

بررسی فراوانی آللی ژن *NUDT15* در یگ گروه از جمعیت ایرانی

عنوان مکرر: فارماکوژنتیک *NUDT15*

نگار سرهنگی^۱، ماندانا حسن زاد^{۲*}، فاطمه روح الله^۱، شکوفه نیک فر^۳، فرشاد شریفی^۴، نگار نیکنام^۵ و^۶

۱. مرکز تحقیقات ژنومیک پزشکی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۲. مرکز تحقیقات پزشکی فردی، پژوهشکده علوم بالینی غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۳. مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، پژوهشکده علوم بالینی غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۴. مرکز تحقیقات سلامت سالمندان، پژوهشکده علوم جمعیتی غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۵. گروه اقتصاد و مدیریت دارو، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۶. شرکت لایف اند می، تهران، ایران.

*نویسنده مسئول: ماندانا حسن زاد، مرکز تحقیقات پزشکی فردی، پژوهشکده علوم بالینی غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

ایمیل: mandanahasanzad@yahoo.com

تلفن: ۰۰۹۸ - ۲۱ - ۸۸۲۲۰۰۹۱

تشریح

چکیده

مقدمه: فارماکوژنومیکس (PGx) به مطالعه ارتباط بین تغییرات ژنتیکی و پاسخ‌های دارویی می‌پردازد. مطالعه مقطعی حاضر با هدف بررسی

فراوانی آللی واریانت ژنتیکی شایع در ژن *NUDT15* در جامعه ایرانی انجام شد.

روش‌ها: در مجموع ۱۱۴۲ نمونه فرد سالم ایرانی با استفاده از روش میکروآرای تعیین فنوتیپ شدند.

یافته‌ها: واریانت مورد مطالعه با فراوانی آلل جزئی بالاتر از ۱ درصد در میان جمعیت مورد مطالعه حاضر شناسایی شد که ممکن است تنوع

قابل توجه در فنوتیپ‌های پاسخ دارویی در میان جمعیت‌های مختلف را توضیح دهد.

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه نشان می‌دهد که تنوع ژنتیکی قابل توجهی در ژن *NUDT15* در بین جمعیت‌های ایرانی وجود دارد که می‌تواند

به طور قابل توجهی بر تصمیم‌گیری‌های بالینی تأثیر بگذارد. این مطالعه الگوی فراوانی واریانت موثر در تعیین فنوتیپ ژن *NUDT15* در

جمعیت ایران را نشان می‌دهد.

واژگان کلیدی: پزشکی فرد محور، فارماکوژنومیک، فارماکوژنتیک، واریانت ژنتیکی، فراوانی آللی.

نشریه

Investigation of allele frequency of *NUDT15* gene in a group of Iranian population

Running title: *NUDT15* pharmacogenetics

Negar Sarhangi ¹, Mandana Hasanzad ², Fatemeh Rouhollah ¹, Shekoufeh Nikfar ³, Farshad Sharifi ⁴, Negar Niknam ^{5,6}

¹ Medical Genomics Research Center, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran

² Personalized Medicine Research Center, Endocrinology and Metabolism Clinical Sciences Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

³ Endocrinology and Metabolism Research Center, Endocrinology and Metabolism Clinical Sciences Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

⁴ Elderly Health Research Center, Endocrinology and Metabolism Population Sciences Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

⁵ Department of Pharmacoeconomics and Pharmaceutical Administration, Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

⁶ LifeandMe, Inc., Tehran, Iran

Correspondences: Mandana Hasanzad

Personalized Medicine Research Center, Endocrinology and Metabolism Clinical Sciences Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Address: No.10- Jalal -e-Ale-Ahmad Street, Chamran Highway, Tehran, Iran

Postal Code: 1411713119

Tel: +98-21-88220091

Fax: +98-21-88220052

Email: mandanahasanzad@yahoo.com

Abstract

Background: Pharmacogenomics (PGx), as a growing field of personalized medicine, aims to optimize the efficacy and safety of medications by studying the association between germline genetic variations and drug responses. The present cross-sectional study aims to evaluate the allele frequency of the *NUDT15* genetic variant in the Iranian population to provide insights into personalized treatment decisions in the Iranian population.

Methods: A representative sample set of 1142 unrelated healthy Iranian individuals aged 18 and older genotyped using the Infinium Global Screening Array-24 BeadChip.

Results: We identified a pharmacogenetic variant with minor allele frequency (MAF) $\geq 1\%$ among the present studied population which may explain the substantial variability in drug response phenotypes among different populations

Conclusion: The results of our study reveal significant genetic variation among Iranian populations that could significantly influence clinical decision-making. This study shows the frequency pattern of the effective variant of *NUDT15* in determining the phenotype in Iranian population.

