

Mức độ biểu hiện của gen *CYP2D6* trong máu bệnh nhân động kinh điều trị bằng thuốc Carbamazepine

Nguyễn Thị Hồng Loan^{1,2*}, Lê Thanh Tâm¹, Lê Phương Thúy¹, Lê Thị Hồng Nhung^{1,2}, Chu Văn Sơn¹, Nguyễn Văn Liệu^{3,4}, Nguyễn Đoàn Thủy^{3,4}, Nguyễn Thị Vân Anh¹, Nguyễn Đình Thắng²

¹Phòng Thí nghiệm Trọng điểm Công nghệ Enzym và Protein, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

²Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

³Trường Đại học Y Hà Nội

⁴Bệnh viện Đa khoa Tâm Anh

Ngày nhận bài 15/7/2022; ngày chuyển phản biện 20/7/2022; ngày nhận phản biện 30/7/2022; ngày chấp nhận đăng 5/8/2022

Tóm tắt:

Carbamazepine (CBZ) là thuốc kê đơn phổ biến cho bệnh nhân (BN) bị động kinh. Tuy nhiên, BN sử dụng CBZ thường gặp các tác dụng phụ của thuốc, phổ biến là những triệu chứng dị ứng trên da. *CYP2D6* là một trong những enzym có vai trò quan trọng trong chuyển hoá thuốc nói chung và CBZ nói riêng. Vì thế, đánh giá mức độ biểu hiện của protein và hoạt tính của enzym *CYP2D6* giúp dự đoán khả năng chuyển hoá thuốc CBZ, từ đó cho phép tiên liệu có hay không tác dụng phụ của thuốc. Trong nghiên cứu này, các tác giả đã tiến hành đánh giá mức độ biểu hiện của gen *CYP2D6* trong mẫu máu tổng số của các BN bị động kinh điều trị CBZ bằng phương pháp Real-time PCR và tìm hiểu mối liên quan giữa mức độ biểu hiện của gen *CYP2D6* với mức độ dị ứng của BN. Kết quả cho thấy, mức độ biểu hiện của *CYP2D6* ở nhóm BN dung nạp CBZ cao hơn khoảng 3 lần so với nhóm các BN dị ứng thuốc CBZ. Kết quả này kiến nghị rằng, mức độ biểu hiện của gen *CYP2D6* có thể có ý nghĩa trong việc dự đoán mức độ đáp ứng thuốc CBZ của BN bị động kinh.

Từ khóa: bệnh động kinh, Carbamazepine, dị ứng thuốc, mRNA *CYP2D6*, Real-time PCR.

Chỉ số phân loại: 3.1

Đặt vấn đề

CBZ là thuốc được sử dụng phổ biến để điều trị cho các BN bị động kinh. Tuy nhiên, các số liệu nghiên cứu cho thấy có tới 30-50% trường hợp xảy ra dị ứng thuốc, bao gồm các trường hợp dị ứng nặng, dát sần, đỏ da toàn thân do các hội chứng SJS (Stevens johnson), TEN (ban hoại tử thượng bì nhiễm độc), DRESS (hội chứng phát ban do thuốc với tăng bạch cầu ái toan và nhiều triệu chứng toàn thân) [1] và các triệu chứng dị ứng nhẹ (HSS) như: ban đỏ, mẩn ngứa toàn thân [2]. Các nghiên cứu gen dược học sẽ giúp dự đoán được khả năng đáp ứng thuốc hoặc nguy cơ bị các tác dụng phụ không mong muốn khi sử dụng thuốc hoặc là cơ sở để lựa chọn một phác đồ điều trị tốt cho BN [3].

