

ФАРМАКОГЕНЕТИКА ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОГО ГАСТРИТА

Мусаева Д.М., Очилова Г.С., Очилов А.К., Саъдуллаева Г.У., Бабаназаров У.Т.,

Бухарский государственный медицинский институт имени Абу Али ибн Сино, Узбекистан.

✓ Резюме

В статье отмечается, что проведение фармакотерапии с учетом генотипа пациента - это молодое направление, способствующее повышению безопасности и эффективности лечения ингибиторами протонной помпы. Определение генетической принадлежности пациента по полиморфизмам генов MDR-1 и CYP2C19 позволяют изначально определить тактику лечения ингибиторами протонового насоса у больных с кислотозависимыми заболеваниями.

Ключевые слова: цитохром P450, генный полиморфизм, ген MDR-1, ген CYP2C19, хронический гастрит, персонализация фармакотерапии.

СУРУНКАЛИ ГАСТРИТ ТЕРАПИЯСИНИНГ ФАРМАКОГЕНЕТИКАСИ

Мусаева Д.М., Очилова Г.С., Очилов А.К., Саъдуллаева Г.У., Бабаназаров У.Т.,

Абу Али ибн Сино номидаги Бухоро давлат тиббиёт институти.

✓ Резюме

Мақолада қайд этилишича, фармакотерапия беморнинг генотипини ҳисобга олган ҳолда, протон насоси ингибиторлари билан даволаш хавфсизлиги ва самарадорлигини оширишга ҳисса қўшадиган ёш йўналишдир. MDR-1 ва CYP2C19 генларининг полиморфизмлари орқали беморнинг генетик мансублигини аниқлаш дастлаб кислотага боғлиқ касалликлар билан оғриган беморларда протон насоси ингибиторлари билан даволаш тактикасини аниқлашга имкон беради.

Калит сўзлар: цитохром P450, ген полиморфизми, MDR-1 гени, CYP2C19 гени, сурункали гастрит, фармакотерапия.

PHARMACOGENETICS OF CHRONIC GASTRITIS THERAPY

Musaeva D.M., Ochilova G.S., Ochilov A.K., Sadullaeva G.U., Babanazarov U.T.,

Bukhara state medical Institute named after Abu Ali Ibn Sino, Uzbekistan.

✓ Resume

The article notes that pharmacotherapy taking into account the patient's genotype is a young direction that contributes to improving the safety and effectiveness of treatment with proton pump inhibitors. Determination of the patient's genetic affiliation by polymorphisms of the MDR-1 and CYP2C19 genes allows us to initially determine the tactics of treatment with proton pump inhibitors in patients with acid-dependent diseases.

Key words: cytochrome P450, gene polymorphism, MDR-1 gene, CYP2C19 gene, chronic gastritis, personification of pharmacotherapy.

Актуальность

Фармакогенетика - один из достаточно молодых направлений фармакологии, которая даёт возможность врачу подбирать лечение с учетом генетических особенностей, то есть индивидуальное лечение - персонализация фармакотерапии. Поэтому современные мировые системы здравоохранения "болеют" персонализированной медициной и проводятся колоссальные научные исследования, с целью выявления влияния генов, их аллелей и полиморфизмов на эффективность лечения с помощью генетических маркеров, указывающих на конечный результат фармакотерапии того или иного заболевания[6]. В связи с этим, представляют интерес исследования, выполненные на основе оценки информативности генетических маркеров.

Развитие фармакологии настоящего века невозможно без учета индивидуальных особенностей генетики пациента. Секвенирование первого генома человека и последовавшее за ним стремительное развитие технологий, вызвавших существенное снижение стоимости генетического анализа и ускорение сроков его

проведения, сделали возможным широкое внедрение методов генетической диагностики в научные исследования и в практическую медицину. Фармакогенетика-прежнему является основой в решении подобного рода задач[16-18].