Keywords: Personalized Medicine, Precision Medicine, Pharmacogenomics, Pharmacogenetics, Genetic Variation, Allele Frequency, Iran

بیماران با تشخیص یکسان اغلب پاسخ‌های متفاوتی به یک دارو نشان می‌دهند که می‌تواند بر اثربخشی و ایمنی آن تأثیر بگذارد [۱]. این پاسخ متفاوت می‌تواند تا حد زیادی تحت تأثیر تفاوت‌های ژنتیکی بین بیماران باشد [۲]. تغییرات ژن‌لایین، به‌ویژه در ژن‌های مسئول آنزیم‌های متابولیک، ناقل‌ها، اهداف یا سایر پروتئین‌ها، می‌تواند به‌طور قابل‌توجهی بر پاسخ دارویی تأثیر بگذارند. تقریباً ۹۷ تا ۹۸ درصد افراد حداقل یک واریانت ژنتیکی کاربردی در ژن‌های مرتبط با دارو دارند [۳].

فارماکوژنومیکس (PGx) به مطالعه ارتباط بین تغییرات ژنتیکی و پاسخ‌های دارویی جهت افزایش اثربخشی و کاهش اثرات جانبی داروها می‌پردازد [۴].

دستورالعمل‌های بالینی فارماکوژنومیک، مانند کنسرسیونم اجرای فارماکوژنتیک بالینی (CPIC) [۵]، کار گروه فارماکوژنتیک هلند (DPWG) [۶]، سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA) [۷] و آژانس دارویی اروپا (EMA) [۸]، به اجرای بالینی فارماکوژنومیک کمک می‌کنند. که دستورالعمل فارماکوژنتیک ژن *NUDT15* نیز توسط این مجموعه‌ها منتشر شده است

ژن *Nudix hydrolase (NUDT15)* انسانی بر روی کروموزوم 13q14.2 قرار دارد و آنزیمی را کد می‌کند که متعلق به ابرخانواده هیدرولاز نودیکس (Nudix Hydrolase) است.

NUDT15 به‌طور مستقیم در متابولیسم تیوپورین‌ها دخالت دارد. تیوپورین‌ها به‌عنوان داروهای ضد سرطان سرکوب‌کننده‌های ایمنی در بیماری‌های التهابی روده، آرتریت روماتوئید و سایر بیماری‌های خود ایمنی استفاده می‌شوند. سه تیوپورین از نظر بالینی شامل تیوگوانین، مرکاپتوپیورین و آزاتیوپورین (پیش دارو برای مرکاپتوپیورین) که در لیست داروهای ایران (IDL) آبان ماه سال ۱۴۰۳ موجود می‌باشند. هر سه دارو اثرات مشابهی دارند اما معمولاً برای بیماری‌های مختلف استفاده می‌شوند. تیوپورین‌ها تبدیل متابولیت‌های فعال (TdGTP) به متابولیت‌های کمتر سمی (TdGMP) را کاتالیز می‌کنند و از الحاق متابولیت‌های سمی به DNA جلوگیری می‌کند [۹]. در افراد با فعالیت *NUDT15* کاهش‌یافته یا فاقد عملکرد (متابولیزکننده‌های متوسط یا ضعیف)، کاهش تخریب TdGTP با واسطه *NUDT15* منجر به افزایش TdGTP برای ادغام در DNA می‌شود که منجر به افزایش آسیب DNA و مرگ سلولی می‌شود. این افراد متعاقباً حساسیت بیشتری نسبت به تیوپورین‌ها در دوزهای استاندارد دارند [۱۰].

ژن *NUDT15* پلی‌مورفیک است که در حال حاضر کنسرسیونم واریانت‌های فارماکوژن (PharmVar) ۲۰ آلل را فهرست‌بندی کرده است. با این حال، بیشتر واریانت‌ها نادر هستند و اهمیت بالینی بسیاری از آلل‌های آن *NUDT15* در حال حاضر نامشخص است.

واریانت c.415C>T اولین واریانت *NUDT15* بود که با سمیت تیوپورین مرتبط می‌باشد که در هر دو هاپلوتیپ *NUDT15*2* و *NUDT15*3* وجود دارد. این تغییر اسید آمینه منجر به ایجاد پروتئینی ناپایدار و تقریباً بدون فعالیت آنزیمی می‌شود [۱۰].

با گسترش بیشتر تست‌های فارماکوژنتیک در بالین، بررسی الگوی فارماکوژنومیک جمعیت ایران، به ویژه در تعیین فراوانی واریانت‌های *NUDT15* به دلیل تأثیر قابل توجه ژنوتیپ‌های *NUDT15* بر فنوتیپ ضروری است. با این حال، اطلاعات محدودی در مورد ژنوتیپ‌ها و فراوانی آلل‌های *NUDT15* به‌طور خاص در جمعیت‌های ایرانی وجود دارد.

