Tạp chí Công nghệ Sinh học **18**(1): 41-48, 2020

NGHIÊN CỨU ĐA HÌNH KIỂU GEN *CYP2C19*2, *3* VÀ **17* TRÊN NGƯỜI VIỆT NAM MẮC BỆNH ĐỘNG MẠCH VÀNH

Nguyễn Hải Hà[1,2], Lê Thị Bích Thảo[3], Nguyễn Thị Thanh Hoa[1], Lê Thị Thu Hiền[1,2,✉]

[1] *Viện Nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam*
[2] *Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam*
[3] *Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam*

✉ Người chịu trách nhiệm liên lạc. E-mail: hienlethu@igr.ac.vn

Ngày nhận bài: 12.3.2019
Ngày nhận đăng: 24.5.2019

TÓM TẮT

Bệnh động mạch vành là do sự tích tụ mảng xơ vữa động mạch bên trong thành động mạch, gây tắc nghẽn quá trình cung cấp máu đến cơ tim. Nhiều thử nghiệm lâm sàng cho thấy thuốc Clopidogrel có khả năng ức chế ngưng tập tiểu cầu trên bệnh nhân hội chứng mạch vành cấp, làm giảm tử vong và biến cố tim mạch. Tuy nhiên, tác dụng chống ngưng tập tiểu cầu của Clopidogrel phụ thuộc đáng kể vào tính đa hình kiểu gen mã hóa cho enzyme CYP2C19. Nghiên cứu này khảo sát tần số các allele *CYP2C19*2*, **3* và **17* có liên quan đến hiệu quả sử dụng thuốc Clopidogrel trên các bệnh nhân mắc bệnh động mạch vành ở Việt Nam. Các điểm đa hình đơn của gen *CYP2C19* ở 96 bệnh nhân được xác định bằng PCR và phân cắt bởi các enzyme giới hạn tương ứng *Sma*I, *Bam*HI và *Mnl*I. Kết quả, tỷ lệ bệnh nhân mang gen dị hợp *CYP2C19*2* (c. 681G>A, rs4244285), *CYP2C19*3* (c. 636G>A, rs4986893) và *CYP2C19*17* (g. -3402C>T, rs11188072) lần lượt là 39,58%; 6,25% và 2,08%. Tỷ lệ bệnh nhân có kiểu hình chuyển hóa trung bình là 41,67%, trong đó 37,50% mang kiểu gen **1/*2* và 4,17% mang kiểu gen **1/*3*; Số bệnh nhân có kiểu hình chuyển hóa kém chiếm 10,42%, trong đó 8,34% mang kiểu gen **2/*2* và 2,08% mang kiểu gen **2/*3*. Đặc biệt, nghiên cứu phát hiện 2 bệnh nhân (chiếm 2,08%) có kiểu gen dị hợp *CYP2C19*1/*17* có khả năng chuyển hóa thuốc cực nhanh. Kết quả của nghiên cứu là tiền đề cho việc đưa ra liệu pháp chống ngưng tập tiểu cầu cá thể hóa ở Việt Nam dựa vào xét nghiệm di truyền.

Từ khóa: *Bệnh động mạch vành, chuyển hóa Clopidogrel, đa hình gen CYP2C19*

ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh động mạch vành là căn bệnh phổ biến nhất trong các bệnh về tim mạch. Theo thống kê của Tổ chức Y tế Thế giới, trong năm 2015, bệnh động mạch vành đã gây ảnh hưởng đến 110 triệu người và khiến 8,9 triệu người tử vong, chiếm đến 15,6% tổng số ca tử vong (GBD 2015 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators, 2016). Triệu chứng điển hình của bệnh là đau thắt ngực do cơ tim không được cung cấp đầy đủ máu giàu oxy. Thông thường cơn đau thắt ngực xảy ra khi động mạch vành bị hẹp trên 50% khẩu kính của lòng mạch. Ngoài ra, bệnh nhân có thể cảm thấy đau lan xuyên lồng ngực hoặc bị chèn ép ra hai vai, cánh tay, lưng, cổ và hàm. Nguyên nhân của bệnh chủ yếu là sự tích tụ mảng xơ vữa động mạch bên trong thành động mạch cung cấp máu đến cơ tim. Mảng xơ vữa bị vỡ ra có thể gây tắc mạch đột ngột hoặc tạo thành cục huyết khối (máu đông) gây tắc mạch. Khi động mạch bị tắc nghẽn hoàn toàn sẽ gây ra hiện tượng nhồi máu cơ tim (Ambrose, Singh, 2015).