Гены, как и во всех сферах жизнедеятельности организма, остаются определяющим фактором течения процесса. Таким же образом в фармакотерапии конкретных нозологических единиц фармакодинамика и фармакокинетика каждого лекарственного средства диктуется полиморфизмом конкретных генов[1]. 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.

Фармакогенетика, являющаяся одним из современных направлений фармакологии, изучает генетические особенности больного и влияние их на течение заболеваний [13]. Тактика лечения с учетом генетических особенностей организма диктует персонализацию фармакотерапии, то есть актуальным воп-

росом 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 заменяющего препарата), также её эффективного и безопасного применения [17].

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 [5]. 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 канальца печени, проксимальные канальца 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 [20]. 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 [9, 14]. 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 [4]. 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 [12].

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 [3-15].

Как описывается в литературе (Hoffmeyer S. и соавт., 2000), у гомозигот по аллелю ТТ экспрессия гена MDR-1 в тонком кишечнике оказался 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. 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.

Также следует отметить, что лекарственные средства, поступающие в организм в основном метаболизируются в печени под влиянием цитохрома Р-450.

Цитохром Р-450 является комплексом белка с ковалентно связанным гемом (металлопротеином), обеспечивающий присоединение кислорода. Число 450 указывает на то, восстановленный гем, связанный с СО, отличается максимумом поглощения света при длине волны 450 нм [8]. Комплекс цитохром Р450 (в литературе обозначается как CYP450) участвует в метаболизме лекарств. Все изоформы цитохрома Р-450 объединены в семейства CYP1, CYP2, CYP3 [1-7]. Внутри семейств выделены подсемейства А, В, С, D, Е. В пределах подсемейств изоформы обозначены порядковым номером, в виде CYP2C19 - это наименование 19-го по порядку цитохрома подсемейства "С", семейства "2". Всего существует около 250 различных видов цитохрома Р-450, из них примерно 50 находятся в организме человека и только 6 из них (CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1, CYP3A4) имеют отношение к метаболизму лекарств [2, 11]. Наиболее существенными, согласно современным представлениям, являются изменения фармакокинетики при метаболизме лекарств с участием цитохромов.

В наших исследованиях объектом изучения были кислотазависимые заболевания пищеварительной системы, где ингибиторы протонной помпы являются препаратами первого ряда. Все больше накапливаются данные в литературе о том, что терапевтический эффект ингибиторов протонного насоса существенно зависит от скорости выведения препаратов из организма. Так как метаболизм ингибиторов протонной помпы происходит главным образом в печени при участии CYP2C19, то полиморфизм генов системы цитохрома CYP2C19 является определяющим фактором того, что скорость наступления, длительность антисекреторного эффекта ингибиторов протонной помпы и проявления побочных эффектов у пациентов существенно различаются [19].

В литературе описывается, что в российской популяции показатели распространенности мутаций гена CYP2C19, кодирующего метаболизм ингибиторов протонной помпы имело влияние на фармакокинетику лекарств таким образом: гомозиготы, нет мутаций - быстрый метаболизм ингибиторов протонной помпы; гетерозиготы, одна мутация; две мутации - медленный метаболизм ингибиторов протонной помпы соответственно. Таким образом, получается, что от 8,3 до 20,5% пациентов резистентны к однократно принятой дозе ингибиторов протонной помпы

Таким образом, гены MDR-1 и CYP2C19 являются основными факторами, обеспечивающие метаболизм ингибиторов протонной помпы, а также эффективность фармакотерапии в целом.

Однако, исследования, посвященные изучению влияния аллельных вариантов гена CYP2C19 и полиморфизмов гена MDR-1, то есть генотипа больного на эффективность лечения хронического гастрита у пациентов, проживающих в Бухарской области, отсутствуют, что явилось основанием для проведения настоящего исследования.