در این مطالعه به بررسی فراوانی واریانت ژنتیکی c.415C>T در ژن *NUDT15* پرداخته شد. این یافته‌ها اطلاعات قابل توجهی را برای انتخاب نوع واریانت در انجام تست‌های فارماکوژنتیک می‌نماید. علاوه بر این، توزیع این فراوانی با سایر قومیتها مورد مقایسه قرار گرفت.

روش‌ها

افراد مورد مطالعه

جامعه مورد مطالعه شامل ۱۱۴۲ فرد بالغ سالم بود که بین سال‌های ۲۰۱۸ تا ۲۰۲۲ از بیمارستان‌ها، مراکز پزشکی، مراکز تحقیقاتی و آزمایشگاه‌های مختلف در سراسر کشور انتخاب شدند. نمونه‌گیری به صورت تصادفی بدون توجه به شرایط بیماری در بین اقوام مختلف ایرانی انجام شد. افراد مورد مطالعه شامل هر دو جنس (زن و مرد) بالای ۱۸ سال بودند. رضایت کتبی آگاهانه از همه شرکت‌کنندگان پس از توضیح مختصری از اهداف و پروتکل‌های مطالعه اخذ شد. حجم نمونه بر اساس مطالعاتی که میزان شیوع یک صفت را تعیین می‌کند، با در نظر گرفتن خطای نوع ۱ ۰.۰۵ و دقت ۵ درصد، حداقل ۳۸۴ نفر برآورد شد.

کمیته اخلاق پژوهش پژوهشکده غدد درون ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران (IR.TUMS.EMRI.REC.1401.131) مطالعه حاضر را تایید کرد.

تعیین ژنوتیپ

پس از ثبت نام شرکت‌کنندگان، DNA ژنومی از نمونه‌های بزاق با استفاده از یک کیت استاندارد استخراج شد. تمام آنالیزهای ژنتیکی با استفاده از Infinium Global Screening Array-24 BeadChip انجام شد.

سنجش غربالگری با توان بالای Illumina Infinium (HTS) برای به حداکثر رساندن انعطاف‌پذیری محتوا با ظرفیت HTS برای ژنوتیپ و تجزیه و تحلیل تنوع تعداد کپی (CNV) طراحی شده است. Infinium Global Screening Array-24 BeadChip محتوای ژنوم چند قومیتی، واریانت‌های تحقیقات بالینی انتخاب شده و نشانگرهای کنترل کیفیت (QC) را ادغام می‌کند و آن را برای تحقیقات پزشکی دقیق مناسب می‌کند. با طرح‌های کاوشگر Infinium I و Infinium II و رویکرد کانال رنگی دوگانه، سنجش Infinium HTS امکان تجزیه و تحلیل حداکثر ۶۵۴۰۰۰ پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی (SNPs) و نشانگرهای CNV را در هر نمونه فراهم می‌کند.

آزمایشگاه‌های بالینی معمولاً نتایج سنجش ژنوتیپ *NUDT15* را برای آل‌های شایع‌تر، با استفاده از نام‌گذاری آل ستاره (*) گزارش می‌کنند. هر آل ستاره‌ای (*) با یک یا چند پلی‌مورفیسم خاص مشخص می‌شود.

از بین آل‌های مشروح‌شده توسط دستورالعمل‌های فارماکوژنومیک، آل‌های ستاره‌دار *NUDT15*2* و *NUDT15*3* که در پلی-مورفیسم‌های منتسب‌شده در چیپ میکرواررری در دسترس بودند، برای تجزیه و تحلیل فراوانی آلی در مجموعه نمونه مورد مطالعه انتخاب شدند. آل‌های ستاره‌دار *NUDT15*2* و *NUDT15*3* توسط *NUDT15* توسط *c.415C>T* (p.R139C;7973C>T) واریانت تک نوکلئوتیدی تاثیرگذار در *NUDT15* ارزیابی شد که با پاسخ تیوپورین همانطور که توسط دستورالعمل CPIC توضیح داده شده است، مرتبط است [۱۱]. از راهنمای بالینی CPIC برای تعیین "ژنوتیپ قابل عمل" و فنوتیپ پیروی شد. اصطلاح "قابل عمل بالینی" به ژنوتیپ‌هایی اطلاق می‌شود که دارای شواهد قوی از تغییرات در عملکرد بالینی هستند.

در این مطالعه همچنین یک تحلیل مقایسه‌ای از فراوانی‌های آلی در *NUDT15* در میان گروه‌های قومی مهم جهان که در پایگاه داده gnomAD در دسترس است انجام شد [۱۲].

