

ВЛИЯНИЯ АЛЛЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ CYP2S19 НА ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ГАСТРИТА

Очилов А.К.

Бухарский государственный медицинский институт

Резюме: В статье рассматриваются результаты генотипического исследования больных с хроническим гастритом в зависимости от ассоциированности с *H. pylori* в Бухарском регионе по полиморфным маркерам T3435C, G2677T и C1236T гена MDR-1. Оказалось, что в настоящем регионе хронический гастрит ассоциированный с *Helicobacter pylori* превалирует у пациентов с генотипом C/C по полиморфному маркеру T3435C (82%).

Ключевые слова: ген MDR-1, полиморфизм, хронический гастрит, полиморфные маркеры T3435C, G2677T и C1236T гена MDR-1.

EFFECTS OF CYP2S19 ALLELE VARIANTS ON THE TREATMENT OF CHRONIC GASTRITIS

Ochilov A.K.

Bukhara State Medical Institute

Resume: The article presents the results of a genotypic study of patients with chronic gastritis depending on the association with *H. pylori* in the Bukhara region by polymorphic markers T3435C, G2677T and C1236T of the MDR-1 gene. It turned out that in the present region, chronic gastritis associated with *Helicobacter pylori* prevails in patients with the C / C genotype according to the T3435C polymorphic marker (82%).

Key words: MDR-1 gene, polymorphism, chronic gastritis, polymorphic markers T3435C, G2677T and C1236T of the MDR-1 gene.

Актуальность

Заболевания желудка относятся к числу наиболее часто встречающейся патологии среди населения. Их социальное значение

определяется не только распространённостью, но и хроническим рецидивирующим течением, обуславливающим значительную временную, а подчас и стойкую утрату трудоспособности. Осложнения, возникающие при тяжёлом течении и несвоевременном лечении этих заболеваний несут угрозу жизни больного.

Хронический гастрит (ХГ) занимает центральное место среди заболеваний желудка. ХГ по-прежнему остается социальной проблемой и проблемой общественного здравоохранения как в развитых, так и в развивающихся странах. В странах с развитой статистикой он фиксируется у 80-90% больных. Это основная причина, влияющая на социально-экономический статус людей, их поведение в отношении здоровья и такие стандарты жизни, как образ жизни, условия жизни, поведение и привычки. В глобальном масштабе гастритом страдает 50,8% населения развивающихся стран. При более низком уровне 34,7% населения в развитых странах имели проблемы со здоровьем из-за гастрита. По сравнению с развивающимися странами, уровень распространенности гастрита заметно снизился в развитых странах. Однако он остался серьезной проблемой для здоровья.

Анализ статистических данных по Республике Узбекистан показал, что 56,6 % больных ЖКТ приходится на взрослое население, 34,5 % на детей в возрасте до 14 лет, 8,9 % всех больных желудочно-кишечного тракта.

В целом гастриты встречались чаще у мужчин, чем у женщин. Однако исследование, проведенное в Бразилии, показало, что 67,8% женщин и 32,2% мужчин страдают хроническим гастритом. Систематический обзор африканских стран показал, что гастритом страдают 38% женщин и 18% мужчин. В Кении среди пациентов, посещавших медицинские учреждения, 73,3% детей и 54,8% взрослых имели клинический диагноз гастрита. Аналогичным образом, в Уганде 44,3% молодых людей в возрасте до 12 лет страдали гастритом. Наконец,

как указал Демисью в Эфиопии, гастрит чаще встречается у подростков, чем у пожилых людей.

Установлено, что в Узбекистане за последние 10 лет (2007-2017г.) количество больных заболеваниями ЖКТ выросло на 22,4 %. Ежегодный средний прирост составил 2,65 %. Высокий ежегодный средний прирост наблюдается в городе Ташкент, а отрицательный прирост увеличения болезней ЖКТ наблюдается в Бухарской области. В городе Ташкент увеличение числа больных происходит за счёт роста заболеваемости среди детей и подростков, в Самаркандской, Ташкентской и Сырдарьинских областях увеличение численности больных наблюдается за счёт взрослого населения.

Значение хронического гастрита как серьезного заболевания в значительной степени недооценивается в клинической практике, хотя роль гастрита в патогенезе обычных пептических язв и рака желудка очевидно. Можно подсчитать, что ежегодно во всем мире могут происходить миллионы преждевременных смертей из-за рака и язвы, являющихся последствиями хронического гастрита.