Gen *CYP2D6* mã hóa cho enzym CYP2D6, là một enzym thuộc họ CYP450 (cytochrome P450), có vai trò quan trọng đối với các quá trình chuyển hóa các hợp chất nội sinh và ngoại sinh trong cơ thể. Cụ thể, enzym CYP2D6 tham gia chuyển hóa hơn 25% các loại thuốc đang lưu hành, trong đó có CBZ [4-6]. Đa hình của gen, hoạt độ và mức độ biểu hiện của enzym này được chỉ ra là có liên quan đến khả năng chuyển hoá thuốc CBZ ở BN bị động kinh [3, 7, 8]. Gen *CYP2D6* có nhiều đa hình và biến thể nhất trong số các gen của *CYP450*. Các đa hình của *CYP2D6* có thể làm thay đổi hoạt tính xúc tác của enzym CYP2D6, dẫn đến hiệu

quả đáp ứng hoặc tác dụng phụ của thuốc là khác nhau ở các BN [9]. Điều hoà biểu hiện gen của *CYP2D6* được cho là do các cơ chế điều hòa trước dịch mã là chủ yếu, vì thế định lượng mRNA của *CYP2D6* có thể phản ánh được mức hoạt động của enzym [7, 10]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành đánh giá mức độ biểu hiện của gen mã hóa cho *CYP2D6* ở các BN bị động kinh điều trị với thuốc CBZ bằng Real-time PCR và tìm hiểu mối liên quan giữa mức độ biểu hiện của gen *CYP2D6* với mức độ dị ứng của BN.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Đối tượng

Các mẫu của 70 BN bị động kinh đang điều trị bằng thuốc CBZ được cung cấp bởi Bệnh viện Bạch Mai và Bệnh viện Đa khoa Tâm Anh từ tháng 7/2020 đến tháng 7/2021. Các BN có độ tuổi dao động từ 4 đến 77 tuổi, có 38 BN nam và 32 BN nữ. Các BN được lựa chọn dựa trên tiêu chí: i) Được khám và chẩn đoán có bệnh lý động kinh; ii) Có chỉ định điều trị CBZ; iii) Đã sử dụng thuốc CBZ dưới 3 tháng và có biểu hiện dị ứng (BN dị ứng) hoặc trên 3 tháng và không có biểu hiện dị ứng (BN dung nạp); iv) Hiện tại không dùng các thuốc có nguy cơ dị ứng cao. Trong số 70 BN, có 32 BN dung nạp thuốc; 38 BN dị ứng thuốc (5 BN có mức độ dị ứng nặng với các triệu chứng SJS hoặc TEN và 33 BN

*Tác giả liên hệ: Email: loannnguyen@hus.edu.vn

CYP2D6 expression in the whole blood of epileptic patients in treatment with Carbamazepine

Thi Hong Loan Nguyen^{1,2*}, Thanh Tam Le¹,
Phuong Thuy Le¹, Thi Hong Nhung Le^{1,2}, Van Son Chu¹,
Van Lieu Nguyen^{3,4}, Doan Thuy Nguyen^{3,4},
Thi Van Anh Nguyen¹, Dinh Thang Nguyen²

¹Key Laboratory of Enzyme and Protein Technology, University of Science,
Vietnam National University, Hanoi

²Faculty of Biology, University of Science, Vietnam National University, Hanoi

³Hanoi Medical University

⁴Tam Anh General Hospital

Received 15 July 2022; accepted 5 August 2022

Abstract:

Carbamazepine (CBZ) is a commonly prescribed drug for patients with epilepsy. However, after administration of CBZ, many patients experience cutaneous adverse drug reactions (CADRs), the most common allergic skin symptoms. CYP2D6 enzyme is one of the enzymes that play an important role in drug metabolism in general and CBZ in particular. Therefore, analysis of gene expression and enzyme activity of CYP2D6 will help predict the magnitude of CBZ metabolism of the patients, allowing them to forecast CADRs. In this study, the authors evaluated the mRNA expression of CYP2D6 in CBZ-treated epilepsy patients using a Real-time PCR method, and then investigated the relationship of CYP2D6 expression levels between mild and severe CADR harbouring groups. The results showed that the expression level of CYP2D6 in the CBZ-tolerant group was about 3 times higher than that in the CBZ-allergic group. These results suggested that the gene expression level of CYP2D6 could be a useful biomarker for predicting CBZ response in patients with epilepsy.