Материалы и методы

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 и полиморфизма rs4244285 гена CYP2C19 по полиморфному маркеру G681А, т.е. усовершенствования методологического способа детекции этих генетических маркеров. Нуклеотидные последовательности детекции полиморфизма rs1045642 гена MDR-1 и полиморфизма rs4244285 гена CYP2C19 подбирали с использованием программы "Oligo v.6.31" (MolecularBiologyInsightsInc., 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 "AppliedBiosystems 2720" (США) и Rotor-Gene 6000 (Corbett Австралия). Для амплификации использовали реакционную смесь объемом 25 мкл, которая содержала 2.5 мкл 1 ОхТаq-буфера (67 мМтрис-НСl (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 олигонуклеотидных праймеров. Температурно-временные параметры изменяли в зависимости от пар олигопраймеров.

Для детекции rs1045642 гена MDR-1 и rs4244285 гена CYP2C19: 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 и гена CYP2C19 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 мМтрис-НСl (рН 9.0), 20 мМ (NH₄)₂ SO₄, 1.0 мМ MgCl₂, 0.025% Tween-20, 0.025% NP-40, по 5 пмоль каждого праймера, 0.2 мМdNTP, 0.5 ед. Таq-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 и rs4244285 гена CYP2C19.

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

В исследуемых группах были определены генотипы больных по генам CYP2C19 по полиморфному маркеру G681А и MDR-1 по полиморфному маркеру С3435Т с хроническим гастритом, проживающих в Бухарской области.

Среди пациентов генотип по полиморфному маркеру G681А гена CYP2C19 оказалась, что генотип G/G имеется у 70% больных, генотип G/A определился у 28% пациентов, а генотип A/A выявили у 2% больных.

Известно, что у пациентов с генотипом G/G определяется быстрый метаболизм ингибиторов протонной помпы, а у пациентов с генотипом G/A замедленный метаболизм лекарств, что имеет огромное значение для эффективного и безопасного применения лекарств этой группы.

Наши исследования показали, что у больных с хроническим гастритом проживающих в Бухарской области превалирует генотип G/G (70%), что указывает на ускоренный метаболизм ингибиторов протонного насоса. Этот факт напрямую указывает на то, ингибиторы протонной помпы должны применяться с учетом генетических особенностей.

А по полиморфному маркеру С3435Т гена MDR-1 генотип больных с хроническим гастритом среди пациентов, проживающих в Бухарской области оказалась, что генотип T/T имеется у 25% больных, генотип T/C определился у 59% пациентов, а генотип C/C выявили у 16% больных.

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.

Мы считаем, что малоэффективность выбранной фармакотерапии диктуется именно активностью Р-гликопротеина кодируемого геном MDR-1 и изучение

генотипа пациента по полиморфному маркеру C3435T необходим 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. 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 персонализации фармакотерапии, что послужит основой безопасного и высокоэффективного лечения, которое в современной медицине считается актуальной и требованием времени.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