Распространенность хронического гастрита заметно снизилась в развитых странах за последние десятилетия. Однако хронический гастрит по-прежнему остается одной из наиболее распространенных серьезных пандемических инфекций с такими серьезными смертельными последствиями, как язвенная болезнь желудка или рак желудка

На развитие ХГ оказывают влияние этиологические факторы, которые носят экзогенный и эндогенный характер. Особое значение придаётся этиологической роли *Helicobacter pylori*, так как, более 90% ХГ ассоциировано с этой инфекцией. В Эфиопии систематический обзор, проведенный Marcis et al. указали, что 53% людей в возрасте от 54 до 61 года страдали гастритом из-за инфекции *H. Pylori*. Кроме того, в Нигерии 40,7% детей в возрасте от 6 до 10 лет страдали гастритом, вызванным *H. Pylori*. Выявлено, что Узбекистан относится к регионам с высокой степенью

инфицированности населения *H. Pylori* инфекцией – 80 %. В связи с этим всем больным с ХГ в фармакотерапию нужно включать антимикробные препараты. Цель терапии и успешность эрадикационного лечения зависит от эффективности воздействия антибактериального лекарственного средства на *H. Pylori*, так и от степени подавления кислотной секреции. На лекарственный ответ оказывают влияние как клинические факторы, такие как возраст, пол, функция почек и печени, сопутствующая терапия, так и генетические, степень влияния которых широко варьируется для различных препаратов. Генетические полиморфизмы могут влиять на различные фармакологические реакции: абсорбцию, распределение, метаболизм.

Белок-транспортёр - Р-гликопротеин (Pgp) играет важную роль в фармакокинетике лекарственных средств. Pgp (от англ. permeability — проницаемость) локализуясь в кишечном эпителии, осуществляет эффлюкс лекарственных веществ – его субстратов – в просвет кишечника, тем самым снижая их всасывание. В гепатоцитах и почечном эпителии он опосредует выведение ксенобиотиков в просвет желчных капилляров и почечных канальцев, соответственно, а в гистогематических барьерах обеспечивает их непроницаемость для липофильных веществ. Функциональная активность Pgp может изменяться (повышаться или снижаться) под воздействием ряда лекарственных веществ. Pgp — белок, закодированный геном MDR1 - представителя семейства генов MDR (multi drug resistance gene - ген лекарственной устойчивости) - отвечает за устойчивость к различным препаратам. Продукт MDR1-гена — Р-гликопротеин является трансмембранным насосом и влияет на действие многих лекарств. Полиморфизм в гене MDR1 может влиять на фармакокинетику многих лекарственных средств. При совместном применении субстратов Pgp с его ингибиторами концентрация субстратов в плазме крови повышается, что может привести к развитию нежелательных лекарственных реакций. И, наоборот, совместный прием субстратов и индукторов белка-транспортера

приводит к снижению концентрации субстратов в крови, и, как следствие, к уменьшению их терапевтической эффективности.

Одним из факторов, определяющих эффективность антисекреторной терапии ХГ, является интенсивность метаболизма ингибиторов протонной помпы. При этом генетический фактор представляет собой существенный источник межиндивидуальных различий в метаболизме лекарственных средств.

Метаболизм лекарственных препаратов группы ингибиторов протонной помпы осуществляется преимущественно ферментом CYP2C19 суперсемейства цитохрома P450.

Выполнение генетических исследований в настоящее время перестало быть объектом сугубо фундаментальной науки. Понимание генетических факторов, лежащих в основе индивидуального ответа на лекарственное средство, дает клиницистам надежду на возможность персонализации терапии и минимизации риска побочных действий. Принципы фармакотерапия ХГ могут быть стандартными, но лечение заболевания не может быть одинаковой для всех пациентов, оно должно быть персонализированной. Такой подход базируется на генетические особенности пациента.

В современной медицине нашего государства осуществляется ряд мероприятий по повышению качества оказания медицинской помощи населению. В стратегии действий по пяти приоритетным направлениям развития Республики Узбекистан в 2017-2021 годах определены такие задачи, как «...внедрение комплекса мероприятий по улучшению и укреплению здоровья населения, снижение показателей заболеваемости, предупреждение генетических заболеваний и увеличения продолжительности жизни...». Решение этих задач способствует проведению квалифицированного лечения различных заболеваний, усовершенствованию методов и подходов к фармакотерапии с применением современной технологии, выявляя генетическую принадлежность каждого

больного для персонализированной медицины.