Nhiều nghiên cứu thử nghiệm lâm sàng trên

thế giới cho thấy thuốc Clopidogrel có khả năng ức chế ngưng tập tiểu cầu trên bệnh nhân hội chứng mạch vành cấp, làm giảm tử vong và biến cố tim mạch. Clopidogrel là một tiền chất thienopyridine thế hệ thứ hai (prodrug). Khi vào cơ thể, Clopidogrel cần được chuyển hóa thông qua CYP450 ở gan, để tạo ra chất chuyển hóa hoạt động có thể ức chế một cách chọn lọc và không hồi phục các thụ thể $P2Y_{12}$ trên bề mặt tiểu cầu, qua đó ức chế sự hoạt hóa tiểu cầu bởi ADP (Mega *et al*., 2009). Hiệu quả của thuốc được tăng cường khi kết hợp Clopidogrel với Aspirin (Yusuf *et al*., 2001; Chen *et al*., 2005; Sabatine *et al*., 2005). Theo đó sự kết hợp này làm giảm 20% các biến cố tổng hợp bao gồm tử vong do bệnh lý tim mạch, nhồi máu cơ tim và đột quỵ so với giả dược khi điều trị trong 9-12 tháng (Yusuf *et al*., 2001). Tuy nhiên, hạn chế của Clopidogrel là thời gian khởi phát tác dụng và hết tác dụng dài. Hơn nữa, tình trạng tiểu cầu tái hoạt động cao khi đang điều trị Clopidogrel có liên quan đến các đặc điểm lâm sàng, hành vi và yếu tố di truyền. Trên thực tế, tác dụng chống ngưng tập tiểu cầu của Clopidogrel phụ thuộc đáng kể vào tính đa hình kiểu gen của enzyme chuyển hóa CYP2C19 (Mega *et al*., 2009).

Những nghiên cứu ở Việt Nam hiện nay thường tập trung vào việc so sánh hiệu quả giữa các thuốc chống ngưng tập tiểu cầu mới hoặc hiện tượng kháng các thuốc này trên bệnh nhân mắc bệnh tim mạch (Quách Hữu Trung, 2014). Tuy nhiên, công bố liên quan đến khả năng đáp ứng thuốc bị ảnh hưởng bởi đa hình kiểu gen *CYP2C19* trên bệnh nhân người Việt Nam vẫn còn khá ít và chủ yếu tập trung vào hai allele *CYP2C19*2*, *CYP2C19*3* và chưa được thực hiện đối với allele *CYP2C19*17* (Nguyễn Thị Thúy Mậu *et al*., 2017; Vũ Thị Thơm *et al*., 2018). Nghiên cứu này nhằm mục tiêu xác định tần số phân bố kiểu gen *CYP2C19*2*, *CYP2C19*3* và *CYP2C19*17* ở bệnh nhân mắc bệnh động mạch vành bằng kỹ thuật đa hình chiều dài các đoạn cắt giới hạn (Restriction Fragment Length Polymorphism - RFLP). Kết quả nghiên cứu là tiền đề cho cá thể hóa việc điều trị bệnh nhân dựa vào xét nghiệm di truyền ở Việt Nam.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu

Các mẫu máu ngoại vi được thu thập từ 96 bệnh nhân mắc bệnh động mạch vành. Các bệnh nhân này được xác định và điều trị tại Bệnh viện Bạch Mai từ năm 2013 đến năm 2017. Nghiên cứu xác định đột biến gen được thực hiện tại Viện Nghiên cứu hệ gen và Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Tách chiết DNA tổng số

DNA tổng số được tách chiết từ máu ngoại vi (chống đông bằng EDTA) bằng kit Wizard Genomic DNA Purification (Promega Corporation, Hoa Kỳ). Chất lượng của các mẫu DNA được đo bằng máy quang phổ Biospectrometer (Eppendorf, Đức).