تعیین فنوتیپ

واریانت‌های ژنتیکی *NUDT15*، آل‌های ستاره‌ای مرتبط و دیپلوטיפ‌ها از جداول عملکردی آل نام‌گذاری آل‌های *NUDT15* استخراج شدند. آل‌های *NUDT15* با تغییرات توالی تعیین‌کننده آل خاص که توسط جدول تعریف آل در دستورالعمل‌های PGx فارماکوژنومیک توضیح داده شده است، شناسایی شدند [۱۱، ۱۳]؛ هنگامی که هیچ‌گونه تغییرات توالی تعیین‌کننده آل شناسایی نشد، *NUDT15*1* به‌عنوان آل وحشی (مرجع) اختصاص داده شد. آل‌های ستاره‌دار *NUDT15*2* و *NUDT15*3* مورد ارزیابی در این مطالعه براساس جدول تعریف آل در دستورالعمل‌های فارماکوژنومیک فاقد عملکرد (no function) می‌باشند.

وضعیت متابولیک پیش‌بینی‌شده بر اساس ژنوتیپ با استفاده از معیارهای زیر تعیین شد که با عملکرد آنزیمی مورد انتظار آل‌ها مطابقت دارد، همانطور که در حاشیه‌نویسی دستورالعمل‌های بالینی مشخص شده است [۱۱]:

۱. متابولیسم نرمال (NM)، افراد حامل دو آل با رفرنس (با عملکرد نرمال) (مانند *NUDT15*1*).
۲. متابولیسم متوسط (IM)، افرادی که دارای یک آل رفرنس (مانند *NUDT15*1*) به علاوه یک آل بدون عملکرد (مانند *NUDT15*2* یا *NUDT15*3*) هستند.
۳. متابولیسم متوسط احتمالی، افرادی که حامل یک آل با عملکرد نامشخص (uncertain function) به علاوه یک آل بدون عملکرد (no function) هستند.
۴. متابولیسم ضعیف (PM)، افراد دارای دو آل بدون عملکرد (مانند *NUDT15*2* یا *NUDT15*3*).

۵. منقطع (Interminate)، افرادی که دارای دو آلل عملکرد نامشخص (مانند $NUDT15*4$ یا $NUDT15*5$) یا یک آلل با عملکرد طبیعی به اضافه یک آلل با عملکرد نامشخص هستند.

تجزیه و تحلیل آماری

همه تجزیه و تحلیل‌ها با استفاده از Stata نسخه ۱۲ و بسته R نسخه ۴.۲.۲ (بنیاد R برای پلتفرم محاسبات آماری، ۲۰۲۲) انجام شد. ژنوتیپ‌ها با استفاده از PLINK v1.9 شناسایی شدند. فراوانی ژنوتیپ به صورت نسبتی از افراد با تعداد ژنوتیپ مشخص شده تقسیم بر تعداد شرکت‌کنندگان نشان داده می‌شود. فراوانی آلل‌های نادر با استفاده از فرمول $(2a+a)/(2a+ab+2b)$ محاسبه شد. تعادل هاردی واینبرگ (HWE) برای همه ژنوتیپ‌ها برای ارزیابی اینکه آیا یک نمونه نماینده جمعیت است یا خیر، آزمایش شد. این تأیید می‌کند که فراوانی‌های آلل و ژنوتیپ در نمونه‌های مورد مطالعه با موارد مورد انتظار در یک جمعیت تصادفی بدون تأثیرات تکاملی مطابقت دارد. انحراف از HWE ممکن است نشان دهد که نمونه احتمالاً به دلیل سوگیری نمونه‌گیری نماینده جامعه نیست. برای مقایسه فراوانی آللی بین جمعیت ایرانی و سایر جمعیت‌ها از آزمون کای دو استفاده شد. فراوانی آلل تعدیل‌شده بر جمعیت ایرانی با استفاده از وزن جمعیت هر استان محاسبه شد (وزن هر استان از تقسیم تعداد جمعیت‌های ساکن در هر استان بر اساس سرشماری سال ۱۳۹۶ بر تعدادی نمونه محاسبه شد).

