

ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА MDR-1 НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ГАСТРИТА

Очилова Г.С., Мусаева Д.М.,

Бухарский государственный медицинский институт.

✓ Резюме,

В статье отмечается, что индивидуализация медицины - это инновационное направление, повышающее безопасность и эффективность фармакотерапии, современная методология модернизации системы здравоохранения. Новизна данного исследования является в том, что впервые изучено влияние Р-гликопротеина и влияние гена MDR-1 на эффективность лекарственных средств, применяемых для лечения хронического гастрита и разработана методика дифференцированного подхода к лечению данной патологии. Знание влияния кодируемого геном MDR-1 Р-гликопротеина на фармакокинетику препарата, повышает эффективность и безопасность не только фармакотерапии, но и экономическое и социальное значение лечения.

Ключевые слова: фармакогенетика, Р - гликопротеин, ген MDR-1, хронический гастрит, индивидуальная фармакотерапия.

СУРУНКАЛИ ГАСТРИТНИНГ ДАВО САМАРАСИГА MDR-1 ГЕНИ ПОЛИМОРФИЗМИНИНГ ТАЪСИРИ

Очилова Г.С., Мусаева Д.М.,

Бухоро давлат тиббиёт институти.

✓ Резюме,

Мақолада тиббиётни индивидуаллаштириш - фармакотерапиянинг хавфсизлиги ва самарадорлигини оширувчи инновацион йўналиш эканлиги, соғлиқни сақлаш тизимини модернизациялашнинг замонавий усули эканлиги эътироф этилган. Ушбу тадқиқотнинг янгилиги шундаки, сурункали гастритни даволаш учун ишлатиладиган дори воситаларининг самарадорлигига MDR-1 генининг таъсири ўрганилди ва ушбу патологияни даволашга йўналтирилган ёндашув усуллари ишлаб чиқилди. MDR-1 гени томонидан кодланувчи Р-гликопротеиннинг дори фармакокинетикасига таъсири билган ҳолда даво тайинлаш фармакотерапия самарадорлиги ва хавфсизлигини оширади, шу билан бирга юқори тиббий, иқтисодий ҳамда ижтимоий аҳамиятга эга.

Калит сўзлар: фармакогенетика, Р-гликопротеин, MDR-1 гени, сурункали гастрит, индивидуал фармакотерапия.

INFLUENCE OF MDR-1 GENE POLYMORPHISM ON THE EFFECTIVENESS OF TREATMENT OF CHRONIC GASTRITIS

Ochilova G.S., Musaeva D.M.,

Bukhara State Medical Institute.

✓ Resume,

The article notes that the individualization of medicine is an innovative direction that increases the safety and effectiveness of pharmacotherapy, a modern methodology for modernizing the health care system. The novelty of this study lies in the fact that for the first time the activity of P-glycoprotein and the effect of the MDR-1 gene on the effectiveness of drugs used to treat chronic gastritis were studied and a differentiated approach to the treatment of this pathology was developed. Knowledge of the effect of the R-glycoprotein encoded by the MDR-1 gene on the pharmacokinetics of the drug increases the effectiveness and safety of not only pharmacotherapy, but also the economic and social significance of the treatment.

Key words: pharmacogenetics, P-glycoprotein, MDR-1 genes, chronic gastritis, individual pharmacotherapy.

Актуальность

С давних пор науке известно, что генетический аппарат организма человека влияет буквально на все процессы организма и регулируют их. Подобное влияние имеют индивидуальный, персональный характер, что диктуется особенностями генетики человека. В связи с этим тактика лечения патологических изменений подобных процессов организма должно осуществляться с учетом генетики каждого пациента и необходимо признать наличие генов, осуществляющих индивидуальную фармакологическую ответную реакцию организма на действие лекарственных средств [1].

Фармакогенетика, являющаяся одним из современных направлений клинической фармакологии, изучает генетические особенности больного и влияние их на лечение заболеваний [7]. Тактика лечения с учетом генетических особенностей организма диктует персонализацию фармакотерапии, то есть актуальным вопросом данного направления является индивидуализация лечения. Выявление аллельных вариантов каждого гена, влияющего на фармакодинамику либо фармакокинетику лекарственных средств, используемых для терапии, следует рассматривать как основной фактор оптимизации лечения (подбор дозы, путей введения и заме-

няющего препарата), также её эффективного и безопасного применения [12, 13, 14].