Целью исследования является дифференцированный подход к лечению ХГ с учетом аллельных вариантов генов MDR1 и CYP2C19 пациентов проживающих в Бухарском регионе.

Задачи исследования:

- анализ клинического течения и особенностей типов ХГ у пациентов с ХГ проживающих в Бухарском регионе;
- оценить результаты лечения ХГ у пациентов проживающих в Бухарском регионе;
- анализ распределения аллельных и генотипических вариантов гена MDR1 (T3435C, G2677T, C1236T) у пациентов с ХГ проживающих в Бухарском регионе;
- анализ распределения аллельных и генотипических вариантов гена CYP2C19 (G681A) у пациентов с ХГ проживающих в Бухарском регионе;
- определить роль взаимосвязи носительства аллельно-генотипных вариантов генов MDR1 и CYP2C19 у больных с ХГ с типами гастрита у пациентов проживающих в Бухарском регионе;
- оценить результаты лечения ХГ с учетом носительство аллельно-генотипных вариантов генов MDR1 и CYP2C19 у больных с ХГ проживающих в Бухарском регионе.

Материалы и методы исследования

Проведено комплексное обследование 104 больных с хроническим гастритом, находившиеся на стационарном лечении и наблюдении в Бухарской областной МПКБ. Контрольную группу составили 96 здоровых людей, не имевших в анамнезе патологии со стороны пищеварительного тракта, проживающие в Бухарской области, соответствовавшие по полу и возрасту обследованной группе пациентов с хроническим гастритом.

Возраст больных с хроническим гастритом колебался от 18 до 67 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 rs4244285 гена CYP2C19 по полиморфному маркеру G681A. Нуклеотидные последовательности детекции 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 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 локуспецифичных олигонуклеотидных праймеров. Температурно-временные параметры изменяли в зависимости от пар олигопраймеров.

Для детекции 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 CYP2C19 выявляли с помощью метода ПЦР-SSP.

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

Результаты и их обсуждение

Индивидуальная изменчивость лекарственного ответа является одной из основных проблем в современной клинической практике [11]. Генетическая изменчивость генов, кодирующих данные ферменты, генотип пациента играет важную роль в проявлении индивидуальной чувствительности к лекарственным препаратам [12, 23].

С использованием модифицированного метода детекции нами были исследованы полиморфизмы гена MDR-1: полиморфизм T3435C гена MDR-1, который имеет варианты генотипов C/C, T/T, T/C; полиморфизм G2677T гена MDR-1, имеющий варианты генотипов G/G, T/T, G/T и полиморфизм C1236T гена MDR-1, который имеет варианты генотипов C/C, T/T, C/T.

Следует указать, что, в структуре изученной нами группе больных с хроническим гастритом, проживающих в Бухарском регионе в зависимости от ассоциации с *Helicobacter pylori* (рисунок 1), у пациентов по полиморфному маркеру T3435C гена MDR-1 пациентов с генотипом C/C оказалось более 84%, а 79% пациентов с хроническим гастритом, ассоциированным с *Helicobacter pylori* имели генотип T/T и более 54% больных оказались носителями гетерозиготного генотипа T/C, которые имели выявленный хронический гастрит ассоциированный с *Helicobacter pylori*. Однако, хронический гастрит, неассоциированный с *Helicobacter pylori* у пациентов с подобным генотипом оказался в 46% случаев.