یافته‌ها

این مطالعه شامل ۴۴۵ زن (۳۸/۹۶ درصد) بود و میانگین سنی شرکت‌کنندگان در شروع مطالعه ۴۰/۲ سال بود (انحراف معیار: $\pm ۱۲/۶۶$). شرکت‌کنندگان در این مطالعه از ۲۸ استان مختلف ایران وارد مطالعه شدند و اکثریت بر اساس گزارش خود افراد از تهران (۷۱۳ نفر، ۶۲/۴۳ درصد)، اصفهان (۵۶ نفر، ۴/۹۰ درصد) و مازندران (۵۶ نفر، ۴/۴۶ درصد)، البرز (۴۴ نفر، ۳/۸۵ درصد)، فارس (۴۳ نفر، ۳/۷۶ درصد)، خراسان رضوی (۳۱ نفر، ۲/۷۱ درصد) و هرمزگان (۲۳ نفر، ۲/۰۱ درصد) بودند. برخی از استان‌های کشور به دلیل حجم نمونه کوچک که با رنگ خاکستری در شکل‌ها نشان داده شده است از تجزیه و تحلیل مطالعه حذف شدند. از بین ۱۷ واریانت ژنتیکی موجود در ژن *NUDT15* که توسط راهنماهای بالینی معرفی شده است، واریانت rs116855232 که مهم‌ترین واریانت *NUDT15* می‌باشد در جمعیت مورد مطالعه تعیین ژنوتیپ و فنوتیپ شدند که اطلاعات آن در جدول ۱ لیست شده است.

جدول ۱- آل‌های <i>NUDT15</i> و نمره فعالیت مرتبط.			
نمره فعالیت	عملکرد آلی CPIC (DPWG)	تغییرات نوکلئوتیدی	واریانت ژنتیکی
N/A	عملکرد طبیعی: <i>NUDT15*1->C</i> بدون عملکرد: <i>NUDT15*2->T</i>	c.415C>T 7973C>T; p.R139C	rs116855232
N/A	عملکرد طبیعی: <i>NUDT15*1->C</i> بدون عملکرد: <i>NUDT15*3->T</i>		

واریانت (rs116855232) (*7973C>T*; *NUDT15*2* and *NUDT15*3*) دارای بیشترین شواهدی است که نشان می‌دهد این واریانت منجر به یک آنزیم کاملاً ناکارآمد می‌شود. در مطالعه حاضر، واریانت rs116855232 با فراوانی آلی ۱/۵ به‌عنوان واریانت شایع در جمعیت مورد مطالعه یافت شد. مقایسه این واریانت شایع مورد بررسی در جمعیت ایرانی با سایر جمعیت‌های اصلی جهان بر اساس پایگاه داده gnomAD در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲- شباهت فراوانی آل‌های شایع <i>NUDT15</i> جمعیت ایران با سایر جمعیت‌های جهان.						
واریانت ژنتیکی	نوع واریانت	فراوانی آلی در جمعیت ایران			ایرانوم	مشابهت با جمعیت‌های مهم جهان (فراوانی)
		Proportion	[95% conf. interval]			
c.415C>T	7973C>T (<i>NUDT15*2</i> ; <i>NUDT15*3</i>)	1.5%	0.63%	1.94%	0.43 %	Amish (0%), ME (0.3%), SAS (7.1%), AMR (3.5%), EAS (10%), NFE (0.2%), FE (2.1%), AJ (0.31%), and AFR (0.009%)

ایرانوم حاوی کل داده‌های توالی اگزوم ۸۰۰ فرد از هشت گروه قومی اصلی کشور است. دسترسی آنلاین در تاریخ ۱۵ جولای ۲۰۲۳ [۱۴].
(<http://www.iranome.ir>)
پروژه gnomAD شامل جمعیت‌های عمده جهان مانند ژنوم اروپایی غیرفیلاندی (NFE)، اروپایی فنلاندی (FE)، یهودی اشکنازی (AJ)، آفریقای (AFR)، آمریکای لاتین/آمریکایی (AMR)، خاورمیانه (ME)، شرق آسیا (EAS)، آمیش و ژنوم آسیای جنوبی (SAS). دسترسی آنلاین در تاریخ ۱۵ جولای [۱۲].
(<https://gnomad.broadinstitute.org>).

شیوع مشاهده شده واریانت‌های c.415C>T تقریباً مشابه با موارد گزارش شده برای اروپایی (فنلاندی) (۲/۱ درصد) بود. تجزیه و تحلیل مستقل فراوانی واریانت شایع در استان‌های مختلف ایران نشان داد که فراوانی آلی در استان‌های چهار محال بختیاری و مرکزی بیشتر از سایر استان‌های کشور بیشتر است.

جدول ۳ فعالیت آنزیمی مورد انتظار برای آل‌های *NUDT15* و فنوتیپ متابولیسم پیش‌بینی شده در پاسخ به داروهای تیوپورین‌ها بر اساس ژنوتیپ‌های *NUDT15* را خلاصه می‌کند.

واریانت مورد مطالعه rs116855232 (*NUDT15*2*; *NUDT15*3*; *7973C>T*) یک واریانت غیر عملکردی می‌باشد که در ژنوتیپ هموزیگوت و هتروزیگوت به‌ترتیب باعث ایجاد فنوتیپ متوسط و ضعیف می‌شود.