Keywords: Carbamazepine, CYP2D6-mRNA, drug allergy, epilepsy, Real-time PCR.

Classification number: 3.1

có mức độ dị ứng nhẹ với triệu chứng HSS). Nghiên cứu được phê duyệt bởi Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu y sinh học của Trường Đại học Y Hà Nội (mã số 118/GCN-HĐĐĐNCYSH-ĐHYHN ngày 8/7/2020).

Các hoá chất sử dụng chính bao gồm: kit tách chiết RNA Easy spin total RNA extraction (Intron, Hàn Quốc); Master mix cho phản ứng Real-time PCR TOPreal™ qPCR 2X PreMIX (SYBR Green with low ROX, UDG plus), môi random hexamer, enzym phiên mã ngược MMLV reverse transcriptase được mua từ Hãng Enzymomic (Hàn Quốc);

các môi cho phản ứng Real-time PCR (Công ty Cổ phần Phù Sa, Việt Nam).

Tách chiết RNA tổng số

RNA tổng số được tách chiết từ mẫu máu tổng số của BN, sử dụng bộ kit Easy spin total RNA extraction (Intron, Hàn Quốc) theo hướng dẫn của Hãng. Nồng độ và chất lượng của RNA được kiểm tra bằng máy Nanodrop ND2000 (ThermoFisher Scientific, Mỹ).

Tổng hợp cDNA từ RNA

cDNA được tổng hợp từ RNA bằng enzym phiên mã ngược theo các bước sau: 200 ng RNA tổng số được bổ sung 1 µl môi random hexamer (100 pmol); hỗn hợp được ủ ở 70°C trong 5 phút trước khi làm lạnh trên đá trong 10 phút. Tiếp theo, các thành phần khác của phản ứng được thêm vào theo thứ tự sau: 4 µl đệm phản ứng 10X, 4 µl dNTPs 2 mM, 1 µl phiên mã ngược 20 U/µl, dung dịch H₂O được thêm vào hỗn hợp cho đủ thể tích 40 µl. Hỗn hợp được trộn đều và ủ ở 25°C trong 10 phút, tiếp theo là 42°C trong 60 phút và cuối cùng ở 95°C trong 5 phút. cDNA tổng hợp được bảo quản ở -20°C cho đến khi sử dụng.

Đánh giá mức độ biểu hiện của CYP2D6 bằng kỹ thuật Real-time PCR

Nhân bản gen mã hoá CYP2D6 và gen nội chuẩn β-2-microglobulin (M2B) được thực hiện bằng phản ứng Real-time PCR sử dụng Master mix qPCR 2X Premix (UDG plus) có sẵn chất nhuộm huỳnh quang SYBR Green I và enzym Uracil DNA glycosylase (UDG) nhằm hạn chế hiện tượng dương tính giả do nhiễm khuôn. Cặp mồi CY2D6-Fw: 5'-TAGTGGTGGCTGACCTGTTCTCT-3' và CY2D6-Rv: 5'-TCGTCGATCTCCTGTTGGACA-3' cho nhân bản đoạn gen kích thước 121 bp trên CYP2D6 (NC_000022.11); cặp mồi M2B-Fw: 5'-ATGAGTATGCCTGCCGTGTGA-3' và M2B-Rv: 5'-GGCATCTTCAAACCTCCATG-3' cho nhân bản đoạn gen kích thước 101 bp trên M2B (XM_007650). Các thành phần của phản ứng sau khi trộn đều được đặt vào hệ thống iQ™5 Real-time PCR (Biorad, Mỹ) với chu trình nhiệt như sau: (1) 50°C trong 8 phút để enzym UDG loại bỏ các gốc uracyl trong sản phẩm PCR (nếu bị lẫn vào khuôn); (2) 95°C trong 10 phút để bắt hoạt enzym UDG và biến tính bước đầu DNA; tiếp theo là 40 chu kỳ gồm 3 bước phản ứng: biến tính DNA ở 95°C trong 10 giây; gắn mồi ở nhiệt độ 56-60°C trong 15 giây; kéo dài ở 72°C trong 20 giây. Để đánh giá tính đặc hiệu của sản phẩm PCR, phản ứng sau đó sẽ được chạy chương trình phân tích nhiệt độ chảy (melt curve) gồm 47 bước đưa nhiệt độ từ 72 lên 95°C, mỗi bước tăng 0,5°C và giữ trong 30 giây. Kết quả Real-time PCR được phân tích bằng phần mềm iQ5 (Bio - Rad, Mỹ) và được điện di gel polyacrylamide 15%.

