được sử dụng atorvastatin với liều 10 mg/ngày. Đa số các đối tượng tham gia thử nghiệm có sự thay đổi về nồng độ LDL-cholesterol (LDL-C), HDL-cholesterol (HDL-C) và triglycerid tương đối giống nhau. Tuy nhiên, có một số bệnh nhân không đáp ứng hoặc có mức LDL-C tăng. Kết quả thu được trong nghiên cứu cho thấy tầm quan trọng của việc các thay đổi điều trị. Yếu tố kiểu gen đóng góp tới 20 - 95% sự thay đổi trong đáp ứng thuốc. Kiểu đa hình các gen tham gia vào quá trình được động học như: CYP3A1, CYP2D6, CYP2C9, ABCB1 là một phần nguyên nhân cho sự đa dạng trong đáp ứng với statin. Khi đề cập tới đích dược lý, có hai nhóm là gen đích đặc hiệu và các gen-đích khác.

Các gen đích đặc hiệu

Đó là các gen hoặc có liên quan đến cơ chế tác dụng của thuốc hoặc liên quan đến con đường chuyển hóa mà thuốc nhắm tới. Có thể kể ra một số gen như sau:

- *APOE*:

Kiểu gen APOE là kiểu gen độc lập có ảnh hưởng mạnh nhất đến tác động hạ LDL-cholesterol của statin. Trong nghiên cứu 4S (Scandinavian Simvastatin Survival Study) trên các đối tượng sống sót sau nhồi máu cơ tim, nguy cơ tử vong là 1,8 ở nhóm mang alen *APOE ε4* giảm có ý nghĩa khi sử dụng simvastatin so với nhóm mang các alen khác. Việc xác định các nhóm bệnh nhân *APOE* cho phép hiệu chỉnh liều điều trị bằng statin. Một kiểu đa hình *APOE* khác -491A/T cũng được phát hiện có ảnh hưởng đến đáp ứng với atorvastatin và benzafibrat ở bệnh nhân tăng lipid hỗn hợp.

- *CETP*:

Trong nghiên cứu REGRESS (Regression Growth Evaluation Statin Study), việc sử dụng pravastatin làm giảm tiến triển của xơ vữa động mạch trên các đối tượng mang kiểu gen *CETP B1B1* nhưng không ảnh hưởng trên kiểu gen *B2B2*. Việc giảm các tai biến tim mạch bởi statin cũng tăng lên ở kiểu allele *B2*. Kiểu gen *TaqIB* và *A692C* làm thay đổi tác dụng của atorvastatin trên nồng độ HDL-C: Các đối tượng *B1B1* và *CC* có đáp ứng tốt hơn với điều trị. Dưới đây là bảng danh sách các gen và các protein do gen mã hóa đã được nghiên cứu về gen được涉及到 tác dụng của statin.

Bảng 13.3. Các gen và protein đã được nghiên cứu về gen được đổi với statin

Ký hiệu viết tắt HUGO các gen liên quan đến con đường chuyển hóa lipid (tổng hợp, hấp thu, vận chuyển cholesterol) có thể ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị của thuốc hạ lipid máu

- ABCA1 (ATB-binding cassette transporter A1)
- ABCG8 (ATB-binding cassette transporter G8)
- ACAT/ACAT1 (mitochondrial acetyl-CoA acetyltransferase)
- APOA1 (apolipoprotein A-I)
- APOA2 (apolipoprotein A-II)
- APOC3 (apolipoprotein A-III)
- APOA4 (apolipoprotein A-IV)
- APOA1-C3-A4 cluster
- APOA5 (apolipoprotein A-V)
- APOB (apolipoprotein B)
- APOE (apolipoprotein E)
- CETP (cholesteryl ester transfer protein)
- CYP7A1 (cholesterol 7 α hydroxylase)
- EL (endothelial lipase)
- FABPL/FABP1 (liver fatty acid-binding protein)
- FATP (fatty acid transport protein)
- FDFT1 (farnesyldiphosphate farnesyltransferase 1, squalene synthase)
- HL/LIPC/LIPH (hepatic triglyceride lipase)
- HMGCR (3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase)
- INSIG1 (insulin-induced gene 1)

INSIG2 (insulin-induced gene 2)
LCAT (lecithin cholesterol acyltransferase)
LDLR (LDL receptor)
LEPR (leptin receptor)
Lp(a) (lipoprotein (a))
LPL (lipoprotein lipase)
MTP (microsomal triglyceride transfer protein)
PON1 (paraoxonase 1)
PPARA (peroxisome proliferator-activated receptor alpha)
PPARD (peroxisome proliferator-activated receptor delta)
PPARG (peroxisome proliferator-activated receptor gamma)
S1P (site-1 protease)
S2P (site-2 protease)
SCAP (SREBP cleavage activating protein)
SRBP1 (sterol regulatory element-binding protein 1)
SRBP2 (sterol regulatory element-binding protein 2)
SCARB1 (scavenger receptor class B, member 1)
Candidate genes not involved in the lipid pathway
ACE (angiotensin-converting enzyme)
FBG (beta fibrinogen)
MMP3/STMY1 (stromelysin 1)
GPIIIA (glycoprotein III A)
Cd36/GP IIIb (Cd36 antigen, glycoprotein 3b, fatty acid translocase)
ESR1 (estrogen receptor alpha)
IL6 (interleukin 6)
IL1B (interleukin 1B)
TLR4 (Toll-like receptor 4)
F XII (factor XII)
eNOS (endothelial nitric oxide synthase)

- *HMGCR:*

Hai SNP của gen mã hóa enzym 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl coenzyme A reductase (HMGCR): Một SNP ở vị trí 74726928 thay A bằng T và một SNP ở vị trí 74739571 thay T bằng G đều liên quan đến tác dụng của pravastatin. Các đối tượng có alen hiếm ở cả hai SNP này làm giảm 22% hiệu quả hạ cholesterol toàn phần của pravastatin, chủ yếu là do ảnh hưởng của LDL-C. Các đối tượng mang dị hợp tử có lượng LDL-C giảm thấp hơn 19% so với các đối tượng khác cùng sử dụng pravastatin. Tuy nhiên, không thấy ảnh hưởng của các SNP trên lên nồng độ HDL-C ở các đối tượng sử dụng pravastatin. Trong số 43 SNP của 16 gen, ngoài ảnh hưởng của kiểu đa hình ABCB1, Thomson và cộng sự chỉ tìm thấy ảnh hưởng rõ rệt của gen *APOE2*. Trên các đối tượng mang alen hiếm, việc sử dụng atorvastatin làm giảm nồng độ LDL-C nhiều hơn 3,5% so với nhóm mang đồng hợp tử của alen phổ biến. Ngoài ra, kiểu đa hình của yếu tố phiên mã PPARs cũng cần nghiên cứu thêm về ảnh hưởng đến việc sử dụng statin.

Các gen đích khác

Các gen này liên quan đến các con đường chuyển hóa khác ảnh hưởng tới bệnh tim mạch. Kiểu đa hình của các gen này đã được nghiên cứu về ảnh hưởng khi dùng statin đó là các gen: Enzym chuyển angiotensin (ACE), β-fibrinogen (FGB), glycoprotein IIIa (ITGB3), stromelysin-1 (MMP3), CD36, và estrogen receptor alpha (ESR1).

Gen estrogen receptor alpha (ESR1) là một ví dụ về việc các gen đích khác có thể ảnh hưởng đến tác dụng hạ lipid của các statin. Nghiên cứu trên 338 bệnh nhân tăng cholesterol được điều trị bằng atorvastatin cho thấy: Kiểu gen *ESR1 PvuII(-) XbaI(+)* Haplotype là yếu tố độc lập làm tăng HDL-C nhiều hơn so với các kiểu gen khác ở phụ nữ, nhưng không thấy tác dụng này ở nam giới. Do đó, con đường chuyển hóa qua trung gian estrogen receptor có thể đóng vai trò trong đáp ứng HDL-C với statin.

5.2. Các fibrat

Các fibrat, một nhóm thuốc hạ lipid khác có tác dụng giảm mạnh triglycerid và tăng HDL-C cũng là một nhóm quan trọng dự phòng cho bệnh nhân tim mạch. Liên quan đến kiểu đa hình của *APOE*, đáp ứng với probucol của các bệnh nhân tăng cholesterol có tính gia đình mạnh nhất ở kiểu gen *e4*. Kiểu gen *e2* lại có đáp ứng tốt với gemfibrozil và bezafibrate. Tuy nhiên, trong hai nghiên cứu khác lại cho thấy các đối tượng mang kiểu gen *e4* lại có đáp ứng mạnh nhất với gemfibrozil. Điều này cho thấy mối liên quan giữa kiểu gen *APOE* và đáp ứng với gemfibrozil có thể phụ thuộc tăng lipid máu loại nào.

Brousseau và cộng sự đã phát hiện ra vai trò của các biến thể *LPL* đối với nguy cơ mắc bệnh tim mạch, đồng thời nghiên cứu mối liên hệ với nồng độ lipid và lipoprotein huyết tương khi sử dụng gemfibrozil. Kết quả cho thấy, các đối tượng mang alen *LPL N9*

khi điều trị bằng gemfibrozil có nồng độ LDL kích thước nhỏ, tỷ trọng lớn cao hơn các đối tượng không mang alen này, trong khi đó ở nhóm chứng thì không thấy có sự khác biệt về phân lớp LDL ở các kiểu gen. Vì vậy, các đối tượng mang alen *LPL N9* khi sử dụng gemfibrozil làm tăng nồng độ LDL kích thước nhỏ, tỷ trọng lớn; còn các đối tượng không mang kiểu gen *LPL N9* thì lại bị giảm nồng độ này.

PPAR đóng vai trò là gen đặc hiệu trong tác dụng của các thuốc fibrat, *PPARA* Leu162Val ảnh hưởng đến nồng độ HDL2C đáp ứng với gemfibrozil, trong khi *PPARA* Intron7 G>C ảnh hưởng đến nồng độ triglycerid đáp ứng với fenofibrat.