Выявлено, что ген MDR-1, является одним из основных генов, влияющих на эффективность фармакотерапии. Ген MDR-1 (multidrug-resistance gene) кодирует Р-гликопротеин (Р-gp), который располагаясь в цитоплазматической мембране различных клеток, выполняет функцию АТФ зависящего насоса и способствует выведения различных ксенобиотиков за пределы клетки [8]. Поэтому экспрессия гена MDR-1 способствует резистентности клетки к применяемому лекарственному средству и играет важную роль в эффективности лечебных мероприятий. А именно кодируемый геном MDR-1 белок Р-гликопротеин, диктует активность процесса всасывания лекарственного средства, находясь в мембране таких нормальных клеток организма, как эпителиальные клетки, выстилающие тонкий и толстый кишечник, панкреатический проток, желчные каналы печени, проксимальные каналы почек и в надпочечниках, на реснитчатом эпителии лёгких, в трахее и в бронхах, а также в эндотелиоцитах таких гистогематических барьеров, как гематоэнцефалическая, гематоовариальная, гематотестикулярная. Кроме того, Р-гликопротеин обнаружен на эндотелии сосудов легкого, в альвеолярных макрофагах, в Т- и В-лимфоцитах и даже в плаценте. Считается, что Р-гликопротеин препятствуя всасыванию лекарственных средств через мембрану клетки или при их попадании в клетку - способствуя скорейшему их выведению, защищает организм от ксенобиотиков. В пищеварительной системе Р-гликопротеин в роли специфического насоса "вытягивает" лекарственное средство из клетки в полость кишечника. В гепатоцитах печени Р-гликопротеин участвует в выкачивании ксенобиотиков и выбросу в желчь. В эпителии почечных канальцев Р-гликопротеин способствует активной секреции ксенобиотиков в мочу. В эндотелиоцитах гистогематических барьеров Р-гликопротеин ингибирует прохождение ксенобиотиков в ЦНС, в семенники, в яичники и через плаценту. Чем больше поступает или образуется в клетке человека токсинов, тем быстрее протекает транскрипция и передача генов, кодирующих этот белок. Таким образом, ингибируя всасывание и ускоряя выведение ксенобиотиков Р-гликопротеин становится защитником организма [10]. Установлено, что экспрессия гена MDR-1 у мужчин в 2,4 раза больше, чем у женщин, что указывает на особенности фармакокинетики препарата зависимости от пола [11].

В современной научной литературе описывается один из полиморфизмов гена MDR-1, которая образуется вследствие "молчащей" мутации в экзоне 26 в позиции 3435 (С3435Т) - замена цитозинового нуклеотида на тимидиновый в промоторной зоне гена MDR-1 [8, 10].

Как описывается в литературе (Hoffmeyer S. и соавт., 2000), у гомозигот по аллелю ТТ экспрессия гена MDR-1 в тонком кишечнике оказалась более чем в 2 раза меньше по сравнению с экспрессией гена MDR-1 у гомозигот СС ($p=0,056$), что указывает на более высокую активность Р-гликопротеина у лиц с генотипом СС [9].

При проведении субпопуляционного анализа было выявлено, что у европейцев активность Р-гликопротеина была выше у носителей генотипа СС, а у японцев - у носителей генотипа ТТ [5].

Указанные обстоятельства послужили причиной выбора направления настоящего исследования, т.е. изучению генотипа больных с хроническим гастритом по полиморфному маркеру С3435Т гена MDR-1 и ассоциации полиморфизма с эффективностью и безопасностью терапии хронического гастрита у лиц проживающих в Бухарской области.

Материал и методы

В соответствии с поставленными задачами диссертации проведено комплексное обследование 100 неродственных больных с ХГ, находившихся на стационарном лечении и наблюдении в 1-клинике БухГМИ - в БОМПКБ. Эти больные составили основную группу.

Контрольную группу составили 50 здоровых неродственных и не имевших в анамнезе патологии ЖКТ лица, проживающие в Бухарской области, соответствовавшие по полу и возрасту обследованной группе пациентов с хроническим гастритом (рис.-1).