Mức độ biểu hiện của *CYP2D6* được tính theo công thức $2^{-\Delta C_t}$ [11, 12], trong đó C_t là giá trị chu kỳ ngưỡng, cụ thể: ΔC_t (mẫu dị ứng) = C_t (gen đích, mẫu dị ứng) - C_t (gen nội chuẩn, mẫu dị ứng); ΔC_t (mẫu dung nạp) = C_t (gen đích, mẫu dung nạp) - C_t (gen nội chuẩn, mẫu dung nạp).

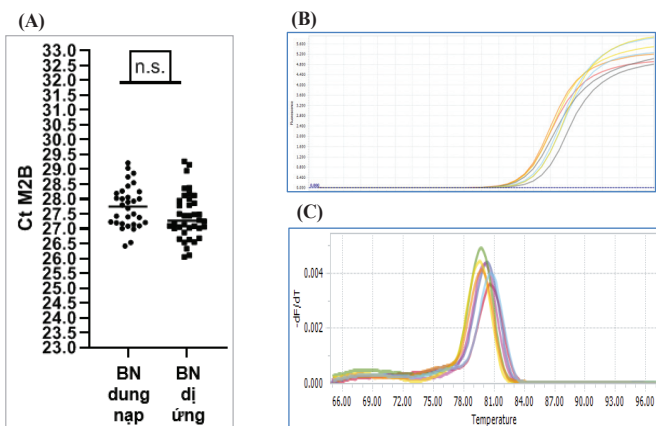
Các phương pháp thống kê

Tính ổn định của các dữ liệu thống kê C_t của gen nội chuẩn được đánh giá theo kiểm định Mann-Whitney [13]. Đối với tập dữ liệu không tuân theo phân phối chuẩn, kiểm định Mann-Whitney được áp dụng để đánh giá sự khác biệt về mức độ biểu hiện gen tương đối giữa nhóm BN dị ứng thuốc so với nhóm BN dung nạp thuốc. Nếu giá trị $p < 0,05$ được coi là có ý nghĩa thống kê. Phân tích thống kê sử dụng Graphpad Prism 8.0.

Kết quả

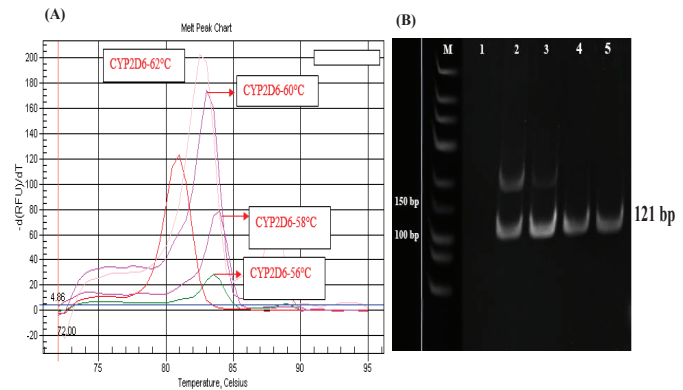
Đánh giá mức độ ổn định của gen nội chuẩn *M2B*