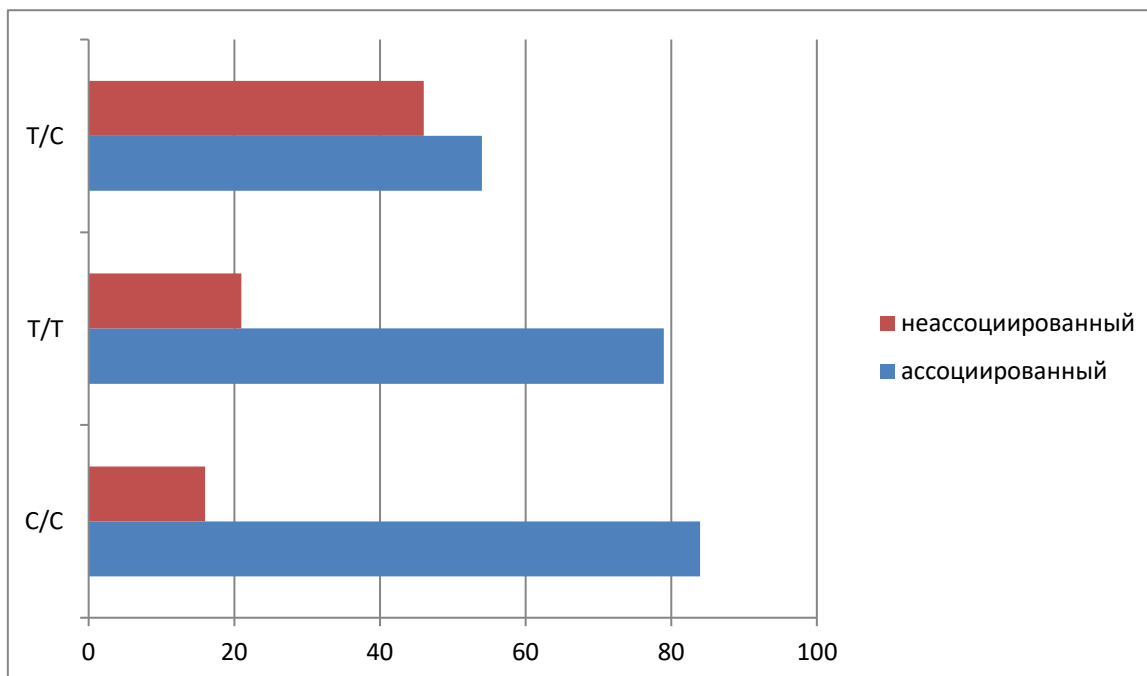


Рисунок 1. Частота распределения генотипов полиморфизма T3435C гена MDR-1 при хроническом гастрите в зависимости от ассоциации с *Helicobacter pylori*

Также, при изучении генотипических особенностей пациентов полиморфизма G2677T гена MDR-1 (рисунок 2), ассоциированный с *Helicobacter pylori* хронический гастрит имел место у 82% пациентов с генотипом T/T, а у более 67% больных выявлен генотип G/G и пациенты с генотипом G/T составили 56%, у которых хронический гастрит ассоциировался с *Helicobacter pylori*. Нужно отметить, у пациентов с подобным генотипом хронический гастрит, неассоциированный с *Helicobacter pylori* выявлен у 44% случаев.

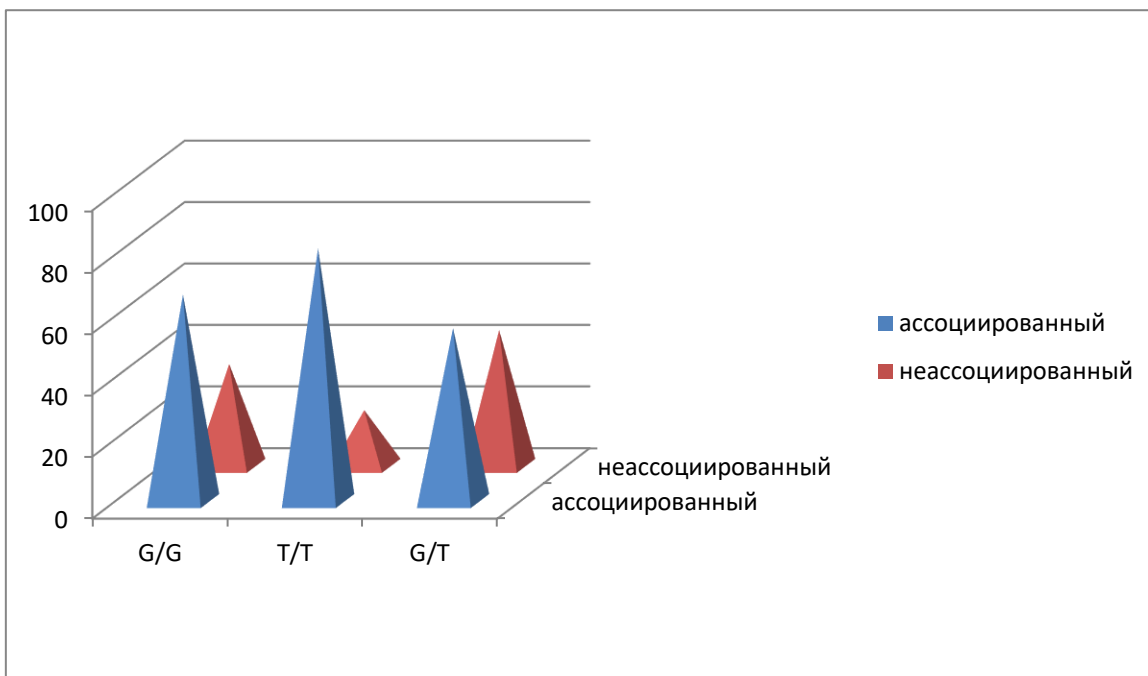


Рисунок 2. Частота распределения генотипов полиморфизма G2677T гена MDR-1 при хроническом гастрите в зависимости от ассоциации с Helicobacter pylori