Xác định kiểu gen bằng phương pháp PCR-RFLP

Các kiểu allele *CYP2C19*2*, *CYP2C19*3* và *CYP2C19*17* của 96 bệnh nhân được xác định bằng kỹ thuật RFLP). Đầu tiên, đoạn gen chứa từng điểm đa hình đơn đại diện cho các allele *CYP2C19*2 (*c.681GA>G), *CYP2C19*3* (c.636G>A) và *CYP2C19*17* (-3402C>T và -806C>T) được khuếch đại bằng phản ứng PCR sử dụng các cặp mồi đặc hiệu với tổng thể tích 25 µL bao gồm 10 ng DNA tổng số, 12,5 µL PCR Master Mix (Thermo Fisher Scientific, Hoa Kỳ), 10 pmol mỗi mồi đặc hiệu và 9,5 µL nước khử ion. Phản ứng được thực hiện với chu trình nhiệt như sau: Biến tính ở 95^{o}C trong 5 min, tiếp theo là 40 chu kỳ bao gồm 95^{o}C trong 30 s, 56-58^{o}C trong 30 s, 72^{o}C trong 40 s và giai đoạn kéo dài cuối cùng ở 72^{o}C trong 10 min. Sau khi điện di kiểm tra,10 µL của mỗi sản phẩm khuếch đại được cắt bởi các enzyme giới hạn *Sma*I, *Bam*HI và *Mnl*I (New England Biolabs, Hoa Kỳ) tương ứng với các điểm đa hình đơn (Single Nucleotide Polymorphism - SNP) tại vị trí c.681, c.636 và -3402 của gen *CYP2C19* trong 13-14 h ở 37^{o}C. Sản phẩm cắt bằng enzyme giới hạn được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 1,5%. Trình tự mồi và điểm cắt của enzyme giới hạn được trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1. Trình tự mồi, enzyme giới hạn sử dụng trong xác định kiểu gen *CYP2C19*2*, *CYP2C19*3, CYP2C19*17* và sản phẩm sau khi xử lý enzyme giới hạn. F: mồi xuôi; R: mồi ngược

SNP	Trình tự mồi	Sản phẩm PCR (bp)	Enzyme giới hạn	Sản phẩm cắt enzyme (bp)
*CYP2C19*2* (c. 681G>A)	TGATGCTTACTGGATATTCATGC (F) CCTTCACTCACTTTTTGATGGA (R)	714	*Sma*I	GG: 469, 245 GA: 714, 469, 245 AA: 714
*CYP2C19*3* (c. 636G>A)	TTTAACCAGCTAGGCTGTAA (F) ATTGGGATATTCATTTCCTG (R)	560	*Bam*HI	GG: 362, 198 GA: 560, 362, 198 AA: 560
*CYP2C19*17* (g. -3402C>T)	AATAAAGATGACCTTGATCTGG (F) TCTCCTGAAGTGTCTGTAC (R)	500	*Mnl*I	CC: 280, 220 CT: 500, 280, 220 TT: 500

Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu được thu thập và xử lý sử dụng phần mềm SPSS 16.0.

Đạo đức nghiên cứu

Các số liệu và thông tin nghiên cứu hoàn toàn chính xác, trung thực và khách quan, đã được xác nhận và chấp nhận bởi cơ sở nghiên cứu. Các thông tin về bệnh nhân được giữ bí mật và chỉ phục vụ cho công tác nghiên cứu.

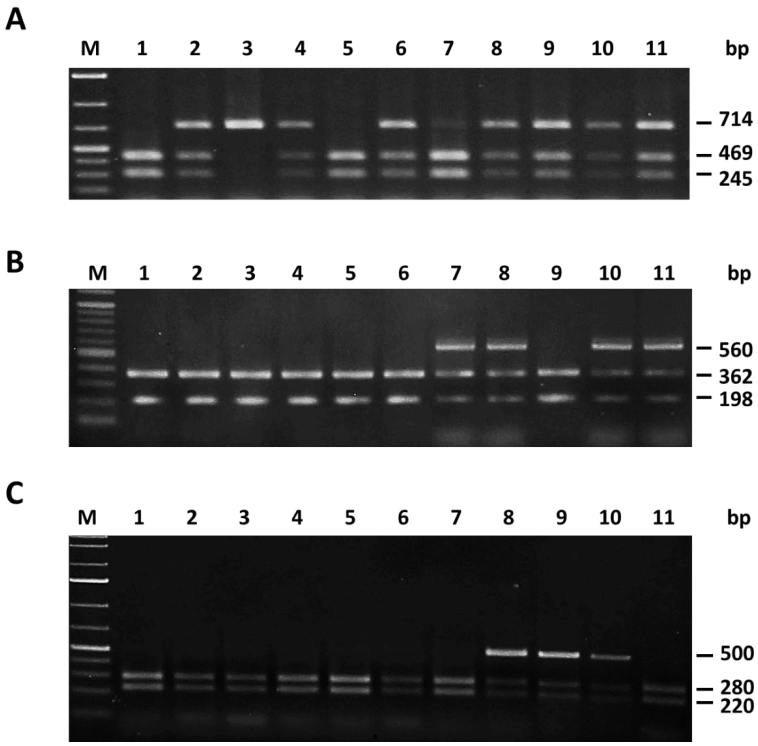
KẾT QUẢ

Kết quả xác định kiểu allele *CYP2C19*2*, *CYP2C19*3* và *CYP2C19*17* bằng kỹ thuật RFLP được minh họa trong Hình 1. Trong số 96 bệnh nhân, tỷ lệ bệnh nhân mang gen dị hợp *CYP2C19*2* (c. 681G>A, rs4244285), *CYP2C19*3* (c. 636G>A, rs4986893) và *CYP2C19*17* (g. -3402C>T, rs11188072) lần lượt là 39,58%, 6,25% và 2,08%. Kết quả tần số các allele và phân bố kiểu gen của đa hình *CYP2C19* được thể hiện trong Bảng 2 và Bảng 3.