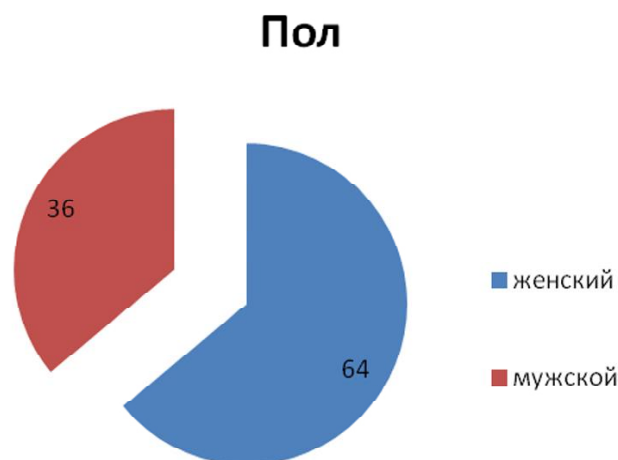


Рисунок-1. Половое различие в группах сравнения

Возраст больных с хроническим гастритом колебался от 18 до 63 лет. При этом следует заметить, что среди больных с хроническим гастритом преобладали женщины.

Начальным этапом нашей работы был подбор и оптимизация работы системы олигопраймеров для детекции полиморфизма rs1045642 гена MDR-1 по полиморфному маркеру С3435Т, т.е. усовершенствования методологического способа детекции этого генетического маркера. Нуклеотидные последовательности детекции полиморфизма rs1045642 гена MDR-1 подбирали с использованием программы "Oligo v.6.31" (Molecular Biology Insights Inc., США) и синтезированы в ООО "Синтол" и НПФ "Литех" (г. Москва).

Остальные компоненты были приобретены у ведущих мировых производителей - "Serva" (Германия), "Sigma" (США), "Хеликон" НПФ "Литех", Сибэнзим (Россия) и т.д.

Адаптация систем праймеров для стандартного ПЦР анализа проведена при помощи ПЦР-анализаторов "Applied Biosystems 2720" (США) и Rotor-Gene 6000 (Corbett Австралия). Для амплификации использовали реакционную смесь объемом 25 мкл, которая содержала 2.5 мкл 1 ОхТaq-буфера (67 мМтрис-НCl (рН 8.8), 16.6 мМ (NH₄)₂SO₄, 2.5мМ MgCl₂, 0.01% Tween-20), 0.1 мкг геномной ДНК, смесь dNTP

(dATP, dGTP, dCTP, dTTP по 200 мкМ каждого), 1 ед. ДНК-полимеразы *Termusaquaticus* (производства фирмы "Силекс", г. Москва) и 5-10 пМ локусспецифичных олигонуклеотидных праймеров. Температурно-временные параметры изменяли в зависимости от пар олигопраймеров.

Для детекции rs1045642 гена MDR-1: предварительная денатурация - 940С (1 мин. 1 цикл), 35 циклов амплификации: 930С (10 сек) - денатурация, 640С (10 сек) - отжиг праймеров, 720С (20 сек) - элонгация, и заключительный синтез 720С (1 мин. 1-цикл), 10 мин хранение.

Полиморфные участки гена MDR-1 выявляли с помощью метода ПЦР-SSP.

Указанные праймеры сконструированы с помощью пакетов программ Vector NTI 7.1 и Primo [69]. Амплификационная смесь (10 мкл) содержала 70 мМ Трис-НСl (рН 9.0), 20 мМ (NH₄)₂ SO₄, 1.0 мМ MgCl₂, 0.025% Твин-20, 0.025% NP-40, по 5 пмоль каждого праймера, 0.2 мМ dNTP, 0.5 ед. Taq-полимеразы и 100-200 нг ДНК, минеральное масло.

Программа амплификации: 95°С, 5 мин. Затем 10 циклов: 95°С - 1 мин, 64°С - 1 мин, 72°С - 1 мин; и 20 циклов: 95°С - 30 с, 58°С - 50 с, 72°С - 50 с.

Специфичность и количество амплифицированных фрагментов проверяли методом электрофореза в агарозном геле.

При проведении амплификации с образцами ДНК со стандартной концентрацией (80-100 нг/мкл), нами

были получены "ложно-положительные" результаты, по сравнению с положительным контролем. После разбавление образцов с ТЕ-буфером до получения концентрации 20-60нг/мкл, во всех реакциях фрагменты амплификации были обнаружены, по сравнению со стандартным набором. Эти результаты позволяют нам официально внести информацию об уровне используемой ДНК (20-60 нг/мкл) в методическое пособие для проведения ПЦР исследований полиморфизмов rs1045642 гена MDR-1.