در بررسی متابولیسم در پاسخ به داروهای تیوپورین براساس راهنماهای بالینی فارماکوژنومیک، ۳۶ (۳/۱۵ درصد) از افراد دارای آل‌هایی با کاهش عملکرد آنزیم بودند که منجر به فعالیت آنزیمی متوسط (IM) می‌شود، در حالی که ۱۱۰۶ (۹۶/۸۴ درصد) از افراد دارای فعالیت آنزیمی طبیعی (NM) بودند و صفر (صفر درصد) از افراد با عملکرد آنزیمی ضعیف در جمعیت یافت شد.

جدول ۳- فعالیت آنزیمی مورد انتظار برای آلل‌های <i>NUDT15</i> و فنوتیپ متابولیزه کننده پیش‌بینی شده بر اساس ژنوتیپ‌های <i>NUDT15</i>			
واربانت ژنتیکی	عملکرد آلی CPIC (DPWG)	دیپلو تیپ	فنوتیپ
			تیوپورین‌ها CPIC (DPWG)
rs116855232 c.415C>T	عملکرد طبیعی: <i>NUDT15*1->C</i> بدون عملکرد: <i>NUDT15*2->T</i>	<i>NUDT15*1/NUDT15*1</i>	متابولیسم نرمال
		<i>NUDT15*1/NUDT15*2</i>	متابولیسم متوسط
		<i>NUDT15*2/NUDT15*2</i>	متابولیسم ضعیف
	عملکرد طبیعی: <i>NUDT15*1->C</i> بدون عملکرد: <i>NUDT15*3->T</i>	<i>NUDT15*1/NUDT15*1</i>	متابولیسم نرمال
		<i>NUDT15*1/NUDT15*3</i>	متابولیسم متوسط
		<i>NUDT15*3/NUDT15*3</i>	متابولیسم ضعیف

بحث

دوز استاندارد یک درمان خاص ممکن است برای هر بیمار ایمن و موثر نباشد و تنوع در اثربخشی دارو در بین افراد، انگیزه حرکت به سمت رویکرد فارماکوژنومیک (درمان شخصی) است. هدف این رویکرد تجویز داروی مناسب، با دوز صحیح، برای بیمار مناسب است [۱۵]. تفاوت‌های نژادی و قومی قابل توجهی در فراوانی جمعیت واریانت‌های *NUDT15* وجود دارد که به تفاوت‌های بین فردی در پروفایل‌های پاسخ دارویی و ایمنی داروهای تیوپورین کمک می‌کنند. به این ترتیب، آزمایش بالینی PGx برای واریانت‌های ژنتیکی در *NUDT15* مرتبط با کاهش یا عدم فعالیت آنزیمی می‌تواند افرادی را که در معرض خطر سمیت دارویی نامطلوب هستند شناسایی کند. سهم *NUDT15* در عوارض جانبی مرتبط با تیوپورین مانند لکوپنی تا ۲۲ درصد در بین تمام قومیت‌ها است. واریانت p.R139C (*NUDT15*2* و *NUDT15*3*) به‌طور گسترده در بیمارانی که درمان با تیوپورین دریافت می‌کنند مورد مطالعه قرار گرفته است، بنابراین قوی‌ترین شواهد برای اجرای بالینی ارائه می‌شود. مطالعات بعدی واریانت‌های دیگری را گزارش کردند که اکثر آنها نادر هستند و ارتباط آنها با سمیت تیوپورین بالینی در این مرحله به عملکرد بالینی افزایش نمی‌یابد، حتی اگر برخی کاهش فعالیت *NUDT15* را در شرایط آزمایشگاهی نشان دادند. به همین دلیل، این واریانت‌ها (*NUDT15*4-9*) به عنوان عملکرد نامشخص تعیین می‌شوند، اما ممکن است با ظهور داده‌های بیشتر، روشن شوند [۱۱].

همانطور که در مطالعه حاضر واریانت p.R139C به‌عنوان واریانت شایع در جمعیت ایران شناسایی شد، آلل‌های حاوی p.R139C (*NUDT15*2* و *NUDT15*3*) که علت کمبود *NUDT15* است عمدتاً در میان آسیایی‌ها یافت می‌شوند، اما در اسپانیایی‌های آمریکایی، به‌ویژه آن‌هایی که اجداد بومی آمریکایی بالایی دارند، نیز شناسایی شده‌اند [۹]. برای آسیایی‌ها، آلل‌های خطر در *NUDT15* بیشتر سرکوب‌های میلو سکویی مرتبط با تیوپورین را توضیح می‌دهند [۱۶، ۱۷].