Kiểu hình *CYP2C19*2*, *CYP2C19*3* và *CYP2C19*17* của 96 mẫu máu bệnh nhân có hội chứng động mạch vành đã được nghiên cứu với kết quả 41,67% số bệnh nhân có kiểu hình chuyển hóa trung bình **1/*2* (37,50%) và **1/*3* (4,17%). Số bệnh nhân có kiểu hình chuyển hóa kém chiếm 10,42% tổng số bệnh nhân, trong đó 8,34% mang kiểu gen **2/*2*; 2,08% mang kiểu gen **2/*3* và không có bệnh nhân nào trong nhóm có kiểu gen **3/*3*. Đặc biệt, nghiên cứu đã phát hiện 2 bệnh nhân (chiếm 2,08%) có kiểu gen dị hợp của biến thể allele **17* (*CYP2C19*1/*17*) có khả năng chuyển hóa thuốc cực nhanh.

THẢO LUẬN

Hoạt tính của enzyme CYP2C19 đã được chứng minh đóng vai trò chủ chốt trong việc đáp ứng thuốc chống ngưng tập tiểu cầu (Mega *et al*., 2009). Trong số 24 biến thể đột biến allele đã biết của *CYP2C19*, các đa hình di truyền *CYP2C19*2*, *CYP2C19*3* và *CYP2C19*17* là quan trọng nhất. Các đa hình *CYP2C19* thường dẫn đến một protein bị khiếm khuyết hoặc không có chức năng, hoặc enzyme không hoạt động; do đó, việc thiếu khả năng chuyển hóa Clopidogrel thành chất chuyển hóa có hoạt tính dẫn đến đáp ứng đối với tác dụng kháng tiểu cầu giảm dần, gây thất bại trong điều trị và tăng nguy cơ mắc các biến cố tim mạch. Nhiều công trình nghiên cứu đã công bố rằng đa hình **2* (đột biến điểm G681A tại exon 5) gây ra khiếm khuyết khi cắt nối RNA và chấm dứt sớm quá trình tổng hợp protein, và đa hình **3* (chuyển đổi nucleotide G thành A tại vị trí 636) tạo ra mã kết thúc sớm, dẫn đến protein bị cắt ngắn hơn so với ban đầu. Trong khi đó, đột biến *CYP2C19*17* (−806C> T, −3402C> T) được biết là làm tăng phiên mã gen (Hagymási *et al*., 2011). Vì vậy, mục tiêu của nghiên cứu là khảo sát tính đa hình các allele *CYP2C19*2*, *CYP2C19*3* và *CYP2C19*17* ở các bệnh nhân mắc bệnh động mạch vành được chỉ định điều trị bằng thuốc Clopidogrel.



Hình 1. Xác định đa hình kiểu gen *CYP2C19* bằng enzyme giới hạn. **A.** Sản phẩm cắt đoạn *CYP2C19*2* bằng *Sma*I; 1 và 5: mẫu DNA mang kiểu gen GG; 2, 4, 6-11: Mẫu DNA mang kiểu gen GA; 3: Mẫu DNA mang kiểu gen AA. **B.** Sản phẩm cắt đoạn *CYP2C19*3* bằng *Bam*HI; 1-6 và 9: Mẫu DNA mang kiểu gen GG; 7, 8, 10 và 11: mẫu DNA mang kiểu gen GA. **C.** Sản phẩm cắt đoạn *CYP2C19*17* bằng *Mnl*I; 1-7 và 11: Mẫu DNA mang kiểu gen CC; 8-10: Mẫu DNA mang kiểu gen CT. M: Marker 1 kb plus.

Bảng 2. Tần số allele của các đa hình *CYP2C19* trên 96 bệnh nhân mắc bệnh động mạch vành.

CYP2C19*2 (c. 681G>A, rs4244285)	**Số lượng**	**Tần số (%)**	**Tần số allele**
GG	50	52,08	G 0,72
GA	38	39,58	A 0,28
AA	8	8,34	
Tổng số	96	100,00	1,00
CYP2C19*3 (c. 636G>A, rs4986893)	**Số lượng**	**Tần số (%)**	**Tần số allele**
GG	90	93,75	G 0,97
GA	6	6,25	A 0,03
AA	0	0	
Tổng số	96	100,00	1,00
CYP2C19*17 (g. -3402C>T, rs11188072)	**Số lượng**	**Tần số (%)**	**Tần số allele**
CC	94	97,92	C 0,99
CT	2	2,08	T 0,01
TT	0	0	
Tổng số	96	100	1,00

Bảng 3. Phân bố kiểu allele của *CYP2C19* trên 96 bệnh nhân mắc bệnh động mạch vành.