Trong nghiên cứu này, gen *M2B* đã được nhân bản và đánh giá mức độ biểu hiện trong các mẫu nghiên cứu. Kết quả cho thấy, C_t của gen *M2B* ở tất cả các mẫu đều tương tự nhau (C_t chủ yếu tập trung trong khoảng 27-28), sự khác biệt giá trị C_t của nhóm dung nạp và dị ứng thuốc CBZ là không đáng kể (hình 1A); đồ thị khuếch đại gen ở các mẫu BN rất ổn định và tương đối chồng khớp lên nhau (hình 1B); nhiệt độ nóng chảy chỉ có một đỉnh đặc hiệu khoảng 81,5°C (hình 1C). Kết quả phân tích thống kê cũng cho thấy, giá trị $p = 0,0626 > 0,05$, giả thuyết H_0 với giá trị chu kỳ ngưỡng của *M2B* ở 2 nhóm BN không có sự khác biệt đáng kể đã được chấp nhận. Như vậy, *M2B* có mức độ biểu hiện không khác biệt giữa các mẫu và phù hợp là gen nội chuẩn trong nghiên cứu này.



Hình 1. Phân tích kết quả Real-time PCR gen *M2B* của các mẫu BN. (A) Đồ thị phân bố giá trị C_t ; ns: non-significant (khác biệt không đáng kể), tương đương với $p > 0,05$. Kiểm định Mann-Whitney trên phần mềm Graphpad Prism 8.0 đã được sử dụng để đánh giá sự ổn định của gen *M2B*; (B) Đồ thị khuếch đại gen; (C) Biểu đồ đỉnh nhiệt độ tách chuỗi.

Nhân bản gen mã hoá *CYP2D6* trong máu của BN động kinh bằng Real-time PCR

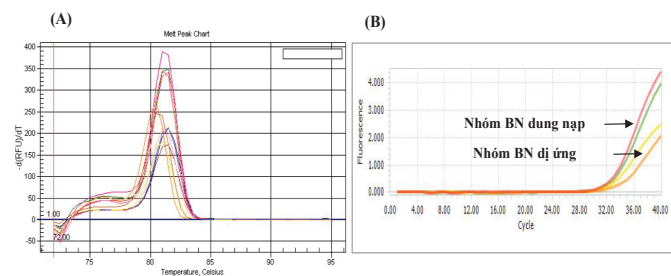


Hình 2. Kết quả Real-time PCR nhân bản gen *CYP2D6* tại các nhiệt độ khác nhau. (A) Biểu đồ đỉnh nhiệt độ tách chuỗi; (B) Ảnh điện di sản phẩm PCR. M: thang chuẩn DNA; 1: đối chứng âm; 2-5: nhiệt độ gắn mỗi tương ứng 56, 58, 60 và 62°C.

Gen mã hóa cho *CYP2D6* đã được nhân bản bằng Real-time PCR với các nhiệt độ gắn mỗi khác nhau (56-62°C). Kết quả chu kỳ ngưỡng dao động ở 13-30 với biểu đồ đỉnh nhiệt độ nóng chảy có chiều cao khác nhau (hình 2A). Kết quả điện di sản phẩm PCR trên gel polyacrylamide 15% (hình 2B) cho thấy có băng DNA kích thước khoảng 121 bp (theo tính toán lý thuyết là của *CYP2D6*) và đặc hiệu nhất tại nhiệt độ 60 và 62°C. Tổng hợp các kết quả, đoạn gen 121 bp mã hóa cho *CYP2D6* đã nhân bản được từ máu của BN động kinh và nhiệt độ 60°C được lựa chọn trong các nghiên cứu tiếp theo.