6. CÁC THUỐC HẠ HUYẾT ÁP

6.1. Hệ Renin-Angiotensin-Aldosteron

Có nhiều nghiên cứu về hệ thống Renin-Angiotensin (RAS) và vai trò của nó trong điều hòa huyết áp và cân nặng natri. Các kiểu gen khác nhau của hệ thống này có liên quan đến tăng huyết áp. Các đích tác dụng chính của các thuốc điều trị tăng huyết áp là: Chất đổi vận thu thể angiotensin, các thuốc ức chế vasopeptidase và các thuốc chẹn beta.

Các thuốc ức chế enzym chuyển angiotensin

Các kiểu đa hình loại thêm hoặc bớt nucleotid ở gen ACE là một trong những kiểu đa hình phổ biến nhất của RAS liên quan đến tăng huyết áp. Alen mất nucleotid liên quan đến tăng nồng độ ACE. Nghiên cứu cho thấy hoạt độ huyết thanh ACE lại tương quan với các thuốc ức chế ACE được sử dụng điều trị suy tim tắc nghẽn. Điều này gợi ý nên nghiên cứu vấn đề này với bệnh tăng huyết áp.

Một số nghiên cứu kiểu đa hình gen angiotensinogen (*AGT*) nhằm dự đoán đáp ứng của bệnh nhân với thuốc điều trị tăng huyết áp cho thấy: Các đối tượng mang alen T của SNP Met235Thr gen angiotensinogen có nồng độ angiotensinogen cao hơn. Tuy nhiên, mối tương quan giữa Met235Thr và đáp ứng huyết áp với thuốc hạ huyết áp chưa rõ ràng. Kiểu gen Met235Thr có thể được dùng để dự đoán đáp ứng của bệnh nhân với các thuốc ức chế ACE. Tuy nhiên, nghiên cứu phân tích gộp trên 45.000 bệnh nhân lại cho thấy dựa vào kiểu gen không dự đoán được nồng độ angiotensinogen ở người châu Á và người da đen, tình trạng tăng huyết áp ở người da đen hoặc huyết áp tâm thu và tâm trương ở bất kỳ chủng tộc người nào. Nồng độ *AGT* và kiểu gen *AGT* bị ảnh hưởng rất nhiều bởi chủng tộc.

Thuốc đối kháng thụ thể AT1 của angiotensin II hoặc Sartan:

Các thuốc chẹn angiotensin receptor (ARBs) ức chế đặc hiệu và hoàn toàn hệ thống Renin-Angiotensin-Aldosterone. ARBs giảm huyết áp bằng cách chẹn sự gắn angiotensin II (Ang II) vào receptor angiotensin type I (AT₁). Quá trình này độc lập với con đường tạo Ang II. ARBs được chứng minh là thuốc điều trị tăng huyết áp và suy tim.

Kiểu đa hình A1166C của gen mã hóa receptor angiotensin II type I (*AT1R*) đã được nghiên cứu cho thấy đáp ứng của huyết áp với chất chuyển hóa có hoạt tính của losartan ở bệnh nhân kiểu gen CC kém hơn ở bệnh nhân có kiểu gen AA, điều này gợi ý rằng đáp ứng của huyết áp với thuốc chẹn AT1R phụ thuộc một phần vào kiểu đa hình này. Mỗi tương quan giữa kiểu đa hình *AT1R* A1166C với đáp ứng điều trị của losartan cũng được công bố bởi Sookoian và cộng sự ở bệnh nhân vàng da tăng huyết áp tĩnh mạch cửa. Mặc dù vẫn cần nghiên cứu thêm, nhưng các kết quả hiện tại cho thấy kiểm tra kiểu gen có thể là yếu tố giúp tiên lượng đáp ứng của bệnh nhân với losartan.

Các thuốc ức chế renin

Renin là một protease được sản xuất bởi thận có chức năng cắt angiotensinogen tạo thành angiotensin I. Biểu hiện renin hoặc các chất chuyển hóa quá mức làm tăng huyết áp và phá hủy mô. Điều này đã dẫn đến việc sử dụng các thuốc ức chế renin để hạ huyết áp. Các chất ức chế renin có bản chất peptid hoặc giống peptid có sinh khả dụng đường uống thấp. Các nghiên cứu gần đây đã tìm ra chất ức chế renin phi peptid cho sinh khả dụng đường uống chấp nhận được là aliskiren (SPP-100), thử nghiệm lâm sàng cho thấy nó có tác dụng và dung nạp tương đương losartan và irbesartan. Aliskiren có tiềm năng là một chất ức chế RAS có hiệu quả để điều trị tăng huyết áp có thể dùng làm thuốc. Tuy nhiên, do thiếu các nghiên cứu gen được về tác dụng của aliskiren trên các cá thể mang kiểu gen của kiểu đa hình của renin (Arg387→ term) nên cần phải nghiên cứu thêm.

Các chất đổi kháng aldosteron

Tỷ lệ tăng huyết áp do nguyên nhân cường giao cảm chỉ chiếm khoảng 2% bệnh nhân tăng huyết áp và được đặc trưng bởi sản xuất quá mức hormon thượng thận aldosterol, kali huyết thanh giảm và renin huyết thanh giảm mạnh. Các nghiên cứu đều cho thấy tỷ lệ aldosteron/renin giúp dự đoán đáp ứng của huyết áp với các thuốc lợi tiểu tốt hơn là với nồng độ aldosteron. Điều này cũng giải thích hiện tượng kiểu đa hình aldosterol C-344T ảnh hưởng đến nồng độ aldosteron nhưng lại không liên quan đến hạ huyết áp khi dùng thuốc lợi niệu.

Các thuốc chẹn β

Các thuốc chẹn β rất hay được sử dụng điều trị bệnh tim mạch. Các thuốc này là những thuốc điều trị đầu tay đối với các bệnh: Tăng huyết áp, suy tim, đau thắt ngực sau nhồi máu cơ tim.

Trên quan điểm được lực học, các thụ thể adrenergic (loại α1, α2, β1, β2) thuộc họ guanine nucleotide-binding regulatory protein-coupled receptors trung gian cho các đáp ứng sinh lý của hormon epinephrin và chất dẫn truyền thần kinh norepinephrin. Hai kiểu đa hình chính của gen thụ thể β1 adrenergic thường được nghiên cứu trong điều trị bệnh tăng huyết áp và suy tim bằng thuốc chẹn β. Kiểu đa hình này làm thay đổi acid

amin tại vị trí: 389 (Arg389Gly) (C1165G polymorphism) phần này là phần receptor nằm trong tế bào; và vị trí 49 (Ser49Gly) (A145G polymorphism) thuộc phần receptor nằm ngoài tế bào.

Một số nghiên cứu đã phát hiện thấy tác dụng mạnh hơn của các thuốc chẹn β ở các đối tượng đồng hợp tử 1165C. Ảnh hưởng cộng hợp của cả hai kiểu đa hình (Haplotype) có thể giải thích được hơn 40% các trường hợp thay đổi huyết áp do dùng metoprolol so với chỉ xét ảnh hưởng của kiểu đa hình 389. Tuy nhiên, hai kiểu đa hình này không giải thích được sự thay đổi nhịp tim và huyết áp khi dùng atenolol (50 - 100 mg).

Các nghiên cứu xác định kiểu gen bằng microarray cũng cho thấy ảnh hưởng đến tác dụng các thuốc chẹn β của gen mã hóa tiểu đơn vị protein G (adducin hay endothelin), trong đó ảnh hưởng của *GNB3* (C825T polymorphism) lên tác dụng của atenolol được ghi nhận trên nam giới. Nghiên cứu của Liljedahl cho thấy kiểu đa hình *ADRA2 A1817G* liên quan đến khối lượng tâm thất trái khi điều trị tăng huyết áp bằng atenolol. Nghiên cứu của Kurland cho thấy các đối tượng mang alen *ADD1 -6A* và 1198C sử dụng atenolol cho mức hạ huyết áp mạnh hơn. Nghiên cứu khác cho thấy nam giới mang alen T của kiểu đa hình G5665T gen preproendothelin-1 cho đáp ứng hạ huyết áp mạnh hơn 2 lần so với các đối tượng mang alen G/G (-21,9 mmHg so với -8,9 mmHg, p = 0,007).

6.2. Các thuốc lợi tiểu

Kiểu đa hình C825T của gen G-protein 3 β (*GNB3*) có liên quan đến đáp ứng với thuốc lợi tiểu nhóm thiazid. Kiểu đa hình *HSD11B2 G534A* có khả năng gây ra dạng tăng huyết áp nhạy cảm với muối và được đề xuất làm marker nhạy cảm muối của bệnh nhân.

6.3. Các thuốc chẹn kênh calci

Việc xác định sự biến đổi trong trình tự của các gen trong con đường calci, ví dụ Ca²⁺ sensitive K⁺ channel beta 1 subunit gần đây được xác định là có tác dụng bảo vệ chống tăng huyết áp. Kiểu đa hình E65K của gen tiểu đơn vị $\beta 1$ của kênh Ca²⁺ phụ thuộc K⁺ (BK), yếu tố quan trọng điều hòa huyết áp tâm trương, có liên quan đến tỷ lệ tăng huyết áp tâm trương thấp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nadine Cohen et al. (2008). Pharmacogenomics and Personalized Medicine. *Humana Press*.
2. Geoffrey S. Ginsburg, Huntington F. Willard. (2010). Essentials of Genomic and Personalized Medicine. *Elservier*.
3. Kristen K. Reynolds, Roland Valdes. (2008). *Clinics in Laboratory Medicine*. *Elsevier*.

Chương 14

DÙNG THUỐC THEO CÁ THỂ ĐỐI VỚI THUỐC ĐIỀU TRỊ UNG THƯ

MỤC TIÊU HỌC TẬP

Phân tích được khả năng ứng dụng của gen được trong dùng thuốc theo cá thể đối với các thuốc điều trị ung thư.