Dự đoán kiểu hình	Kiểu allele[a]	Số lượng bệnh nhân	Tần số (%)
Chuyển hóa bình thường	**1/*1*	44	45,83
Chuyển hóa trung bình	**1/*2*	36	37,50
	**1/*3*	4	4,17
Chuyển hóa kém	**2/*2*	8	8,34
	**2/*3*	2	2,08
	**3/*3*	0	0,00
Chuyển hóa cực nhanh	**1/*17*	2	2,08
	**17/*17*	0	0,00
Tổng số		96	100

[a]Kiểu gen đồng hợp/dị hợp tại vị trí đa hình của gen *CYP2C19*. Trường hợp kiểu allele **2/*3* biểu thị cho bệnh nhân mang đồng thời 2 kiểu gen dị hợp của biến thể allele *CYP2C19*2* và *CYP2C19*3*.

THẢO LUẬN

Hoạt tính của enzyme CYP2C19 đã được chứng minh đóng vai trò chủ chốt trong việc đáp ứng thuốc chống ngưng tập tiểu cầu (Mega *et al*., 2009). Trong số 24 biến thể đột biến allele đã biết của *CYP2C19*, các đa hình di truyền *CYP2C19*2*, *CYP2C19*3* và *CYP2C19*17* là quan trọng nhất. Các đa hình *CYP2C19* thường dẫn đến một protein bị khiếm khuyết hoặc không có chức năng, hoặc enzyme không hoạt động; do đó, việc thiếu khả năng chuyển hóa Clopidogrel thành chất chuyển hóa có hoạt tính dẫn đến đáp ứng đối với tác dụng kháng tiểu cầu giảm dần, gây thất bại trong điều trị và tăng nguy cơ mắc các biến cố tim mạch. Nhiều công trình nghiên cứu đã công bố rằng đa hình **2* (đột biến điểm G681A tại exon 5) gây ra khiếm khuyết khi cắt nối RNA và chấm dứt sớm quá trình tổng hợp protein, và đa hình **3* (chuyển đổi nucleotide G thành A tại vị trí 636) tạo ra mã kết thúc sớm, dẫn đến protein bị cắt ngắn hơn so với ban đầu. Trong khi đó, đột biến *CYP2C19*17* (−806C> T, −3402C> T) được biết là làm tăng phiên mã gen (Hagymási *et al*., 2011). Vì vậy, mục tiêu của nghiên cứu là khảo sát tính đa hình các allele *CYP2C19*2*, *CYP2C19*3* và *CYP2C19*17* ở các bệnh nhân mắc bệnh động mạch vành được chỉ định điều trị bằng thuốc Clopidogrel.

Những công bố trên thế giới cho thấy bệnh nhân được dự đoán kiểu hình chuyển hóa kém chiếm khoảng 13% ở người da trắng, 19% ở người châu Phi và 32% dân số châu Á (Martis *et al*., 2012). Điều này được giải thích bằng tần số của các allele khiếm khuyết (*CYP2C19*2* và *CYP2C19*3*) cao hơn trong các dân tộc ở châu Á so với các dân tộc ở các châu lục khác. Trong nghiên cứu này, tần số allele *CYP2C19*2* của người Việt Nam tương đương với các nước khác như Hàn Quốc, Thái Lan và Malaysia cũng như tần số allele trung bình của người châu Á. Tuy nhiên tần số này cao gần gấp đôi so với tần số allele *CYP2C19*2* trung bình của người da trắng và người châu Phi – châu Mỹ (Bảng 4). Đặc biệt, nhóm người châu Á có tần số allele khiếm khuyết *CYP2C19*3* (0,048) cao hơn đáng kể so với nhóm người da trắng và người châu Phi – châu Mỹ (0,004) (Martis *et al*., 2012). Ngược lại, kiểu hình chuyển hóa thuốc cực nhanh của bệnh nhân sở hữu đa hình *CYP2C19*17* ở châu Âu cao hơn rất nhiều so với châu Á, trong đó có Việt Nam. Sự thay đổi rõ rệt trong hoạt động của enzyme CYP2C19 biểu hiện từ gen *CYP2C19*17* trong quá trình chuyển hóa thuốc là do đột biến −3402C> T và đột biến −806C> T nằm trong vùng điều hòa phiên mã của gen, dẫn đến sự tăng cường hoạt động phiên mã (Anichavezhi *et al*., 2012). Ngoài ra, giới hạn tần số allele *CYP2C19*17* và không có mẫu nào ở dạng đồng hợp **17/*17* cho thấy allele này không phải là

yếu tố quan trọng quyết định sự biến đổi hoạt động của CYP2C19 ở người Việt Nam.