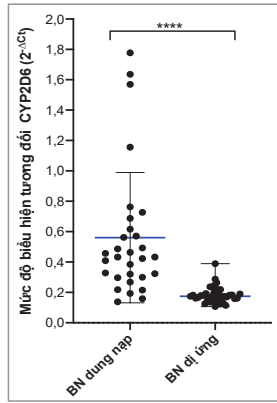
Đánh giá mức độ biểu hiện của gen *CYP2D6* trong mẫu máu của BN bằng Real-time PCR

Tiếp theo, phản ứng Real-time PCR của gen *CYP2D6* được tiến hành trên 70 mẫu BN. Kết quả biểu đồ đỉnh nhiệt độ tách chuỗi của gen *CYP2D6* (hình 3A) đều cho 1 đỉnh đặc hiệu duy nhất với T_m khoảng 81,5°C. Phân tích đồ thị khuếch đại gen *CYP2D6* (hình 3B) cho thấy, đường khuếch đại của nhóm BN dung nạp thuốc so với nhóm BN dị ứng thuốc có sự phân hóa rõ rệt. Cụ thể, tín hiệu huỳnh quang thu được ở nhóm BN dung nạp thuốc đến sớm hơn nhóm BN dị ứng thuốc. Bước đầu có thể khẳng định bằng thực nghiệm, mức độ biểu hiện của gen *CYP2D6* ở các BN dung nạp CBZ cao hơn các BN dị ứng CBZ.



Hình 3. Hình ảnh phân tích kết quả Real-time PCR của gen *CYP2D6* ở các mẫu BN. (A) Biểu đồ đỉnh nhiệt độ tách chuỗi; (B) Đồ thị khuếch đại gen.

Kết quả phân tích thống kê cho thấy, sự biểu hiện của gen *CYP2D6* giữa 2 nhóm BN dung nạp và dị ứng thuốc CBZ có sự khác biệt đáng kể và có ý nghĩa thống kê ($p=0,0001$) (hình 4). Giá trị $2^{-\Delta Ct}$ (mẫu dung nạp)/ $2^{-\Delta Ct}$ (mẫu dị ứng) cho thấy, mức độ biểu hiện của gen *CYP2D6* ở nhóm BN dung nạp CBZ cao hơn khoảng 3 lần so với nhóm BN dị ứng thuốc CBZ.



Hình 4. Mức độ biểu hiện của gen *CYP2D6* ở nhóm BN dung nạp và dị ứng thuốc CBZ. Phân tích thống kê sử dụng kiểm định Mann-Whitney; ****: $p<0,0001$.

Bàn luận

Các gen giữ nhà như *GAPDH*, β -*actin*, *M2B* và *HPRT1* thường được sử dụng làm gen nội chuẩn trong các nghiên cứu đánh giá mức độ biểu hiện của gen quan tâm bằng Real-time PCR. Tuy nhiên, những công bố gần đây cho thấy, mức độ biểu hiện của gen giữ nhà rất khác nhau giữa các tế bào và điều kiện thí nghiệm khác nhau [14]. Trong nghiên cứu này, *M2B* đã được nhân bản bằng Real-time PCR để đánh giá mức độ biểu hiện trong các mẫu nghiên cứu. Kết quả thực nghiệm và thống kê đều cho thấy *M2B* là phù hợp làm gen nội chuẩn.

Gen *CYP2D6* cũng như các CYP450 khác biểu hiện nhiều ở trong gan, đây cũng là lý do tại sao các nghiên cứu trước đây thường tiến hành với *CYP2D6* của gan [3, 7, 10]. Cho đến nay, các nghiên cứu về chuyển hóa thuốc của *CYP2D6* chủ yếu về đa hình di truyền; hơn 100 biến thể của *CYP2D6* đã được công bố với một số biến thể quan trọng nhất có thể kể đến là *CYP2D6**1, *2, *3, *4, *5, *6. Các đa hình của *CYP2D6* có thể ảnh hưởng lên chức năng/hoạt tính của enzym; làm mất, làm giảm, không ảnh hưởng hoặc tăng cường hoạt tính của *CYP2D6* [7, 9, 10, 15]. Nghiên cứu của chúng tôi lần đầu tiên xác định mức độ biểu hiện của gen *CYP2D6* trong máu của BN. Kết quả cho thấy, có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê của chu kỳ ngưỡng trong kết quả Real-time PCR của các BN dung nạp so với nhóm BN dị ứng thuốc CBZ. Mức độ biểu hiện của mRNA *CYP2D6* của các BN dung nạp thuốc CBZ cao hơn 3 lần so với BN dị ứng thuốc CBZ. C. Rodríguez-Antona và cs (2001) [10] đã nghiên cứu mối liên quan giữa mức độ biểu hiện