Trong lĩnh vực điều trị ung thư, một trong những khó khăn lớn nhất khi hướng tới mục tiêu kéo dài và cải thiện chất lượng cuộc sống cho bệnh nhân là vấn đề hiệu quả và độc tính của thuốc. Phần lớn các thuốc ung thư chỉ có hiệu quả đối với một nhóm nhỏ bệnh nhân, tỷ lệ đáp ứng trung bình của thuốc ung thư là 25%. Mặt khác, đây đều là những thuốc có phạm vi điều trị hẹp, độc tính cao, do đó, luôn đi kèm với nguy cơ tai biến nghiêm trọng, làm suy giảm chất lượng cuộc sống của người bệnh và có thể gây tử vong. Thực tế đó đặt ra nhu cầu cấp thiết phải có các chiến lược điều trị mới giúp cải thiện hiệu quả điều trị và giảm thiểu độc tính. Một trong những chiến lược đang trở thành một xu hướng mới trên thế giới là dùng thuốc theo cá thể hay cá thể hóa điều trị.

Theo định nghĩa của Viện Ung thư Hoa Kỳ, thuốc cá thể hóa là “*Thuốc sử dụng thông tin của cá nhân về gen, protein và môi trường để phòng, chẩn đoán và điều trị một bệnh*”. Mục đích của cá thể hóa điều trị là đưa ra những phác đồ trị liệu phù hợp với đặc điểm của từng cá thể bệnh nhân nhằm đạt được đáp ứng điều trị tốt nhất. Không phải ngẫu nhiên mà khái niệm Y học chính xác (Precision Medicines) được đồng nhất với khái niệm Y học cá thể hóa (Personalized Medicines) trong điều trị ung thư. Cơ sở của cá thể hóa điều trị chính là dựa trên những chỉ dấu sinh học đặc trưng cho phép dự đoán đáp ứng với thuốc của từng bệnh nhân. Một ý nghĩa quan trọng của cá thể hóa trong điều trị ung thư chính là việc cung cấp những chỉ dấu sinh học cho phép dự đoán đáp ứng và lựa chọn các thuốc hướng đích, một trong những chiến lược điều trị ung thư tiên tiến và hiệu quả hiện nay.

1. CÁC CHỈ DẤU SINH HỌC GIÚP DỰ ĐOÁN ĐÁP ỨNG ĐIỀU TRỊ UNG THƯ

Chỉ dấu sinh học (biomarker) được định nghĩa là một đặc tính ở mức độ tế bào hoặc phân tử giúp đo lường và đánh giá một quá trình sinh học bình thường của cơ thể hoặc một quá trình bệnh lý hoặc đáp ứng được học với các can thiệp điều trị. Trong điều trị

ung thư, chỉ dấu sinh học được ứng dụng trong nhiều khâu khác nhau bao gồm: Sàng lọc, chẩn đoán sớm, theo dõi tiên lượng bệnh và dự đoán đáp ứng điều trị. Trong số đó, các chỉ dấu sinh học dự đoán (predictive biomarker) chính là cơ sở của cá thể hóa trong điều trị ung thư. Các chỉ dấu sinh học dự đoán được nghiên cứu và ứng dụng trong điều trị ung thư có thể rất đa dạng, từ đặc điểm về số lượng tiểu cầu, tỷ số tiểu cầu/ bạch cầu đa nhân trung tính đến mật độ, số lượng các vi tinh ngoại bào (extracellular microvesicle) lưu hành trong máu và phổ biến nhất là các chỉ dấu protein và ADN. Các chỉ dấu này giúp tiên lượng được người bệnh có đáp ứng tốt hay không tốt với một phác đồ điều trị từ đó có thể quyết định nên dùng phác đồ nào, với liều thích hợp như thế nào để người bệnh có thể thu được những lợi ích tốt nhất từ điều trị và đồng thời không phải chịu các tác dụng không mong muốn nặng nề của thuốc.

Khác với nhiều bệnh khác, chỉ dấu sinh học dự đoán đáp ứng thuốc trong điều trị ung thư có thể có hai nguồn gốc: Từ tế bào mầm - germline cells (tế bào bình thường mà người bệnh mang từ lúc sinh ra, có thể di truyền sang thế hệ sau) và từ tế bào ung thư (đã có những biến đổi so với tế bào bình thường ban đầu - somatic mutation).

Các chỉ dấu sinh học dự đoán đáp ứng thuốc có nguồn gốc tế bào mầm thường liên quan chủ yếu đến các quá trình được động học của thuốc và thường giúp dự đoán độc tính của thuốc. Bên cạnh đó, một số chỉ dấu loại này có thể giúp dự đoán hiệu quả điều trị, đặc biệt đối với các dược chất là tiền thuốc, bắt buộc phải qua chuyển hóa pha I để trở thành dạng có hoạt tính. Bên cạnh các gen mã hóa enzym chuyển hóa thuốc, sự đa hình của các gen mã hóa protein vận chuyển đóng vai trò quan trọng trong các quá trình hấp thu, phân bố, thải trừ thuốc cũng có thể ảnh hưởng đến đáp ứng điều trị ung thư.

Các chỉ dấu sinh học dự đoán đáp ứng thuốc có nguồn gốc tế bào ung thư còn được gọi là chỉ dấu sinh học dược lực học. Phần lớn các chỉ dấu sinh học này đều liên quan đến những thay đổi đặc trưng cho khối u, hay nói cách khác, đều có nguồn gốc từ tế bào ung thư. Điều này phản ánh thực tế là mức độ nhạy cảm với một thuốc điều trị ung thư chịu ảnh hưởng đáng kể bởi những khác biệt về protein đích của thuốc hoặc các protein liên quan có mặt ở tế bào ung thư. Các thuốc gắn liền với loại chỉ dấu sinh học này thường là các thuốc hướng đích phân tử, một nhóm quan trọng hàng đầu trong trị liệu ung thư. Bằng việc tác động vào đích phân tử trên tế bào ung thư, các thuốc này ngăn chặn con đường truyền tín hiệu tăng sinh và do đó ngăn chặn sự phát triển của khối u. Chỉ dấu sinh học về dược lực học của thuốc không chỉ bao gồm sự biến đổi của các gen mã hóa cho protein đích, mà còn bao gồm sự biến đổi của gen mã hóa cho một số protein gián tiếp tham gia vào quá trình truyền tín hiệu để đích phát huy tác dụng.

2. ỨNG DỤNG TRONG LÂM SÀNG CỦA CÁC CHỈ ĐẤU SINH HỌC DỰ ĐOÁN ĐÁP ỨNG THUỐC

Cho đến nay, khoảng 50% số thuốc ung thư đã được lưu hành có thông tin về chỉ dấu sinh học dự đoán kèm theo. Một số tổ chức như Ủy ban Thực hành gen được, Ủy ban Gen được Hà Lan, Trung tâm Ung thư quốc gia Hoa Kỳ đã ban hành nhiều hướng dẫn điều trị dựa trên các chỉ dấu sinh học này. Một số tổ chức khác như Trung tâm Ngăn ngừa và Kiểm soát bệnh tật (CDC) cũng đưa ra những khuyến cáo về ứng dụng, độ tin cậy của nhiều xét nghiệm di truyền trong thực hành lâm sàng. Cơ quan Dược phẩm và Thực phẩm Hoa Kỳ (FDA) và Cơ quan Dược phẩm châu Âu (EMA) đã đưa ra khuyến cáo về thông tin trên nhãn thuốc liên quan tới kiểu gen bệnh nhân. Trong số 155 loại nhãn thuốc mà FDA khuyến cáo về bổ sung thông tin kiểu gen, có 52 nhãn thuốc (của 41 thuốc) liên quan đến điều trị ung thư. Những thông tin nói trên cho thấy dùng thuốc theo cá thể trong điều trị ung thư là lĩnh vực phát triển nhanh nhất trong các lĩnh vực điều trị.

Bảng 14.1. Một số thuốc hướng đích kèm theo chỉ dấu sinh học được FDA phê duyệt

Phân tử đích	Thuốc	Loại ung thư	Các đột biến gen được dùng làm biomarker
ALK (Anaplastic lymphoma kinase)	Alectinib Brigatinib Ceritinib	Ung thư phổi không tế bào nhỏ	Đột biến <i>ALK</i>
ALK, MET (mesenchymal-epithelial transition), ROSI (round spermatid nuclei into non-fertilized mouse oocytes)	Crizotinib	Ung thư phổi không tế bào nhỏ	Đột biến chuyển đoạn <i>ALK</i> hoặc <i>ROSI</i>
BCR (breakpoint cluster region) -ABL1 (Abelson murine leukemia viral oncogene homolog 1)	Bosutinib Dasatinib Imatinib Nilotinib Ponatinib	Bạch cầu tủy mạn	Đột biến chuyển đoạn <i>BCR-ABL1</i>
BRAF (v-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog B)	Dabrafenib Trametinib	Ung thư phổi không tế bào nhỏ, u sắc tố, ung thư giáp	<i>BRAF</i> V600K

Phân tử đích	Thuốc	Loại ung thư	Các đột biến gen được dùng làm biomarker
MEK (Mitogen-activated protein kinase kinase)			
PDGFR (<i>Platelet-derived growth factor receptors</i>)	Imatinib	Ung thư tủy	<i>PDGFR</i>
VEGF (<i>Vascular endothelial growth factor</i>)	Bevacizumab	Ung thư phổi không tế bào nhỏ, đại trực tràng, cổ tử cung, biểu mô buồng trứng, vòi trứng, tế bào thận	<i>VEGF</i>

Ngay tại Việt Nam, nơi mà ứng dụng cá thể hóa điều trị vẫn còn ở những bước đi đầu tiên, một số chỉ dấu sinh học dự đoán đáp ứng thuốc đã được đưa vào điều trị ung thư để lựa chọn những bệnh nhân có đáp ứng tốt với hiệu quả điều trị cao và giảm thiểu tác dụng không mong muốn.