کمبود *NUDT15* در میان افراد نژاد اروپایی یا آفریقایی نادر است (در کمتر از ۱ درصد یافت می‌شود). با این حال، کمبود *NUDT15* در میان افراد با اصل و نسب آسیای شرقی (به‌عنوان مثال، کره، چین، ژاپن، ویتنام) (~ ۲ درصد) شایع‌تر است. در افراد با فعالیت *NUDT15* کاهش یافته یا بدون فعالیت (متابولیزه کننده‌های متوسط یا ضعیف)، کاهش تخریب TdGTP به واسطه *NUDT15* منجر

به افزایش TdGTP برای ادغام در DNA می‌شود که منجر به افزایش آسیب DNA و مرگ سلولی می‌شود. این افراد متعاقباً حساسیت بیشتری نسبت به تیوپورین‌ها در دوزهای استاندارد دارند [۱۰].

راهنمای بالینی DPWG کاهش دوز خاصی را برای افرادی که فعالیت آنزیمی کم یا ناقص دارند (یعنی متابولیسم‌های متوسط و ضعیف NUDT15)، که توسط ژنوتیپ NUDT15 پیش‌بینی شده است، توصیه می‌کند [۱۸].

CPIC استفاده از دوز شروع نرمال را برای متابولیسم‌های نرمال NUDT15 (مانند $NUDT15 *1/*1$)، ۷۵ میلی‌گرم بر متر مربع در روز مرکاپتوپورین در ALL) و دوز کاهش یافته در متابولیسم‌های متوسط (مانند $NUDT15 *1/*3$)، ۳۰-۸۰ درصد دوز شروع طبیعی مرکاپتوپورین) پیشنهاد می‌کند و متابولیسم‌های ضعیف (مانند $NUDT15 *3/*3$)؛ ۷۵ میلی‌گرم بر متر مربع در روز مرکاپتوپورین در ALL) [۱۱].

سازمان غذا و داروی آمریکا توصیه می‌کند برای افرادی که به کمبود NUDT15 مبتلا هستند، یک درمان جایگزین را در نظر بگیرید و برای افرادی که آلل بدون عملکرد دارند، دوز را کاهش دهید. FDA هشدار می‌دهد که ممکن است برای افرادی که متابولیسم ضعیف NUDT15 هستند، کاهش دوز قابل توجهی لازم باشد [۱۹].

شواهد فزاینده‌ای وجود دارد که نشان می‌دهد آزمایش DNA برای NUDT15 قبل از شروع درمان با تیوپورین از نظر بالینی مفید است. در حال حاضر، آزمایش NUDT15 توسط FDA قبل از شروع درمان با هر تیوپورین (آزاتیوپورین، مرکاپتوپورین، یا تیوگوانین) مورد نیاز نیست. با این حال، هر دو ژن در جداول انجمن FDA اخیراً منتشر شده به‌عنوان انجمن‌های فارماکوژنتیک با داده‌هایی که از توصیه‌های مدیریت درمانی پشتیبانی می‌کنند، فهرست شده‌اند [۲۰]. در نتیجه، ژنوتیپ معمول برای پلی‌مورفیسم‌های NUDT15 به طور جهانی مورد پذیرش قرار نگرفته است [۲۱]. آزمایش بالینی PGx برای واریانت‌های ژنتیکی در NUDT15 مرتبط با کاهش یا عدم فعالیت آنزیمی می‌تواند افرادی را شناسایی کند که با دوزهای استاندارد داروهای تیوپورین در معرض خطر سمیت نامطلوب دارویی هستند.

بسیاری از آزمایشگاه‌هایی که تعیین ژنوتیپ NUDT15 را انجام می‌دهند، فقط واریانت (p.Arg139Cys) c.415C>T را که در هر دو $NUDT15*2$ و $NUDT15*3$ وجود دارد را هدف قرار می‌دهند و ممکن است بین این دو آلل تمایز قائل نشوند زیرا بازخوانی $NUDT15*2$ به‌وسیله واریانت خاص (rs746071566, p.Gly17_Val18dup, c.50_55dup) از نظر فنی چالش برانگیز است. با این حال، این تمایز از نظر بالینی مرتبط نیست زیرا هر دو $NUDT15*2$ و $NUDT15*3$ آلل‌های بدون عملکرد هستند. بنابراین، ژنوتیپ PGx بالینی ممکن است به عنوان " $NUDT15*2$ یا $NUDT15*3$ " گزارش شود اگر فقط c.415C>T مورد هدف قرار گیرد، یا برخی از آزمایشگاه‌ها ممکن است به طور پیش فرض آن را به عنوان $NUDT15*3$ گزارش کنند.