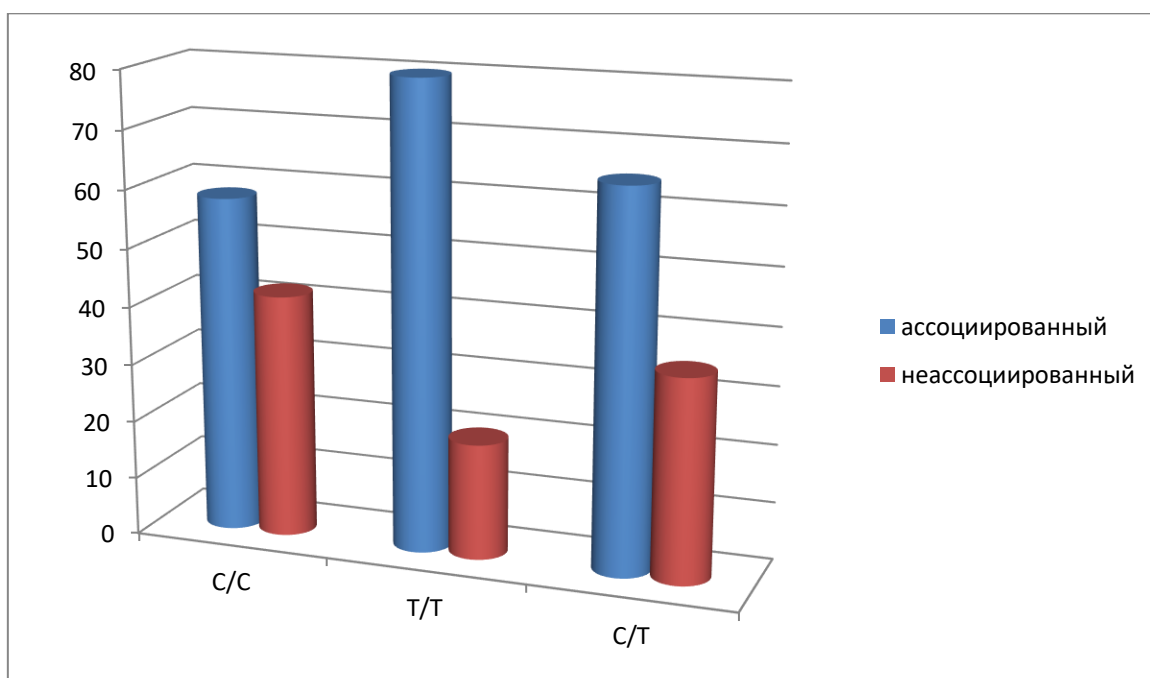


Рисунок 3. Частота распределения генотипов полиморфизма C1236T гена MDR-1 при хроническом гастрите в зависимости от ассоциации с Helicobacter pylori

Хронический гастрит у пациентов с генотипом Т/Т полиморфизма С1236Т гена MDR-1 (рисунок 3), ассоциировался с *Helicobacter pylori* в 80% случаев, а у больных с генотипом С/Т подобного полиморфизма гена MDR-1 в 65% случаев заболевание ассоциировалось бактериальной этиологией, тогда как у пациентов с генотипом С/С этот показатель составил более 58%. У пациентов с подобным генотипом в 42% случаев хронический гастрит не ассоциировался с *Helicobacter pylori*.

Выводы

У больных с гастродуоденальной патологией неблагоприятный генотип G/A полиморфизма rs1800629 гена TNF- α встречается значимо чаще по сравнению условно-здоровыми лицами ($p < 0,05$). Наличие достоверных различий свидетельствуют о важной роли данного генотипического варианта гена TNF- α в патогенезе воспалительных и язвенных поражений слизистой оболочки желудка и ДПК и может способствовать повышению риска развития ХГ и ЯБДК.

