УДК:575.224.22:616.33-002.2 -085

ПЕРСОНИФИКАЦИЯ ФАРМАКОТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОГО ГАСТРИТА

Очилов Алишер Камилович
Бухарский государственный медицинский институт имени Абу Али ибн Сино. Бухара. 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 МДР-1 и CYP2C19 позволяют изначально определить тактику лечения ингибиторами протонового насоса у больных с кислотозависимыми заболеваниями.*

Ключевые слова: *цитохром Р450, генный полиморфизм , ген МДР-1, ген CYP2C19, хронический гастрит, персонификация фармакотерапии.*

АКТУАЛЬНОСТЬ

Фармакогенетика, являющаяся одним из современных направлений фармакологии, изучает генетические особенности больного и влияние их на лечение заболеваний [6,13]. Тактика лечения с учетом генетических особенностей организма диктует персонификацию 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 заменяющего препарата), также её эффективного и безопасного применения[10].

Выявлено, что ген MDR-1, является одним из основных генов, влияющих на эффективность фармакотерапии. Ген MDR-1 (multidrug-resistance gene) кодирует Р-гликопротеин (P-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 баръеров, 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 [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 вследствии «молчащей» мутации в экзоне 26 в позиции 3435 (C3435T) — замена цитозинового нуклеотида на тимидиновый в промоторной зоне гена MDR-1 [3].

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 CO, 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 A, B, C, D, E. 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.

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

Материалы и методы исследования

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 C3435T и полиморфизма rs4244285 гена CYP2C19 по полиморфному маркеру G681A, 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» (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 “AppliedBiosystems 2720” (США) и Rotor-Gene 6000 (Corbett Австралия). Для амплификации использовали реакционную смесь объёмом 25 мкл, которая содержала 2.5 мкл 1 OxTaq-буфера (67 мМтрис-HCl (pH 8.8), 16.6 мМ (NH4)2S04>, 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 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 методома ПЦР-SSP.

Указанные праймеры сконструированы с помощью пакетов программ Vector NTI 7.1 и Primo [69]. Амплификационная смесь (10 мкл) содержала 70 мМ Трис-HCl (pH 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°C, 5 мин. Затем 10 циклов: 95°C – 1 мин, 64°C – 1 мин, 72°C – 1 мин; и 20 циклов: 95°C – 30 с, 58°C – 50 с, 72°C – 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 стандартизованной 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).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В исследуемых группах были определены генотипы больных по генам CYP2C19 по полиморфному маркеру G681A и MDR-1 по полиморфному маркеру C3435T с хроническим гастритом, проживающих в Бухарской области.

Среди пациентов генотип по полиморфному маркеру G681A 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 протонового насоса. Этот факт напрямую указывает на то, ингибиторы протонной помпы должны применяться с учетом генетических особенностей.

А по по полиморфному маркеру С3435Т гена MDR-1 генотип больных с хроническим гастритом среди пациентов, проживающих в Бухарской области оказалась, что генотип Т\Т имеется у 25% больных, генотип Т\С определился у 59% пациентов, а генотип С\С 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 эпигастральной 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 С3435Т необходим врачу для выбора эффективной и безопасной фармакотерапии при данной патологии.

ВЫВОДЫ

Так как генетический аппарат человека является индивидуальным, неповторимым, то мы считаем, что подобная информация о пациенте способствует индивидуализации лечения, то есть персонификации фармакотерапии, что послужит основой безопасного и высокоэффективного лечения, которое в современной медицине считается актуальной и требованием времени.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. 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.

2. Efrén Martínez-Quintana, Fayna Rodríguez-González, José María Medina-Gil, Paloma Garay-Sánchez, Antonio Tugores // Actividad de CYP2C19 y factores de riesgo cardiovascular en pacientes con síndrome coronario agudo. Medicina Clínica. Volume 149. Issue 6. 2017. Pages 235-239.

3. Очилова Г. С. Характеристика гликопротеина-Р как белка транспортера лекарственных веществ //апрель-июнь. – 2020. – С. 60.

4. Очилов А. К., Очилова Г. С. Клиническая значимость полиморфизмов гена CYP2C19 //Университетская наука: взгляд в будущее. – 2020. – С. 376-379.

5. Очилова Г.С., Очилов А.К.Особенности персонификации фармакотерапии хронического гастрита.

6. Очилова Г. С., Мусаева Д. М. Влияние полимарфизма гена MDR-1 на эффективность лечения хронического гастрита //Новый Днень в Медицине. – 2020. – Т. 1. – №. 29. – С. 2020.309-312.

7. Очилов А. К., Очилова Г. С. Клиническая значимость полиморфизмов гена CYP2C19//Университетская наука: взгляд в будущее. Сборник науч. труд. по матер. Международ. науч. конф. посвящ. 85-летию КГМУ.–2020.

8. Очилов А. К., Очилова Г. С. Значение гена CYP2C19 в фармакотерапии при хронических гастритах //Проблемы биологии и медицины. – 2019. – №. 4 (113).

9. Кличова Ф. К., Очилова Г. С. Значение гена MDR-1 фармакотерапии //Сборник тезисов II Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Безопасность фармакотерапии: NOLI NOCERE. – 2019.

10. Мусаева Д. М., Очилова Г. С. Сурункали гастритни даволашда MDR-1 аллел вариантларининг акамияти //Материалы международной научно-практической онлайн-конференции" Актуальные вопросы медицинской науки в XXI веке" г. Ташкент. – 2019. – Т. 25.

11. Мусаева Д. М., Очилова Г. С. Значение гена MDR-1 в фармакотерапии при хронических гастритах //Проблемы биологии и медицины. – 2019. – №. 4 (113).

12. Мусаева Д. М., Кличова Ф. К., Очилова Г. С. Влияние ГАМК-миметиков на фармакодинамику этаминала натрия при экспериментальном токсическом гепатите //Научный журнал. – 2018. – №. 8 (31).

13. Мусаева Д. М., Очилов А. К., Очилова Г. С. Коррекция фармакометаболизирующей функции печени антиоксидантами //Достижения науки и образования. – 2018. – №. 10 (32).

14. Мусаева Д. М., Самадов Б. Ш., Очилова Г. С. Гепатопротекторное влияние фенобарбитала при экспериментальном токсическом гепатите //Ліки-людиш. Сучасш проблеми фармакотерапи і призначення лжарських засобів: межд. конф.(Харьков, 12-13 марта, 2020). – 2020. – Т. 1. – С. 341-344.