- Исаков, В. А. Фармакогенетический анализ метаболизма и клинической эффективности ингибиторов протонного насоса/В. А. Исаков//Клин. фармакол. тер. 2003. № 1. С. 32 - 37.
- Китаева Е. Ю., Шпрах В. В., Мирзаев К. Б., Рыжикова К. А., Шуев Г. Н., Созаева Ж. А., Пименова Ю. А., Когай В. В., Сычев Д. А.// Частота полиморфизмов генов CYP2C19 и ABCB1, ассоциированных с изменением антиагрегантного действия клопидогрела, у русских и бурят. Сибирское медицинское обозрение. 2018 №3 43-50 С.
- Очилов А.К., Г.С.Очилова. "Значение гена CYP2C19 в фармакотерапии при хронических гастритах" Проблемы биологии и медицины, 2019, № 4 (113)
- Очилов А.К., Мусаева Д.М. "Лечение хронического гастрита в зависимости от аллельных вариантов гена CYP2C19" Международной научно- практической онлайн- конференции "Актуальные вопросы медицинской науки в XXI веке" г.Ташкент, 25.04.2019г.
- Очилов А.К., Очилова Г.С. Клиническая значимость полиморфизмов гена CYP2C19 // Университетская наука: взгляд в будущее. Сборник научных трудов по материалам Международной научной конференции, посвященной 85-летию Курского государственного медицинского университета (7 февраля 2020 года) Том I. 2020. 376-379 С.
- Климова Ф.К., Очилова Г.С. Сборник тезисов II Всероссийской научно- практической конференции с международным участием. Безопасность фармакотерапии: NOLINOCERE! г.Казан, 16 мая 2019 г.
- Мусаева Д.М., Очилова Г.С. "Значение гена MDR-1 в фармакотерапии при хронических гастритах" Проблемы биологии и медицины, 2019, № 4 (113)
- Мусаева Д.М., Очилова Г.С. "Сурункали гастритни даволашда MDR-1 аллелвариантларининг аҳамияти" Материалы международной научно- практической онлайн-конференции "Актуальные вопросы медицинской науки в XXI веке" г.Ташкент, 25.04.2019г.
- Мусаева Д.М., Очилова Г.С. "Сурункали гастритни даволашда MDR-1 аллелвариантларининг аҳамияти" Материалы международной научно- практической онлайн-конференции "Актуальные вопросы медицинской науки в XXI веке" г.Ташкент, 25.04.2019г.
- Мусаева Д. М., Очилов А. К., Очилова Г. С. Коррекция фармакометаболизирующей функции печени антиоксидантами //Достижения науки и образования. - 2018. - №. 10 (32).
- Мусаева Д. М., Климова Ф. К., Очилова Г. С. Влияние ГАМК-миметиков на фармакодинамику этанола натрия при экспериментальном токсическом гепатите //Научный журнал. - 2018. - №. 8 (31).
- Мусаева Д. М., Самадов Б. Ш., Очилова Г. С. Гепатопротекторное влияние фенотербитала при экспериментальном токсическом гепатите. 341-344 с.
- Очилов А.К., Мусаева Д.М. Особенности гена CYP2S19 для индивидуализации фармакотерапии. //Новый день в медицине 1 (29) 2020. 65-68 с.
- Очилова Г.С., Мусаева Д.М. Влияние полиморфизма гена MDR-1 на эффективность лечения хронического гастрита. //Новый день в медицине 1 (29) 2020. 309-312 с.
- Arvanitidis, K. Genetic polymorphisms of drug-metabolizing enzymes CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 and CYP3A5 in the Greek population // K. Arvanitidis, G. Ragia, M. Iordanidou et al.//Fundam. Clin. Pharmacol. 2007. Vol. 21 №4. P. 419 - 426.
- Arvanitidis, K. Genetic polymorphisms of drug-metabolizing enzymes CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 and CYP3A5 in the Greek population // K. Arvanitidis, G. Ragia, M. Iordanidou et al.//Fundam. Clin. Pharmacol. 2007. Vol. 21 №4. P. 419 - 426.
- Efr?n Mart?nez-Quintana, Fayna Rodr?guez-Gonz?lez, Jos? Mar?a Medina-Gil, Paloma Garay-S?nchez, Antonio Tugores // Actividad de CYP2C19 y factores de riesgo cardiovascular en pacientes con s?ndromecoronarioagudo. MedicinaCl?nica. Volume 149. Issue 6. 2017. Pages 235-239.
- 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.
- Kim R. Drugs as P-glycoprotein substrates, inhibitors, and inducers. Drug Metab. Rev., 2012, 34, 47-54.
- Kuzuya T., Kobayashi T., Moriyama N., Nagasaka T., Yokoyama I., Uchida K., Nakao A., Nabeshima T. Amlodipine, but not MDR1 polymorphisms, alters the pharmacokinetics of cyclosporine A in Japanese kidney transplant recipients// Transplantation. 2003. Vol.76, №5.P. 865-868.

Поступила 09.09.2020