При сравнительном анализе 50 образцов контрольной ДНК установлена положительная корреляционная связь между нашими результатами и с полученными данными стандартизированной тест-системой компании ПФ "Литех" (г. Москва). Гетеро и гомозиготные генотипы были выявлены у тех же образцов ДНК, отрицательный результат был подтвержден обоими методами (высокая сопоставимость результатов). Выявленные незначительные различия оказались статистически незначимыми (P>0.05).

Результат и обсуждение

При определении генотипа больных с хроническим гастритом, оказалась, что среди пациентов, проживающих в Бухарской области генотип Т\Т имеется у 25% больных (таблица 1), генотип Т\С определен у 59% пациентов, а генотип С\С выявили у 16% больных.

Таблица-1

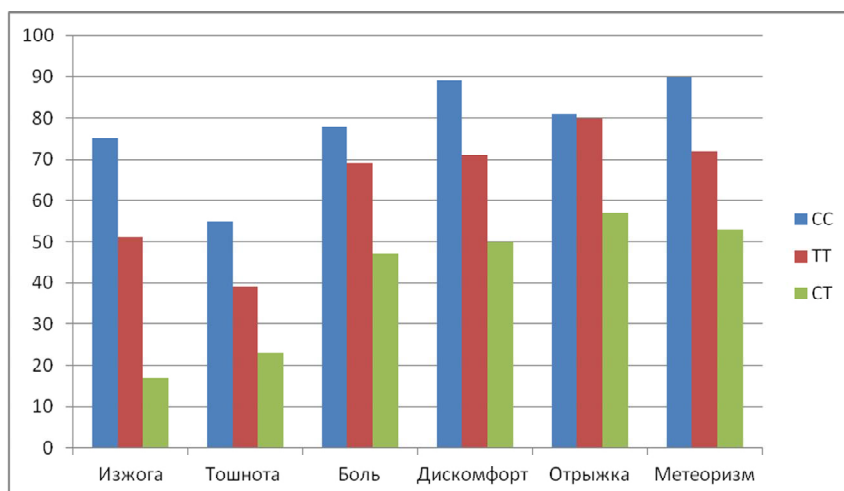
Частота распределения генотипов по

№	Группа	Генотипы					
		Т/Т		Т/С		С/С	
		n	%	N	%	n	%
1	Основная, n=100	25	25	59	59	16	16
2	Контрольная, n=50	6	30	11	55	3	15

В литературе описываются результаты научного исследования, в ходе которого был проведен субпопуляционный анализ и было выявлено, что у европейцев превалирует генотип СС - полиморфизм rs1045642 гена MDR-1 по полиморфному маркеру С3435Т, а у японцев превалирует носительство генотипа ТТ по полиморфному маркеру С3435Т гена

MDR-1. Однако, при изучении полиморфизма rs1045642 гена MDR-1 по полиморфному маркеру С3435Т у пациентов, проживающих в Бухарской области, результаты оказались иными, исследования показывают, что у пациентов с хроническим гастритом, проживающих в Бухарской области превалирует генотипом СТ (59%).

Рисунок 2. Изменение симптоматики в ходе лечения зависимости от генотипа



Полученные результаты указывают на то, что у пациентов с генотипом 3435СТ активность Р-гликопротеина выше, чем у носителей генотипа 3435СС и 3435ТТ, что непосредственно влияет на биодоступность лекарств, применяемых в стандартном лечении хронического гастрита. Исходя из литературных данных, где описываются влияние Р-гликопротеина на всасывание и переход лекарства через мембрану клетки, нами было установлено, что у пациентов с генотипом 3435СТ по сравнению с генотипами 3435СС и 3435ТТ гена MDR-1 эффективность применяемой терапии на 4-5 дни и на 12 день лечения снижено и такие основные жалобы, как изжога, боль в эпигастриальной области, чувство тяжести в проекции желудка и дискомфорт после приёма пищи не имели достоверного снижения; тогда, как у больных с генотипом 3435СС и 3435ТТ отмечалась начала снижение симптомов заболевания в указанные сроки лечения (рис.-2).