Kết quả của nghiên cứu này rất có lợi trong việc hoạch định chiến lược thực hiện liệu pháp chống ngưng tập tiểu cầu cá thể hóa ở Việt Nam. Năm 2011, Hiệp hội thực hiện Dược động học lâm sàng - Viện Nghiên cứu Dược phẩm Quốc gia của Hoa Kỳ đã thiết lập các hướng dẫn bắt đầu điều trị bằng Clopidogrel dựa trên việc dự đoán các kiểu hình chuyển hóa (Scott *et al*., 2011). Theo đó, phương pháp thay thế như Prasugrel hoặc Ticagrelor được khuyến nghị áp dụng cho những bệnh nhân chuyển hóa kém Clopidogrel. Nhiều nghiên cứu lâm sàng đã chứng minh sự thay đổi của enzyme CYP2C19 đối với chuyển hóa thuốc tạo nên sự khác biệt rõ rệt giữa các cá nhân về nồng độ trong huyết tương, từ đó đề xuất liều dùng Clopidogrel cho bệnh nhân. Trong bối cảnh các thuốc chống ngưng tập tiểu cầu mới có giá thành cao và nguy cơ xuất huyết lớn, đồng thời Clopidogrel đã được sản xuất ở dạng thuốc tương tự biệt dược gốc, việc xác định các bệnh nhân đáp ứng kém với Clopidogrel (dựa trên các xét nghiệm chức năng tiểu cầu hoặc kiểu gen) để quyết định cho họ tăng liều Clopidogrel hay sử dụng các thuốc mới, cũng như sử dụng liều Clopidogrel chuẩn với những bệnh nhân đáp ứng tốt là đặc biệt quan trọng. Để đạt được hiệu quả chống ngưng tập tiểu cầu ổn định như mong muốn ở những bệnh nhân mang allele bất thường về chuyển hóa Clopidogrel, Prasugrel và Ticagrelor có thể nên được ưu tiên hơn là dùng liều cao Clopidogrel. Nguyên nhân là do Prasugrel không được chuyển hóa bằng CYP2C19 như Clopidogrel (Wiviott *et al*., 2007) và Ticagrelor có tác dụng ức chế trực tiếp thụ thể $P2Y_{12}$ mà không cần qua quá trình hoạt hóa, do đó không phụ thuộc vào các enzyme Cytochrome P450 (Damman *et al*., 2011). Đồng thời, Prasugrel và Ticagrelor khởi phát hoạt động nhanh và tác dụng ức chế ngưng tập tiểu cầu mạnh hơn và bền vững hơn Clopidogrel.

Bảng 4. Biến thể *CYP2C19* (**1*, **2*, **3* và **17*) của các dân tộc trên thế giới.

Dân tộc	Số lượng mẫu	Tần số các allele của *CYP2C19*				Trích dẫn
		**1*	**2*	**3*	**17*	
Việt Nam	96	0,677	0,281	0,031	0,011	Nghiên cứu hiện tại
Trung Quốc	400	0,697	0,247	0,033	0,012	Chen *et al*., 2008
Nhật Bản	265	0,579	0,279	0,128	0,013	Sugimoto *et al*., 2008
Hàn Quốc	377	0,640	0,280	0,080	-	Lee *et al*., 2007
Thái Lan	1051	0,627	0,270	0,060	0,043	Sukasem *et al*., 2013
Malaysia	142	0,660	0,280	0,060	-	Pang *et al*., 2004
Iran	200	0,860	0,140	0,000	-	Zand *et al*., 2007
Châu Á	250	0,614	0,276	0,048	0,062	Martis *et al*., 2012
Người da trắng	250	0,696	0,132	0,004	0,158	Martis *et al*., 2012
Bồ Đào Nha	250	0,612	0,116	-	0,272	Kurzawski *et al*., 2006
Na Uy	664	0,593	0,181	0,006	0,220	Rudberg *et al*., 2008
Châu Phi – châu Mỹ	250	0,594	0,194	0,004	0,182	Martis *et al*., 2012

Lời cảm ơn: *Công trình được thực hiện với kinh phí được tài trợ bởi đề tài "Nghiên cứu đa dạng di truyền các gen Cytochrome 450 CYP2C9, CYP2C19 và CYP2D6 trên các nhóm người Việt Nam khỏe mạnh và bệnh nhân ung thư vú" (mã số 106-YS.02.-2014.30) thuộc hướng Khoa học sự sống – Y sinh Dược học của Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia.*

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Ambrose JA, Singh M (2015) Pathophysiology of

coronary artery disease leading to acute coronary syndromes. *F1000Prime Rep* 7: 08.