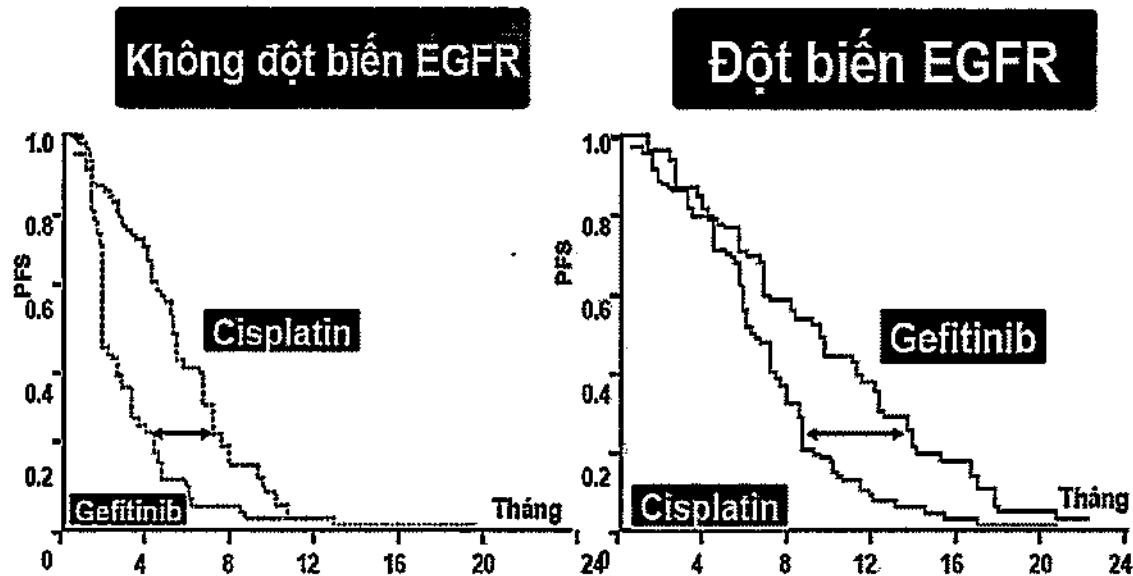
Dưới đây là ứng dụng của cá thể hóa điều trị trong một số loại ung thư phổ biến nhất.

3. CÁ THỂ HÓA TRONG ĐIỀU TRỊ UNG THƯ PHỔI

Mỗi năm thế giới có khoảng trên 1,6 triệu ca mắc mới ung thư phổi, trong đó, khoảng 85% là ung thư phổi không tế bào nhỏ, loại ung thư tiến triển nhanh và thường có tiên lượng sống thấp. Một trong những giải pháp quan trọng để tăng hiệu quả trong điều trị ung thư phổi không tế bào nhỏ là điều trị hướng đích, với đích phân tử được biết đến nhiều nhất là thụ thể yếu tố tăng trưởng biểu bì (epidermal growth factor receptor - EGFR).

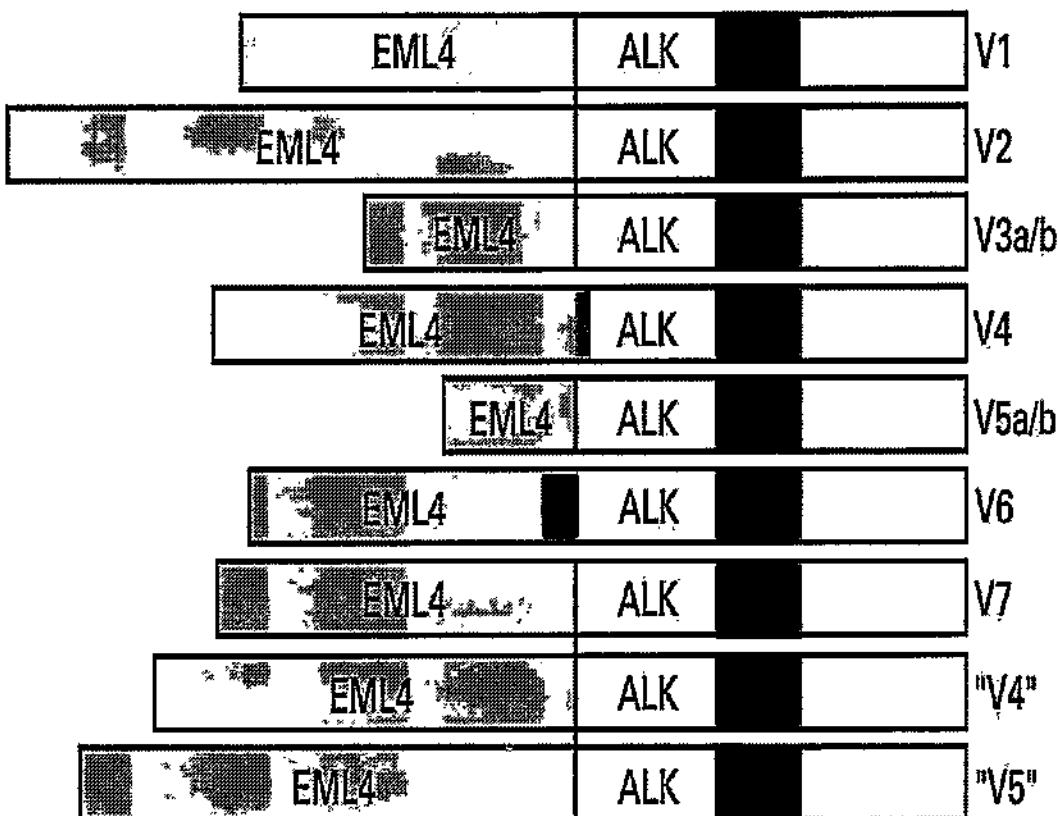
EGFR là một thụ thể trên màng tế bào, khi gắn với receptor đặc hiệu, sẽ khởi động chuỗi truyền tín hiệu nội bào dẫn đến sự tăng trưởng tế bào. Những đột biến gen *EGFR* được coi là đột biến gây ung thư (oncogene) do dẫn tới sự tăng biểu hiện và tăng hoạt động của thụ thể EGFR chính là một cơ chế bệnh sinh quan trọng dẫn tới tăng sinh tế bào, tạo thành khối u. Do đó, thụ thể EGFR là một protein đích quan trọng trong điều trị ung thư, với nhóm thuốc hướng đích ức chế tyrosin kinase TKI (tyrosin kinase inhibitor), giúp ức chế chuỗi truyền tín hiệu tăng sinh tế bào. Các nghiên cứu cho thấy khoảng 15% bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ ở châu Âu và khoảng 30 - 50% ở châu Á có mang

đột biến gen *EGFR* dạng hoạt hóa, làm tăng nhạy cảm của khối u với các thuốc TKI. Ngược lại, cũng có những loại đột biến gen *EGFR* dẫn đến tình trạng kháng thuốc TKI, mặc dù xuất hiện với tần suất nhỏ hơn các đột biến dạng hoạt hóa. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh có sự khác biệt về đáp ứng thuốc giữa các bệnh nhân mang các kiểu gen *EGFR* khác nhau. Một tổng quan của Riely dựa trên một loạt các nghiên cứu hồi cứu cho thấy bệnh nhân có các đột biến hoạt hóa của gen *EGFR* đáp ứng tốt hơn với thuốc TKI so với nhóm bệnh nhân có kiểu gen *EGFR* bình thường. Kết quả của một thử nghiệm lâm sàng pha III cũng khẳng định bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ giai đoạn muộn mang đột biến hoạt hóa gen *EGFR* khi được điều trị với các thuốc TKI (erlotinib hoặc gefitinib) có thể trì hoãn tiến triển bệnh và cải thiện chất lượng sống tốt hơn so với hóa trị. Chính vì vậy, đột biến gen *EGFR* được coi là một chỉ dấu sinh học quan trọng đối với việc điều trị ung thư phổi, đặc biệt ở châu Á, nơi có tần suất đột biến gen *EGFR* cao. Hiện nay, xét nghiệm gen *EGFR* đã được khuyến cáo bởi nhiều tổ chức quốc tế. Mạng lưới giáo dục về ung thư quốc gia Mỹ, Hiệp hội Ung thư lâm sàng châu Âu đều khuyến cáo xét nghiệm *EGFR* nên được làm thường quy ở bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ tiến triển hoặc di căn có kiểu mô học dạng tuyển trước khi quyết định lựa chọn phác đồ điều trị. Tại Việt Nam, theo Thông tư số 40 của Bảo hiểm Y tế Việt Nam và Thông tư số 30/2018/TT-BYT, bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ sẽ được chi trả 50% khi sử dụng các thuốc erlotinib hoặc gefitinib có xét nghiệm đột biến *EGFR* hoạt hóa.



Hình 14.1. So sánh thời gian sống thêm không tiến triển (PFS) giữa bệnh nhân mang đột biến *EGFR* và bệnh nhân không mang đột biến, điều trị bằng phác đồ phổi hợp *cisplatin - gefinitib*

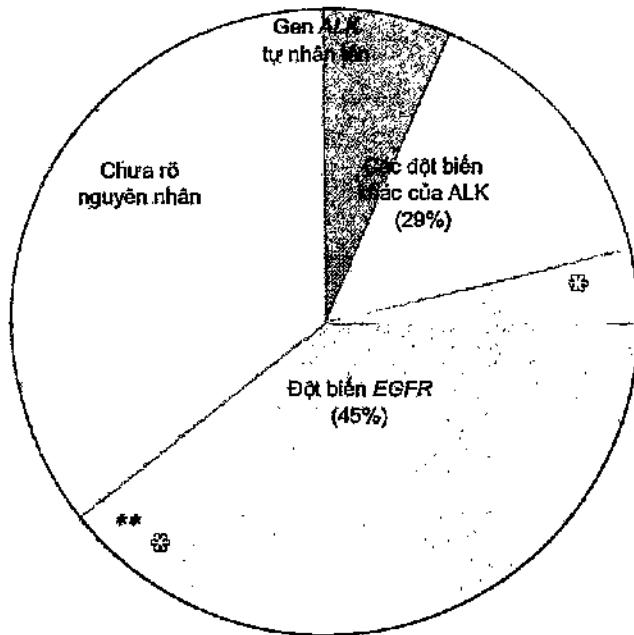
Trong ung thư phổi không tế bào nhỏ tiến triển, không có tế bào vảy, một nhóm thuốc hướng đích mới ra đời nhưng đã có những đóng góp quan trọng về hiệu quả điều trị là các chất ức chế ALK-TKI (anaplastic lymphoma kinase - tyrosin kinase inhibitor), với đại diện điển hình là crizotinib. ALK bình thường chỉ là một receptor loại tyrosin kinase biểu hiện chủ yếu ở tế bào thần kinh, đóng vai trò đối với sự phát triển của hệ thần kinh. Đột biến chuyển đoạn nhỏ xảy ra với gen *ALK* trên nhiễm sắc thể số 2 thường dẫn đến tạo thành phíc hợp với gen echinoderm microtubule-associated protein-like 4 (*EML4*). Cho đến nay, người ta đã biết đến hơn 20 loại đột biến *EML4-ALK* (Hình 14.2).