của các mRNA của *CYP450* (*CYP1A1*, *CYP1A2*, *CYP3A4*, *CYP2D6* và *CYP2B6*) trong gan của người với độ hoạt động của các enzym CYP450 và cho thấy sự biểu hiện của các mRNA này có thể cho phép để định lượng tốt hoạt tính enzym của chúng. M. Ning và cs (2018) [7] đã đánh giá chỉ số hoạt động (AS - activity score) dựa trên kiểu gen của *CYP2D6* trong gan để xác định hoạt tính của enzym *CYP2D6*, mức độ biểu hiện của protein *CYP2D6* bằng thẩm tách miễn dịch và mức độ biểu hiện của mRNA *CYP2D6* bằng Real-time PCR. Kết quả đã cho thấy giá trị AS của *CYP2D6* là một chỉ số dự đoán tốt việc chuyển hoá thuốc kém; hoạt tính của enzym *CYP2D6* có mối tương quan cao với mức độ biểu hiện của protein *CYP2D6* và tương quan thấp hơn với mức độ biểu hiện của mRNA. Sự khác biệt đáng kể giữa mức độ biểu hiện gen mã hóa *CYP2D6* trong máu của BN dung nạp và dị ứng thuốc CBZ trong nghiên cứu này có thể sẽ có ý nghĩa trong dược lý học lâm sàng, làm tiền đề dự đoán mức độ đáp ứng thuốc CBZ của từng BN, giúp hạn chế xảy ra các phản ứng dị ứng không mong muốn khi sử dụng thuốc. Các nghiên cứu tiếp theo trên số lượng BN lớn hơn là cần thiết để làm rõ hơn kết quả này.

Trong các trường hợp BN bị động kinh điều trị bằng CBZ, các alen HLA-B*15:02 và HLA-A*31:01 đã được biết đến như các dấu chuẩn sinh học, có liên quan chặt chẽ với các phản ứng nặng SJS/TEN, DRESS [1, 16, 17]. Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu nào về đa hình của HLA hay hoạt tính của *CYP2D6* trên đối tượng các BN dị ứng nhẹ với CBZ. Trong nghiên cứu này, các BN dị ứng CBZ chủ yếu là các trường hợp dị ứng nhẹ (33/38 BN dị ứng với CBZ). Kết quả phân tích đa hình HLA-A/B của 70 BN này cũng cho thấy, HLA-B*15:02 và HLA-A*31:01 chỉ xuất hiện tương ứng 53 và 3,3% trong số các BN dị ứng CBZ (kết quả không được trình bày ở đây). Vì vậy, các nghiên cứu tiếp theo nhằm tìm ra các dấu chuẩn sinh học tiềm năng cho dự đoán tác dụng phụ của thuốc là cần thiết.

Kết luận

M2B là gen nội chuẩn phù hợp để đánh giá mức độ biểu hiện của *CYP2D6* trong máu BN bị động kinh điều trị bằng thuốc CBZ. Mức độ biểu hiện của gen mã hoá *CYP2D6* trong máu BN bị động kinh dung nạp và dị ứng thuốc CBZ đã được đánh giá thông qua mRNA bằng Real-time PCR. Gen *CYP2D6* ở nhóm BN dung nạp CBZ có mức độ biểu hiện cao hơn khoảng 3 lần so với nhóm các BN dị ứng thuốc CBZ. Kết quả nghiên cứu cho thấy, đánh giá mức độ biểu hiện của gen *CYP2D6* có ý nghĩa trong dự đoán mức độ đáp ứng thuốc CBZ của BN bị động kinh.