Anichavezhi D, Chakradhara Rao US, Shewade DG, Krishnamoorthy R, Adithan C (2012) Distribution of *CYP2C19*17* allele and genotypes in an Indian population. *J Clin Pharm Ther* 37(3): 313–318.

Chen L, Qin S, Xie J, Tang J, Yang L, Shen W, Zhao X, Du J, He G, Feng G, He L, Xing Q (2008) Genetic polymorphism analysis of CYP2C19 in Chinese Han populations from different geographic areas of mainland China. *Pharmacogenomics* 9(6): 691–702.

Chen ZM, Jiang LX, Chen YP (2005) Addition of clopidogrel to aspirin in 45 852 patients with acute myocardial infarction: randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 366: 1607–1621.

Damman P, Woudstra P, Kuijt WJ, de Winter RJ, James SK (2011) P2Y12 platelet inhibition in clinical practice. *J Thromb Thrombolysis* 33(2): 143–153.

GBD 2015 disease and injury incidence and prevalence collaborators (2016) Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 310 diseases and injuries, 1990-2015: a systematic analysis for the global burden of disease study 2015. *Lancet* 388(10053): 1545–1602.

Hagymási K, Müllner K, Herszényi L, Tulassay Z (2011) Update on the pharmacogenomics of proton pump inhibitors. *Pharmacogenomics* 12(6): 873–888.

Kurzawski M, Gawrońska‐Szklarz B, Wrześniewska J, Siuda A, Starzyńska T and Droździk M (2006) Effect of *CYP2C19*17* gene variant on Helicobacter pylori eradication in peptic ulcer patients. *Eur J Clin Pharmacol* 62: 877–880.

Lee SS, Lee SJ, Gwak J, Jung HJ, Thi-Le H, Song IS, Kim EY, Shin JG (2007) Comparisons of CYP2C19 genetic polymorphisms between Korean and Vietnamese populations. *Ther Drug Monit* 29(4): 455–459.

Martis S, Peter I, Hulot JS, Kornreich R, Desnick RJ, Scott SA (2012) Multi-ethnic distribution of clinically relevant CYP2C genotypes and haplotypes. *Pharmacogenomics* 13(4): 369–377.

Mega JL, Close SL, Wiviott SD, Shen L, Hockett RD, Brandt JT, Walker JR, Antman EM, Macias W, Braunwald E, Sabatine MS (2009) Cytochrome P450 polymorphisms and response to Clopidogrel. *N Engl J Med* 360(4): 354–362.

Nguyễn Thị Thúy Mậu, Vũ Ngọc Trung, Nguyễn Hữu Hiếu, Nguyễn Thanh Thúy, Vũ Thị Thơm, Đinh Đoàn Long, Trịnh Hoàng Hà (2017) Bước đầu đánh giá mối liên quan giữa đa hình gen *CYP2C19* và độ ngưng tập tiểu cầu trên bệnh nhân nhồi máu cơ tim cấp tại một số bệnh viện ở Hà Nội. *Tạp chí Khoa học ĐHQGHN: Khoa học Y Dược* 33(2): 68–74.

Pang YS, Wong LP, Lee TC, Mustafa AM, Mohamed Z, Lang CC (2004) Genetic polymorphism of Cytochrome P450 2C19 in healthy Malaysian subjects. *Br J Clin Pharmacol* 58(3): 332–335.

Quách Hữu Trung (2014) Nghiên cứu tình trạng kháng Aspirin ở bệnh nhân có yếu tố nguy cơ tim mạch cao. *Luận án Tiến sĩ Y học, Viện Nghiên cứu Khoa học Y Dược Lâm sàng 108, Bộ Quốc Phòng*, tr. 49-50.

Rudberg I, Mohebi B, Hermann M, Refsum H and Molden E (2008) Impact of the ultrarapid *CYP2C19*17* allele on serum concentration of escitalopram in psychiatric patients. *Clin Pharmacol Ther* 83: 322–327.

Sabatine MS, Cannon CP, Gibson CM, López-Sendón JL, Montalescot G, Theroux P, Claeys MJ, Cools F, Hill KA, Skene AM, McCabe CH, Braunwald E (2005) Addition of Clopidogrel to Aspirin and fibrinolytic therapy for myocardial infarction with ST-segment elevation - CLARITY-TIMI 28 Investigators. *N Engl J Med* 352: 1179–1189.

Scott SA, Sangkuhl K, Gardner EE, Stein CM, Hulot JS, Johnson JA, Roden DM, Klein TE, Shuldiner AR (2011) Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium: Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guidelines for Cytochrome P450-452C19 (*CYP2C19*) genotype and Clopidogrel therapy. *Clin Pharmacol Ther* 90(2): 328–332.