Hình 14.2. Một số kiểu đột biến chuyển đoạn tạo phíc hợp *EML4-ALK*

Kết quả của đột biến là làm thay đổi biểu hiện gen, dẫn đến hoạt hóa liên tục ALK kinase và các protein hạ nguồn của nó, gây tăng sinh tế bào không kiểm soát được. Khoảng 4% bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ mang đột biến này, nghĩa là khoảng 40.000 ca mắc mới mỗi năm trên toàn thế giới. Phát hiện về đột biến gây ung thư *EML4-ALK* đã dẫn đến sự ra đời của crizotinib, chất ức chế hoạt tính tyrosin kinase của ALK. Hiện nay, crizotinib đã được dùng phổ biến ở nhiều nước, cho những bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ dương tính với xét nghiệm tìm đột biến *ALK*. Tuy

nhiên, cũng có một tỷ lệ nhất định bệnh nhân này kháng với crizotinib. Các nguyên nhân được tìm thấy chủ yếu liên quan đến các đột biến khác của gen *ALK* hoặc bệnh nhân đồng thời mang đột biến *EGFR* (Hình 14.3).



Hình 14.3. Các nguyên nhân gây kháng crizotinib

(*): Sự kết hợp nhiều nguyên nhân khác nhau trong 1 bệnh nhân

(**): Đột biến gen khác

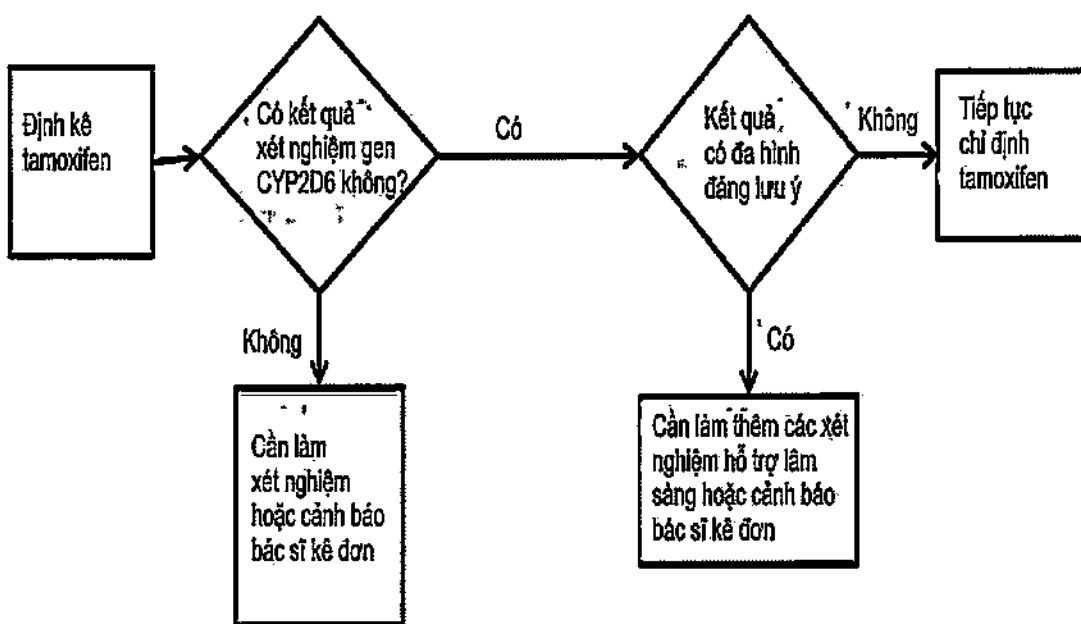
4. CÁ THỂ HÓA TRONG ĐIỀU TRỊ UNG THƯ VÚ

Ung thư vú là loại ung thư phổ biến nhất ở phụ nữ, với số lượng mắc mới ước tính trung bình là 1,6 triệu người/năm, tỷ lệ tử vong là 500 nghìn người/năm. Các chiến lược điều trị ung thư vú bao gồm: Hóa trị, xạ trị, phẫu thuật, liệu pháp hormon, liệu pháp hướng đích và liệu pháp miễn dịch, trong số đó, nhiều liệu pháp đã được áp dụng gen được để cá thể hóa điều trị, góp phần cải thiện hiệu quả điều trị, kéo dài thời gian sống cho người bệnh.

Tamoxifen là một chất kháng estrogen chọn lọc được sử dụng để điều trị ung thư vú di căn trên những phụ nữ tiền mãn kinh và sau mãn kinh. Tamoxifen được coi là một tiền thuốc bởi thông qua chuyển hóa ở gan bởi enzym CYP2D6, nó chuyển thành 4-hydroxytamoxifen và endoxifen, với hoạt tính kháng estrogen cao hơn hàng chục lần so với tamoxifen. Do đó, về lý thuyết, tác dụng của tamoxifen trên những bệnh nhân mang kiểu hình CYP2D6 chuyển hóa kém sẽ giảm đi do giảm sự tạo thành endoxifen và 4-

hydroxytamoxifen. Gen *CYP2D6* có tính đa hình di truyền cao. Đã có hơn 71 kiểu allele khác nhau của gen *CYP2D6* được miêu tả, trong đó có những allele gây giảm hoặc mất hẳn hoạt tính của enzym *CYP2D6*, ví dụ như *CYP2D6*4*, *CYP2D6*5*, *CYP2D6*6*, *CYP2D6*10*.... Một số thử nghiệm lâm sàng đã được tiến hành để đánh giá ảnh hưởng của sự đa hình gen *CYP2D6* và tác dụng của tamoxifen trên lâm sàng. Trong một thử nghiệm lâm sàng ngẫu nhiên pha III trên những bệnh nhân ung thư vú sau mãn kinh có ER⁺, kết quả cho thấy khi điều trị với tamoxifen, những bệnh nhân mang *CYP2D6* kiểu hình chuyển hóa trung bình hoặc kém có thời gian sống thêm (không tiến triển bệnh) ngắn hơn so với những bệnh nhân mang kiểu hình bình thường.

Từ những kết quả đó, Ủy ban Gen dược Hà Lan (Dutch Pharmacogenetics Working Group) đã đưa ra khuyến cáo điều trị đối với tamoxifen, theo đó, những người mang kiểu gen tương ứng với kiểu hình giảm chuyển hóa của *CYP2D6* có nguy cơ tái phát cao khi dùng tamoxifen, cần tránh dùng đồng thời với các chất ức chế *CYP2D6*, đối với bệnh nhân sau mãn kinh, nên cân nhắc thay thế bằng các thuốc ức chế aromatase. CPIC cũng đưa ra khuyến cáo tương tự và đưa ra quy trình lâm sàng liên quan đến xét nghiệm *CYP2D6* và chỉ định tamoxifen (Hình 14.4).

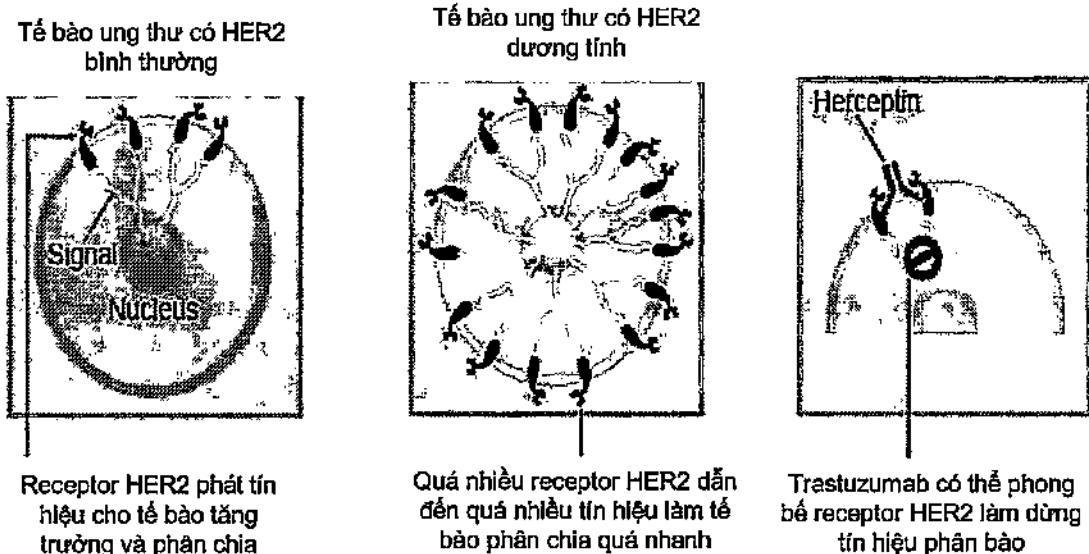


Hình 14.4. Quy trình lâm sàng chỉ định tamoxifen dựa trên xét nghiệm CYP2D6

(Xét nghiệm hỗ trợ lâm sàng là các xét nghiệm về kiểu hình CYP2D6)

Một ví dụ kinh điển về cá thể hóa trong điều trị ung thư vú là vai trò của Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) trong sử dụng trastuzumab. HER2 thuộc họ

receptor của yếu tố tăng trưởng tyrosin kinase typ 1, đóng vai trò quan trọng trong sự biệt hóa và tăng sinh của tế bào. Khoảng 25 - 30% các ca ung thư vú và 20% các ca ung thư dạ dày - thực quản có sự tăng biểu hiện HER2, 90% trong số đó có nguyên nhân từ đột biến gen HER2. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh sự tăng biểu hiện HER2 đi kèm với tiên lượng xấu như tăng kích thước u, có hạch bạch huyết, giảm thời gian sống không bệnh và thời gian sống thêm toàn bộ.