Как было выше отмечено, активность Р-гликопротеина напрямую влияет на фармакокинетику применяемых препаратов и эффективность выбранной фармакотерапии зависит от генотипа пациента по отношению к полиморфизмам гена MDR-1 - гена множественной лекарственной устойчивости. Мы считаем, что малоэффективность выбранной фармакотерапии диктуется именно активностью Р-гликопротеина кодируемого геном MDR-1 и изучение генотипа пациента по полиморфному маркеру С3435Т необходимо врачу для выбора эффективной и безопасной фармакотерапии при данной патологии.

Выводы

Таким образом, результаты исследований показывают, что для получения полного фармакотерапевтического эффекта врачу необходимо иметь информацию о генотипе больного по полиморфному маркеру С3435Т гена MDR-1. Подобные данные пациента помогают врачу оптимизировать выбранный план лечения и самое главное - подбирать дозу и лечить больного эффективно и безопасно.

Так как генетический аппарат человека является индивидуальным, неповторимым, то мы считаем, что подобная информация о пациенте способствует индивидуализации лечения, то есть персонификации фар-

макотерапии, что послужит основой безопасного и высокоэффективного лечения, которое в современной медицине считается актуальной и требованием времени.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Кукес В.Г., Грачев С.В., Сычев Д.А., Раменская Г.В. Метаболизм лекарственных средств: научные основы персонализированной медицины. М.- ГЭОТАР-Медиа, 2008. 304 с.
2. Кличова Ф.К., Очилова Г.С. Сборник тезисов II Всероссийской научно- практической конференции с международным участием. Безопасность фармакотерапии: NOLI NOCERE! г. Казан, 16 мая 2019 г.
3. Мусаева Д.М., Очилова Г.С. "Значение гена MDR-1 в фармакотерапии при хронических гастритах" Проблемы биологии и медицины, 2019, № 4 (113).
4. Мусаева Д.М., Очилова Г.С. "Сурункали гастритни даволашда MDR-1 аллел вариантларининг ахамияти" Материалы международной научно- практической онлайн-конференции "Актуальные вопросы медицинской науки в XXI веке" г.Ташкент, 25.04.2019г.
5. С.В.Чубарова, А.Ю.Крапошина, Е.А.Собко, И.В.Демко, А.Б.Салмина. Физиологические и клинические аспекты Р-гликопротеина // Бюллетень. Вып.45. - 2012 г. 91-97 с.
6. Сычев Д.А., Раменская Г.В., Игнатьев И.В., Кукес В.Г. Клиническая фармакогенетика. /Под редакцией Кукеса В.Г., Бочкова Н.П. М.: Гэотар-Медиа, 2007. 248 с.
7. Kim K.A., Park P.W., Park J.Y. Effect of ABCB1 (MDR1) haplotypes derived from G2677T/C3435T on the pharmacokinetics of amlodipine in healthy subjects //Br. J. Clin.Pharmacol. 2007, Jan. Vol.63, №1. P. 53-58.
8. Kim R. Drugs as P-glycoprotein substrates, inhibitors, and inducers. Drug Metab. Rev., 2012, 34, 47-54.
9. Kuzuya T., Kobayashi T., Moriyama N., Nagasaka T., Yokoyama I., Uchida K., Nakao A., Nabeshima T. Amlodipine, but not MDR1polymorphisms, alters the pharmacokinetics of cyclosporine A in Japanese kidney transplant recipients //Transplantation.2003. Vol.76, №5.P. 865-868.
10. Zhou S.F. Structure, function and regulation of P-glycoprotein and its clinical relevance in drug disposition //Xenobiotica. 2008, Jul. Vol.38, №7-8. P. 802-832.
11. Zhou S.F., Di Y.M., Chan E., Du Y.M., Chow V.D., Xue C.C., Lai X., Wang J.C., Li C.G., Tian M., Duan W. Clinical pharmacogenetics and potential application in personalized medicine // Curr. Drug. Metab. 2008, Oct. Vol.9, №8. P. 738-784.
12. Pharmacogenomics. Ed. M. Rothstein Will-yliss, New Jersey, 2003, 368 p.
13. Sweet D., Bush K., Nigam S. The organic anion transporter family: from physiology to ontogeny and the clinic. Am. J. Physiol. Renal. Physiol., 2001, 281 (2), F1977-F205.

Поступила 09.02. 2020