نتیجه‌گیری

یافته‌ها نشان داد که آلل‌های مورد مطالعه، *NUDT15**2 و *3 که توسط واریانت rs116855232 مشخص می‌شود، به‌عنوان آلل‌های شایع در جمعیت ایران در نظر گرفته می‌شوند. این واریانت، با پتانسیل خود برای توضیح تنوع قابل توجه در فنوتیپ‌های پاسخ دارویی در جمعیت ایران، جنبه‌ای مهم از فارماکوژنومیک را روشن می‌کنند.

منابع

۱. Jørgensen JT, Westergaard N. Predictive biomarkers and personalised pharmacotherapy. *Expert Review of Molecular Diagnostics*. 2022(just-accepted).
۲. Lauschke VM, Milani L, Ingelman-Sundberg M. Pharmacogenomic biomarkers for improved drug therapy—recent progress and future developments. *The AAPS journal* 2018;20:1-16.
۳. Ventola CL. Role of pharmacogenomic biomarkers in predicting and improving drug response: part 1: the clinical significance of pharmacogenetic variants. *Pharmacy and Therapeutics* 2013. ۵۴۵:(۹)۳۸;
۴. Pirmohamed M. Pharmacogenomics: Current status and future perspectives. *Nature Reviews Genetics* 2023:1-13.
۵. Relling M, Klein T. CPIC: clinical pharmacogenetics implementation consortium of the pharmacogenomics research network. *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 2011;89(3):464-7.
۶. DPWG: Dutch Pharmacogenetics Working Group. <https://wwwpharmgkb.org/page/dpwg>.
۷. Drozda K, Pacanowski MA, Grimstein C, Zineh I. Pharmacogenetic labeling of FDA-approved drugs: a regulatory retrospective. *JACC: Basic to Translational Science* 2018;3(4):545-9.
۸. Ehmann F, Caneva L, Prasad K, Paulmichl M, Maliepaard M, Llerena A, et al. Pharmacogenomic information in drug labels: European Medicines Agency perspective. *The pharmacogenomics journal* 2015;15. ۱۰-۲۰۱:(۳)
۹. Yang JJ, Landier W, Yang W, Liu C, Hageman L, Cheng C, et al. Inherited *NUDT15* variant is a genetic determinant of mercaptopurine intolerance in children with acute lymphoblastic leukemia. *Journal of clinical oncology* 2015;33(11):1235.
۱۰. Yang S-K, Hong M, Baek J, Choi H, Zhao W, Jung Y, et al. A common missense variant in *NUDT15* confers susceptibility to thiopurine-induced leukopenia. *Nature genetics* 2014;46(9):1017-20.
۱۱. Relling MV, Schwab M, Whirl-Carrillo M, Suarez-Kurtz G, Pui CH, Stein CM, et al. Clinical pharmacogenetics implementation consortium guideline for thiopurine dosing based on *TPMT* and *NUDT 15* genotypes: 2018 update. *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 2019;105(5):1095-105.
۱۲. gnomAD. <https://gnomad.broadinstitute.org/>.
۱۳. Dutch Pharmacogenetics Working Group (DPWG). General background text Pharmacogenetics - Nudixhydrolase 15 (*NUDT15*). https://wwwknmpnl/sites/default/files/2023-11/NUDT15_Englishpdf.
۱۴. Iranome. <http://wwwiranomecom/>.
۱۵. Ramos E, Doumatey A, Elkahloun A, Shriner D, Huang H, Chen G, et al. Pharmacogenomics, ancestry and clinical decision making for global populations. *The pharmacogenomics journal* 2014;14(3):217-22.
۱۶. Marinaki AM, Arenas-Hernandez M. Reducing risk in thiopurine therapy. *Xenobiotica* 2020;50(1):101-9.

۱۷. Huang P-W, Tseng Y-H, Tsai T-F. Predictive value of NUDT15 variants on neutropenia among Han Chinese patients with dermatologic diseases: a single-center observational study. *Dermatology and Therapy* 2020;10:263-71.
۱۸. Dean L. Azathioprine therapy and TPMT and NUDT15 genotype. *Medical Genetics Summaries* [Internet]. 2020.
۱۹. AZATHIOPRINE tablet [package insert]. Parsippany, NJ. Ascend; 2020. Available from: . <https://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/drugInfo/cfm?setid=bc6dc4bd-2121-4613-9d90-4a504010c98a>.
۲۰. Food and Drug Administration (FDA). Table of Pharmacogenetic Associations. <https://www.fda.gov/medical-devices/precision-medicine/table-pharmacogenetic-associations>.
۲۱. Simeonidis S, Koutsilieri S, Vozikis A, Cooper DN, Mitropoulou C, Patrinos GP. Application of economic evaluation to assess feasibility for reimbursement of genomic testing as part of personalized medicine interventions. *Frontiers in pharmacology* 2019;10:830.

پاییز فتنه
شماره ۵