Hình 14.5. Cơ chế tác dụng của Trastuzumab trên tế bào ung thư

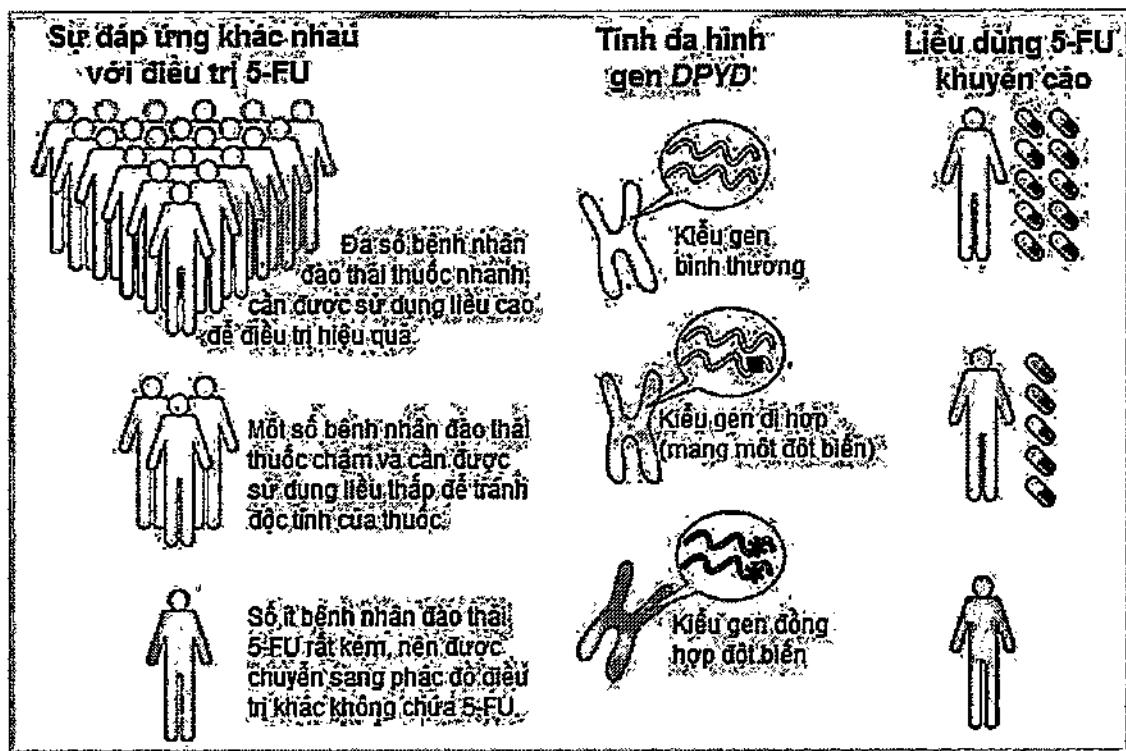
Trastuzumab là kháng thể đơn dòng đặc hiệu với receptor HER2. Có nhiều bằng chứng lâm sàng cho thấy đáp ứng với trastuzumab tốt hơn ở bệnh nhân ung thư vú xâm lấn và ung thư dạ dày có mang đột biến gây tăng biểu hiện HER2, ngược lại, hiệu quả điều trị kém ở những người mang gen HER2 bình thường. Xét nghiệm HER2 dương tính được định nghĩa là có tăng biểu hiện HER2 hoặc tăng khuếch đại gen HER2, xét nghiệm này được coi là điều kiện tiên quyết cho việc chỉ định trastuzumab. Điều này rất có lợi cho bệnh nhân bởi trastuzumab vừa là một thuốc đắt tiền, đồng thời, có độc tính cao trên hệ tim mạch. Ngay tại Việt Nam, đối với trastuzumab, bảo hiểm y tế thanh toán 60% chi phí điều trị đối với bệnh nhân ung thư vú có HER2 dương tính; thanh toán 50% đối với bệnh nhân ung thư dạ dày tiền triền hoặc di căn có HER2 dương tính.

5. CÁ THỂ HÓA TRONG ĐIỀU TRỊ UNG THƯ ĐẠI TRỰC TRÀNG

Ung thư đại trực tràng là một trong những loại ung thư phổ biến nhất và có tỷ lệ tử vong cao nhất. Hiện nay, các chiến lược chính trong điều trị ung thư đại trực tràng bao

gồm phẫu thuật, xạ trị, hóa trị liệu và dùng thuốc hướng đích. Trong đó, cá thể hóa trong dùng thuốc được ứng dụng trong lâm sàng với cả hóa trị liệu và thuốc hướng đích.

5-fluorouracil (5-FU) là một trong những thuốc hàng đầu được sử dụng trong hóa trị liệu ung thư đại trực tràng. Giống như các thuốc hóa trị liệu khác, 5-FU không chỉ tác động đến các tế bào ung thư mà còn tác động đến các tế bào lành, do đó nồng độ 5-FU cao có thể gây độc cho cơ thể. Các tác dụng không mong muốn phổ biến của 5-FU bao gồm viêm loét đường tiêu hóa, khó thở, rụng tóc, giảm bạch cầu làm tăng nguy cơ nhiễm trùng, giảm tiểu cầu dẫn đến xuất huyết, có thể khiến bệnh nhân phải dừng điều trị với 5-FU. Trong cơ thể, enzym có vai trò chuyển hóa 5-FU là dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD), có nhiều nhất trong gan. Một số nghiên cứu cho thấy, enzym này giáng hóa 80% lượng 5-FU khi sử dụng ở liều tiêu chuẩn trong các phác đồ điều trị ung thư. Cho đến nay, người ta đã phát hiện hơn 50 loại biến thể của gen mã hóa cho enzym này (gen *DPYD*). Trong đó, đáng chú ý nhất là đột biến ở intron 14 (IVS 14 + 1 G > A), với allele tương ứng là *DPYD*2A*. Đột biến này xảy ra trên vùng ranh giới của đoạn exon 14 và intron 14, kết quả tạo ra protein mất chức năng. Khoảng 3 - 5% dân số nói chung được phát hiện có kiểu gen dị hợp tử (mang một allele biến thể *DPYD*2A*), dẫn đến giảm hoạt tính enzym DPD, kết quả là giảm chuyển hóa 5-FU, làm tăng nồng độ thuốc trong máu. Những người mang kiểu gen này sẽ tăng nguy cơ gấp các tác dụng không mong muốn nghiêm trọng của 5-FU. Từ thực tế đó, Ủy ban Thực hành gen được trong lâm sàng (Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium - CPIC) đã khuyến cáo xét nghiệm đa hình gen *DPYD* cho các bệnh nhân ung thư trước khi chỉ định phác đồ chữa 5-FU. Những bệnh nhân mang kiểu gen dị hợp nên được điều trị bằng 5-FU với liều khởi đầu thấp hơn ít nhất 50% so với liều khởi đầu tiêu chuẩn, trong khi đó những người mang kiểu gen đồng hợp đa hình nên được chuyển sang các phác đồ điều trị khác không có 5-FU (Hình 14.6).



Hình 14.6. Khả năng đáp ứng thuốc của các bệnh nhân có kiểu gen DPYD khác

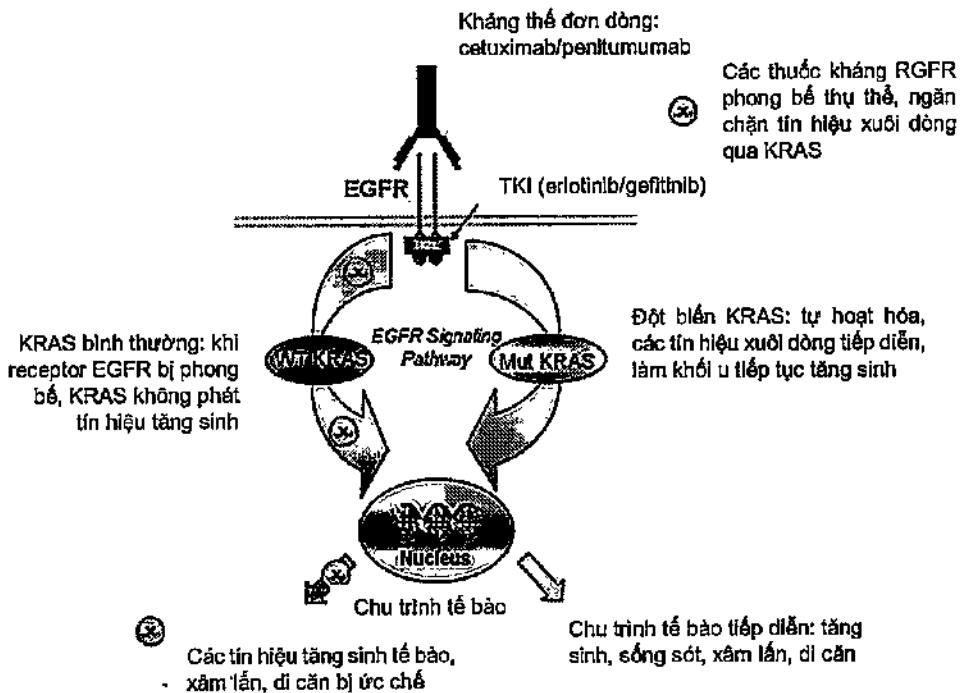
Irinotecan, một chất ức chế topoisomerase I, được sử dụng rộng rãi trong các phác đồ phối hợp để điều trị ung thư đại trực tràng giai đoạn muộn. Tuy nhiên, irinotecan thường có các tác dụng không mong muốn như giảm bạch cầu nghiêm trọng hoặc gây tiêu chảy. Một trong những enzym quan trọng giúp bắt hoạt và thải trừ irinotecan là enzym chuyển hóa pha 2 UDP-glucuronosyltransferase (UGT), mã hóa bởi gen *UGT1A1*. Nhiều nghiên cứu cho thấy nguy cơ độc tính khi dùng irinotecan tăng lên ở người mang biến thể gen gây giảm hoạt tính UGT, đặc biệt là allele biến thể *UGT1A1*28*. FDA yêu cầu nhãn thuốc irinotecan phải ghi rõ: “*Khi dùng đơn trị liệu, cần cân nhắc giảm liều irinotecan hydrochlorid ở bệnh nhân có kiểu gen đồng hợp từ UGT1A1*28. Tuy nhiên, việc điều chỉnh liều tiếp theo cần xem xét dựa trên đáp ứng của từng bệnh nhân*”. Trong khi đó, Ủy ban Gen dược Hà Lan (Dutch Pharmacogenetics Working Group) khuyến cáo giảm 70% liều khởi đầu ở bệnh nhân có kiểu gen đồng hợp từ *UGT1A1*28*. Mặt khác, mạng lưới Gen dược Pháp (RNPGx) đưa ra một bảng hướng dẫn điều chỉnh liều irinotecan dựa trên kiểu gen *UGT1A1* (Bảng 14.2).