LỜI CẢM ƠN

Công trình nghiên cứu được thực hiện với sự hỗ trợ kinh phí của đề tài cấp quốc gia có mã số ĐTĐL.CN-63/19. Các tác giả trân trọng cảm ơn sự tài trợ của Bộ Khoa học và Công nghệ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] D.V. Nguyen, et al. (2015), "HLA-B*1502 and carbamazepine-induced severe cutaneous adverse drug reactions in Vietnamese", *Asia Pac. Allergy*, **5(2)**, pp.68-77.
- [2] C.Y. Wei, et al. (2012), "A recent update of pharmacogenomics in drug-induced severe skin reactions", *Drug. Metab. Pharmacokinet*, **27(1)**, pp.132-141.
- [3] A. Puangpetch, et al. (2016), "CYP2D6 polymorphisms and their influence on risperidone treatment", *Pharmacogenomics Pers. Med.*, **9**, pp.131-147.
- [4] E.U. Griese, et al. (1998), "Assessment of the predictive power of genotypes for the *in-vivo* catalytic function of CYP2D6 in a German population", *Pharmacogenetics*, **8(1)**, pp.15-26.
- [5] R.S. Fisher, et al. (2014), "ILAE official report: A practical clinical definition of epilepsy", *Epilepsia*, **55(4)**, pp.475-482.
- [6] M.A. Lopez-Garcia, et al. (2014), "Genetic polymorphisms associated with antiepileptic metabolism", *Frontiers in Bioscience*, **6(2)**, pp.377-386.
- [7] M. Ning, et al. (2018), "CYP2D6 protein level is the major contributor to inter-individual variability in CYP2D6-mediated drug metabolism in healthy human liver tissue", *Clin. Pharmacol. Ther.*, **104(5)**, pp.974-982.
- [8] H.H. Nguyen, et al. (2019), "Single nucleotide and structural variants of CYP2D6 gene in Kinh Vietnamese population", *Medicine*, **98(22)**, DOI: 10.1097/Md.00000000000015891.
- [9] H.H. Sheng, et al. (2007), "Allelic distributions of CYP2D6 gene copy number variation in the Eastern Han Chinese population", *Acta Pharmacol. Sin.*, **28(2)**, pp.279-286.
- [10] C. Rodriguez-Antona, et al. (2001), "Cytochrome P450 mRNA expression in human liver and its relationship with enzyme activity", *Arch. Biochem. Biophys.*, **393(2)**, pp.308-15.
- [11] D.V. Nguyen, et al. (2020), "Gene expression profiling in allopurinol-induced severe cutaneous adverse reactions in Vietnamese", *Pharmacogenomics*, **21(14)**, pp.985-994.
- [12] K.J. Livak, T.D. Schmittgen (2001), "Analysis of relative gene expression data using Real-time quantitative PCR and the 2-DDCT method", *Methods*, **25(4)**, pp.402-408.
- [13] L. Niu, et al. (2021), "Tumor - educated leukocytes mRNA as a diagnostic biomarker for non-small cell lung cancer", *Thoracic Cancer*, **12(6)**, pp.737-745.
- [14] X.J. Xiao, et al. (2017), "Identification of reference genes in blood before and after entering the plateau for SYBR green RT-qPCR studies", *Peer J.*, **5**, DOI: 10.7717/peerj.3726.
- [15] A.T. Alvarado, et al. (2021), "Frequency of CYP2D6*3 and *4 and metabolizer phenotypes in three mestizo Peruvian populations", *Pharmacia*, **68(4)**, pp.891-898.
- [16] C.C. Chang, et al. (2011), "Association of HLA-B*1502 allele with carbamazepine-induced toxic epidermal necrolysis and Stevens-Johnson syndrome in the multi-ethnic Malaysian population", *Int. J. Dermatol.*, **50(2)**, pp.221-224.
- [17] W.L. Fan, et al. (2017), "HLA association with drug-induced adverse reactions", *J. Immunol Res.*, **2017**, DOI: 10.1155/2017/3186328.