Sugimoto K, Uno T, Yamazaki H, Tateishi T (2008) Limited frequency of the *CYP2C19*17* allele and its minor role in a Japanese population. *Br J Clin Pharmacol* 65(3): 437–439.

Sukasem C, Tunthong R, Chamnanphon M, Santon S, Jantararoungtong T, Koomdee N, Prommas S, Puangpetch A, Vathesatogkit P (2013) *CYP2C19* polymorphisms in the Thai population and the clinical response to clopidogrel in patients with atherothrombotic-risk factors. *Pharmgenomics Pers Med* 6: 85–91.

Vũ Thị Thơm, Vũ Phương Thảo, Vũ Ngọc Trung,

Nguyễn Thị Thúy Mậu (2018) Mối liên quan giữa độ ngưng tập tiểu cầu với kiểu gen *CYP2C19*2*, *CYP2C19*3* và một số yếu tố khác trên 54 bệnh nhân đau thắt ngực không ổn định tại Viện Tim mạch Việt Nam. *Tạp chí Khoa học ĐHQGHN: Khoa học Y Dược* 34(1): 74–81

Wiviott SD, Trenk D, Frelinger AL, O'Donoghue M, Neumann FJ, Michelson AD, Angiolillo DJ, Hod H, Montalescot G, Miller DL, Jakubowski JA, Cairns R, Murphy SA, McCabe CH, Antman EM, Braunwald E (2007) PRINCIPLE-TIMI 44 Investigators: Prasugrel compared with high loading - and maintenance - dose Clopidogrel in patients with planned percutaneous coronary intervention: the Prasugrel in comparison to Clopidogrel for inhibition of Platelet activation and aggregation - thrombolysis in myocardial infarction 44 trial. *Circulation* 116(25): 2923–2932.

Yusuf S, Zhao F, Mehta SR, Chrolavicius S, Tognoni G, Fox KK (2001) Effects of Clopidogrel in addition to Aspirin in patients with acute coronary syndromes without ST-segment elevation. *N Engl J Med* 345: 494–502.

Zand N, Tajik N, Moghaddam AS, Milanian I (2007) Genetic polymorphisms of Cytochrome P450 enzymes 2C9 and 2C19 in a healthy Iranian population. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 34(1–2): 102–105.

STUDYING OF *CYP2C19*2*, **3* AND **17* POLYMORPHISM IN VIETNAMESE PATIENTS WITH CORONARY ARTERY DISEASE

Nguyen Hai Ha[1,2], Le Thi Bich Thao[3], Nguyen Thi Thanh Hoa[1], Le Thi Thu Hien[1,2]

[1]*Institute of Genome Research, Vietnam Academy of Science and Technology*
[2]*Graduate University of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology*
[3]*Institute of Biotechnology, Vietnam Academy of Science and Technology*

SUMMARY

Coronary artery disease is the most common type of cardiovascular disease, due to the accumulation of atherosclerotic plaque inside the arterial wall which leads to block blood supply to the heart muscle. A number of clinical trials have demonstrated that Clopidogrel is able to inhibit platelet aggregation in patients with acute coronary syndromes, reduce mortality and cardiovascular events. However, the antiplatelet effectiveness of Clopidogrel significantly depends on *CYP2C19* genotypes. Therefore, the aim of this study was to identify the *CYP2C19*2*, **3* and allele frequencies in Vietnamese coronary artery patients by using PCR-RFLP method. Total genomic DNA were extracted from peripheral blood of 96 patients diagnosed with coronary artery disease. Thereafter, single nucleotide polymorphism sites in the *CYP2C19* gene were identified by PCR with specific primers. The amplified products were then digested by restriction enzymes *Sma*I, *Bam*HI, and *Mnl*I, respectively. The results showed that the proportion of heterozygous individuals for *CYP2C19*2* (c. 681G>A, rs4244285), *CYP2C19*3* (c. 636G>A, rs4986893), and *CYP2C19*17* (g. -3402C>T, rs11188072) accounted for 39.58%, 6.25%, and 2.08%, respectively. Among 96 subjects, 41.67% of patients were predicted for intermediate metabolic phenotype *CYP2C19*1/*2* (37.50%) and *CYP2C19*1/*3* (4.17%). Approximately 10.42% of total patients represented poor metabolizers in which 8.34% had two copies of the same allele **2/*2* and 2.08% had **2/*3* genotype. Particularly, two individuals (2.08%) detected with *CYP2C19*1/*17* genotype were able to increase CYP2C19 activity (ultrarapid metabolizers). The results of this study generate a foundation for introducing individualized antiplatelet therapy in Vietnam based on genetic testing.

Keywords: Coronary artery disease, Clopidogrel metabolism, *CYP2C19* gene polymorphism