Bảng 14.2. Hướng dẫn điều chỉnh liều irinotecan dựa trên kiểu gen UGT1A1

Điều Irinotecan	Khuyến cáo
Liều thấp (< 180 mg/m ² /tuần)	Sự có mặt alen <i>UGT1A1*28</i> không phải là yếu tố nguy cơ chính
180 - 130 mg/m ² , các chu kỳ cách nhau 2 - 3 tuần	Bệnh nhân có kiểu gen đồng hợp tử <i>UGT1A1*28</i> có nguy cơ cao gấp các độc tính trên hệ tạo máu và/ hoặc hệ tiêu hóa so với người mang kiểu gen dị hợp tử hoặc wildtype. Khuyến cáo giảm liều 25 - 30% ở người mang kiểu gen đồng hợp tử, đặc biệt ở những người mang thêm các yếu tố nguy cơ khác. Có thể điều chỉnh liều sau mỗi chu kỳ, dựa trên đáp ứng.
240 mg/m ² trở lên, các chu kỳ cách nhau 2 - 3 tuần	Bệnh nhân có kiểu gen đồng hợp tử <i>UGT1A1*28</i> có nguy cơ cao gấp các độc tính trên hệ tạo máu (giảm bạch cầu) so với người mang kiểu gen dị hợp tử hoặc wildtype. Cần chống chỉ định dùng với liều cao này và cần hội chẩn chọn liều dựa trên các yếu tố nguy cơ liên quan. Chỉ dùng liều cao này ở người mang kiểu gen wildtype hoặc dị hợp tử không mang thêm các yếu tố nguy cơ khác và có lợi ích khi dùng liều cao.

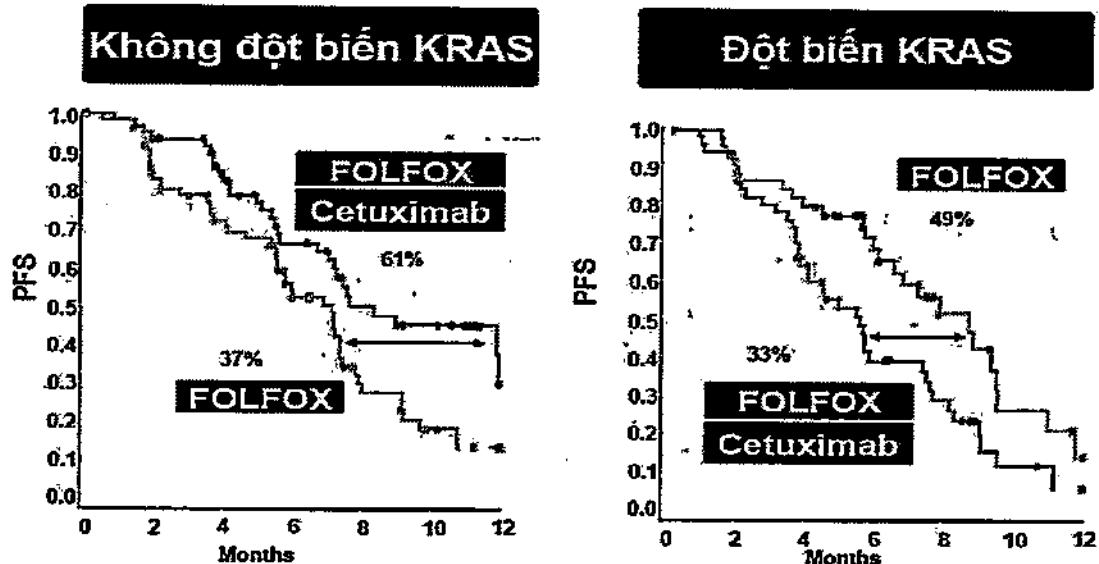
Trong điều trị ung thư đại trực tràng, các thuốc điều trị hướng đích góp phần quan trọng trong hiệu quả điều trị, kéo dài thời gian sống cho người bệnh. Một trong những nhóm thuốc hướng đích được ứng dụng rộng rãi trong điều trị ung thư đại trực tràng là cetuximab và panitumumab, các kháng thể đơn dòng kháng EGFR khiến cho yếu tố tăng trưởng không thể tiếp cận được thụ thể đặc hiệu, từ đó, ngăn chặn được sự tăng sinh khối u. Tuy nhiên, đáp ứng điều trị với cetuximab và panitumumab phụ thuộc rất nhiều vào Kirsten Rat Sarcoma Viral (KRAS) - một protein tham gia vào quá trình truyền tín hiệu xuôi dòng từ thụ thể EGFR. KRAS được gắn vào bên trong màng tế bào và là cầu nối cho các yếu tố hoạt hóa thượng nguồn (tín hiệu từ các yếu tố tăng trưởng) và các đích hạ nguồn (tín hiệu tăng sinh, sống sót và biệt hóa). Là một chất truyền tin hạ nguồn của EGFR, KRAS có vai trò quan trọng trong việc khởi phát và tiến triển của một số ung thư như ung thư phổi và ung thư đại trực tràng. Gen *KRAS* là một thành viên của họ gen *RAS* (Rat Sarcoma Viral), mã hóa cho protein KRAS. Khi đột biến *KRAS* xảy ra, phân tử protein KRAS ở trạng thái hoạt hóa liên tục, dẫn đến hậu quả là các phân tử truyền tin hạ nguồn luôn hoạt động để duy trì tín hiệu tăng sinh tế bào. Đột biến *KRAS* được coi là một oncogen đóng vai trò quan trọng cả trong hình thành ung thư cũng như sự đề kháng với điều trị ung thư. Hiện nay, khoảng 5000 đột biến gen *KRAS* đã được công bố, trong đó phổ biến nhất là đột biến thay thế nucleotid ở codon 12 và codon 13. Tần suất xuất hiện đột biến *KRAS* trong ung thư đại trực tràng dao động trong khoảng 27 - 43%. Sự hiện

diện của đột biến gen *KRAS* là một yếu tố tiên lượng xấu độc lập và giúp dự đoán hiện tượng kháng với phác đồ điều trị ức chế EGFR. Khi đột biến gen *KRAS* xảy ra, *KRAS* có khả năng tự phát ra tín hiệu nội bào để kích hoạt trở lại các con đường tín hiệu mà không phụ thuộc tín hiệu từ EGFR (Hình 14.7), do đó, dẫn đến vô hiệu hóa tác dụng của các kháng thể đơn dòng.



Hình 14.7. Vai trò của đột biến gen KRAS trong đáp ứng điều trị kháng thể đơn dòng kháng EGFR

Một nghiên cứu trên 30 bệnh nhân ung thư đại trực tràng di căn dùng cetuximab cho thấy: 100% nhóm bệnh nhân có đáp ứng tốt không mang đột biến gen *KRAS*, trong khi đó 68% nhóm bệnh nhân không đáp ứng mang đột biến *KRAS*. Nhiều nghiên cứu khác, bao gồm cả những phân tích meta cũng đã chỉ ra rằng những bệnh nhân ung thư đại trực tràng mang đột biến gen *KRAS* có đáp ứng điều trị kém và do đó không được hưởng lợi ích điều trị khi dùng cetuximab hoặc panitumumab, ngay cả khi kết hợp với hóa trị liệu (Hình 14.8).



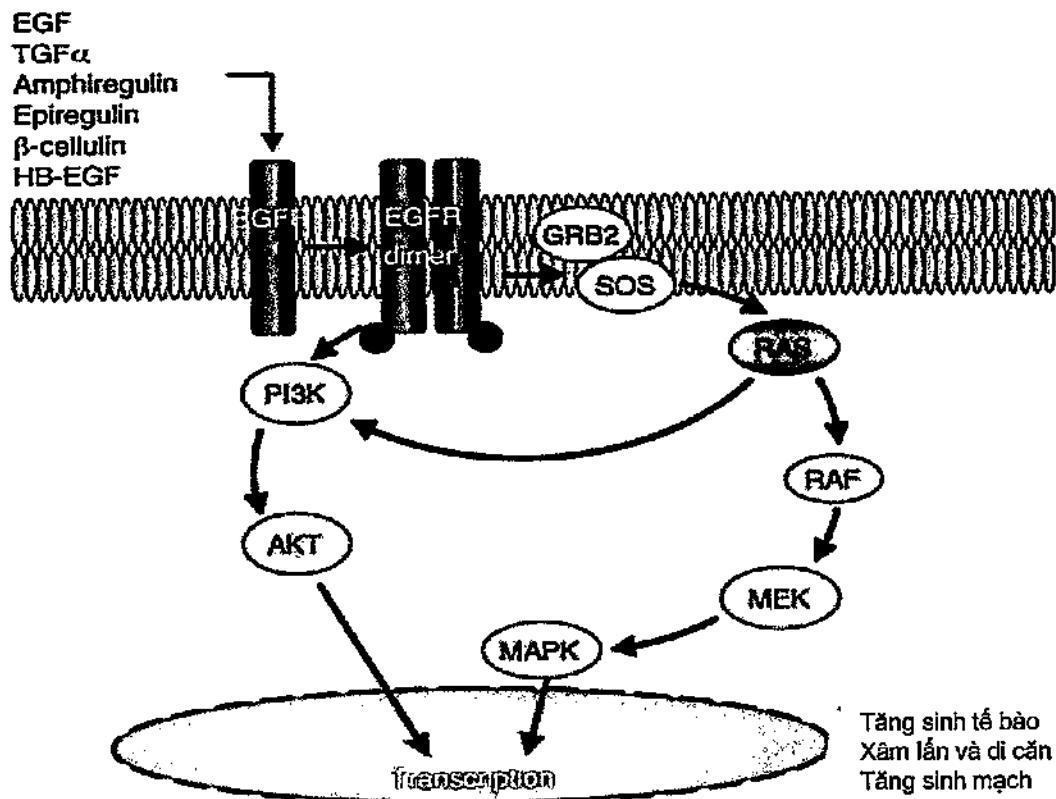
Hình 14.8. So sánh PFS giữa nhóm điều trị đơn độc với phác đồ FOLFOX và nhóm phối hợp FOLFOX - cetuximab ở bệnh nhân có và không mang đột biến KRAS

Từ thực tế đó, Hiệp hội Ung thư châu Âu và Hiệp hội Ung thư Hoa Kỳ đều khuyến cáo tất cả các bệnh nhân ung thư đại trực tràng đều cần thực hiện xét nghiệm phát hiện đột biến KRAS trước khi chỉ định điều trị với cetuximab hoặc panitumumab.

Ngay tại Việt Nam, xét nghiệm đột biến gen KRAS cũng đã được thực hiện ở một số bệnh viện lớn và quỹ bảo hiểm y tế chấp nhận thành toán 50% với các trường hợp điều trị ung thư đại trực tràng di căn thuộc type KRAS tự nhiên (wildtype) khi chỉ định điều trị với cetuximab.

Bên cạnh KRAS, một số đột biến gen họ RAS khác (ví dụ như: đột biến gen Neuroblastoma Rat Sarcoma Viral (*NRAS*)) cũng đã được chứng minh có ảnh hưởng đáng kể tới đáp ứng điều trị kháng EGFR. Hiệp hội Ung thư lâm sàng Mỹ khuyên cáo trước khi chỉ định phác đồ ức chế EGFR, cần làm thêm các xét nghiệm đột biến gen RAS mở rộng, bao gồm *KRAS* and *NRAS* codon 12, 13 thuộc exon 2, codon 59, 61 thuộc exon 3, codon 117, 146 thuộc exon 4. Mới đây, FDA cũng đã phê duyệt 1 bộ kit thương mại cho phép xét nghiệm 56 đột biến đặc hiệu ở exon 2, 3, 4 của cả gen KRAS và NRAS.

Ngoài họ gen RAS, một họ gen tương tự khác cũng liên quan đến đáp ứng ức chế thụ thể EGFR với cơ chế tương tự, đó là họ gen RAF, một họ gen mã hóa cho protein hạ nguồn trong con đường truyền tín hiệu qua thụ thể EGFR (con đường MAPK) (Hình 14.9). Trong họ này, gen BRAF là gen thường xuất hiện đột biến nhất và protein BRAF cũng là yếu tố hoạt hóa quan trọng nhất của MEK trong con đường MAPK. Đột biến gen BRAF được tìm thấy ở 7 - 10% bệnh nhân ung thư đại trực tràng di căn.



Hình 14.9. Con đường MAPK trong bệnh sinh ung thư

Cho đến nay, đã có hơn 30 đột biến *BRAF* được phát hiện, với tần suất rất khác nhau. Trong đó, phổ biến nhất là *BRAF V600E*, xảy ra ở vùng có hoạt tính kinase của *BRAF*, làm cho hoạt tính kinase tăng 10 lần so với người mang kiểu gen wildtype. Tần suất đột biến *BRAF V600E* chiếm hơn 90% tổng số đột biến gen *BRAF* ở bệnh nhân ung thư đại trực tràng.

Đã có nhiều phân tích gộp cho thấy vai trò dự đoán đáp ứng điều trị úc chế EGFR của đột biến gen *BRAF*. Có sự giảm tỷ lệ đáp ứng toàn thể, giảm PFS, OS ở người mang đột biến *BRAF V600E* so với người có kiểu gen wildtype. Hiệp hội ung thư lâm sàng Mỹ khuyến cáo cần làm xét nghiệm tìm đột biến *BRAF V600E* để cá thể hóa điều trị ung thư đại trực tràng. Tại Việt Nam, để hỗ trợ cho bệnh nhân, Thông tư 37 của Bảo hiểm Y tế Việt Nam đã quy định chi trả chi phí xét nghiệm phát hiện đột biến gen *BRAF*.

KẾT LUẬN

Trong các nhóm điều trị, thuốc điều trị ung thư là lĩnh vực được ứng dụng dùng thuốc theo cá thể phổ biến nhất do các thuốc ung thư có độc tính cao, chi phí lớn, đáp ứng điều trị rất khác biệt giữa các bệnh nhân khác nhau. Nhiều xét nghiệm gen đã ra đời song

hành với thuốc điều trị ung thư, đặc biệt là các thuốc hướng đích, giúp lựa chọn những bệnh nhân có đáp ứng tốt, cải thiện đáng kể thời gian sống và chất lượng cuộc sống của bệnh nhân. Bên cạnh đó, việc xét nghiệm gen liên quan đến được động học cũng đã giúp cá thể hóa điều trị, làm giảm độc tính của các thuốc hóa trị. Ngay tại Việt Nam, nơi nghiên cứu gen được còn đang ở những bước đi đầu tiên thì việc dùng xét nghiệm gen để cá thể hóa điều trị đối với các thuốc hướng đích cũng đã được áp dụng trong lâm sàng, đem lại lợi ích đáng kể cho người bệnh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế (2018), Thông tư số 30 - Thông tư ban hành danh mục và tỷ lệ, điều kiện thanh toán đối với thuốc hóa dược, sinh phẩm, thuốc phòng xạ và chất đánh dấu thuộc phạm vi được hưởng của người tham gia bảo hiểm y tế.
2. Bộ Y tế - Bộ Tài chính (2015), Thông tư liên tịch quy định thống nhất giá dịch vụ khám bệnh, chữa bệnh bảo hiểm y tế giữa các bệnh viện cùng hạng trên toàn quốc.
3. Phùng Thanh Hương, Phạm Thùy Linh, Nguyễn Thị Mai Hương, Nguyễn Thanh Huyền (2017), Tổng quan về dùng thuốc theo cá thể trong điều trị ung thư, Tạp chí Dược học, vol 57(499).
4. K. E. Caudle, C. F. Thorn, T. E. Klein (2013), Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guidelines for Dihydropyrimidine Dehydrogenase Genotype and Fluoropyrimidine Dosing, *Clin Pharmacol Ther.* 94(6): 640-645.
5. Annotation of Dutch Pharmacogenetics Working Group (DPWG) guideline information for tamoxifen and CYP2D6, Retrieved from <<https://www.pharmgkb.org/guideline/PA166104966>>, accessed 21/6/2017.
6. Ettinger D.S., Wood D.E. (2017). Non-Small Cell Lung Cancer, Version 5.2017, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw*, 15(4), 504-535.
7. C. Rodriguez-Antona, M. Taron (2015), Pharmacogenomic biomarkers for personalized cancer treatment, *Journal of Internal Medicine*, 2015, 277; 201-217.
8. Paulina Krzyszczuk et. Al. (2018), The growing role of precision and personalized medicine for cancer treatment, *Technology* Vol. 06, No. 03n04, pp. 79-100 (2018).
9. Marzia Del Re, Implications of KRAS mutations in acquired resistance to treatment in NSCLC, *Oncotarget*, 2018, Vol. 9, (No. 5), pp: 6630-6643.
10. Hiu Ting Chan, Yoon Ming Chin, Siew-Kee Low (2019), The Roles of Common Variation and Somatic Mutation in Cancer Pharmacogenomics, *Oncol Ther* (2019) 7:1-32.

NHÀ XUẤT BẢN Y HỌC

Địa chỉ: Số 352 - Đội Cấn - Ba Đình - Hà Nội

Website: www.xuatbanyhoc.vn; Email: xuatbanyhoc@fpt.vn.

Số điện thoại: 024.37625933/34

GEN DƯỢC HỌC - ẢNH HƯỚNG CỦA GEN ĐẾN ĐÁP ỨNG THUỐC

Sách đào tạo sau đại học

Chịu trách nhiệm xuất bản

TỔNG GIÁM ĐỐC

Chu Hùng Cường

Chịu trách nhiệm nội dung

BSCKI. Nguyễn Tiến Dũng

Biên tập: Nguyễn Thị Hằng

Sửa bản in: Nguyễn Thị Hằng

Trình bày bìa: Nguyệt Thu

Kt vi tính: Hải Phượng

Đối tác liên kết xuất bản: Trường Đại học Dược Hà Nội

In 800 cuốn, khổ 19 x 27 cm tại Công ty TNHH MTV Nhà xuất bản Y học.

Địa chỉ: Số 352 Đội Cấn - Ba Đình - Hà Nội.

Số xác nhận đăng ký xuất bản: 2094-2023/CXBIPH/1-87/YH.

Quyết định xuất bản số: 278/QĐ-XBYH ngày 02 tháng 10 năm 2023.

In xong và nộp lưu chiểu năm 2023.

Mã số sách tiêu chuẩn quốc tế - ISBN: 978-604-66-6165-8.