Полиморфный вариант rs1143634 гена провоспалительного цитокина IL-1 β самостоятельно не ассоциирован с формированием хронического гастрита и ЯБДПК. При этом, сочетание гетерозиготных генотипов С/Т(IL-1 β) + G/A(TNF- α) в OR=2,5 раза значимо повышает риск развития воспалительного и язвенного процесса поражений слизистой оболочки желудка и ДПК ($\chi^2 < 3.8$; $P > 0.05$). Эти данные доказывают гипотезу о том, что провоспалительное действие цитокина IL-1 β зависит не только от повышения или понижения экспрессии данного гена, но и от комбинации (синтропные действие) с другими генами цитокинов.

Неблагоприятный генотипический вариант G/A полиморфизма rs1800471 гена TGF β 1 достоверно ассоциирован с развитием ХГ и ЯБДК что свидетельствует на наличии роли данного генотипического варианта в формировании воспаления и нарушения процесса пролиферации в слизистой оболочке желудка и ДПК. Генотипический вариант A/A больше

ассоциирован с воспалительным поражением слизистой оболочки желудка и развитием ХГ ($\chi^2=3.3$; $P=0.07$; $OR=6.5$; 95% CI 0.66-63.39; CI 0.65-58.71).

Обнаружено, что активность цитокина TNF- α была достоверно выше у пациентов с ЯБДК, по сравнению с пациентами с ХГ ($p<0,05$). При этом, более выраженное повышение уровня TNF- α отмечается у лиц, имеющих неблагоприятные генотипы G/A и A/A, по сравнению с пациентами-носителями «дикого» G/G генотипа. Наиболее высокий уровень концентрации ИЛ-1 β в сыворотке крови отмечен у носителей неблагоприятных генотипов C/T и T/T с ЯБДК и ХГ, по сравнению с носителями C/C генотипом этих же подгрупп больных.

Список литературы:

1. Очилов А.К., Очилова Г.С. Значение гена CYP2C19 в фармакотерапии при хронических гастритах// Проблемы биологии и медицины. - 2019. - №4 (113). - С. 250-252.
2. Мусаева Д.М., Очилов А.К. Лечение хронического гастрита в зависимости от аллельных вариантов гена CYP2C19// Материалы международной научно-практической онлайн конференции//Актуальные вопросы медицинской науки в XXI веке. Ташкент. Узбекистан. - 2019. - С. 258-259.
3. Мусаева Д.М., Очилова Г.С. Сурункали гастритни даволашда MDR-1 аллел вариантларининг аҳамияти// Халқаро илмий-амалий онлайн анжуман материаллари//XXI асрда тиббиёт фанининг долзарб муаммолари. Тошкент. Ўзбекистон. – 2019. – Б. 258-259.
4. Мусаева Д.М., Очилов А.К. Особенности гена CYP2C19 для индивидуализации фармакотерапии// Новый день в медицине. – 2020. - №1 (29). - С. 65-68.
5. Мусаева Д.М., Очилова Г.С., Очилов А.К. Саъдуллаева Г.У., Бабаназаров У.Т. Фармакогенетика терапии хронического гастрита// Новый день в медицине. – 2020. - №31. - Т. 3. - С. 394-397.
6. Очилова Г. С., Мусаева Д. М. Влияние полиморфизма гена MDR-1 на

- эффективность лечения хронического гастрита// Новый день в медицине. - 2020. - Т. 1. - №29. - С. 309-312.
7. Очилова Г.С. Характеристика гликопротеина-Р как белка транспортера лекарственных веществ// Новый день в медицине. – 2020. - Т. 2. - №30/2. - С. 60-53.
8. Очилов А.К. Важность цитохромов Р-450 для гастроэнтерологии// Новый день в медицине. – 2020. - №2 (30/2). - С. 57-59.
9. Мусаева Д.М., Очилов А.К. Особенности гена CYP2C19 для индивидуализации фармакотерапии// Материалы IV Всероссийской дистанционной научно-практической конференции с международным участием, посвященной 85-летию Курского государственного медицинского университета и 75-летию Победы в Великой Отечественной войне 1941-1945 г//Фармакология разных стран. Курск. Россия. – 2020. - С. 114-116.
10. Мусаева Д.М., Очилова Г.С. Персонализированная фармакотерапия хронического гастрита// Материалы IV Всероссийской дистанционной научно-практической конференции с международным участием, посвященной 85-летию Курского государственного медицинского университета и 75-летию Победы в Великой Отечественной войне 1941-1945 г//Фармакология разных стран. Курск. Россия. – 2020. - С. 116-119.
11. Очилова Г.С. Отличительная черта гена MDR-1 для персонализации в фармакотерапии// Сборник тезисов III Всероссийской научно-практической конференции с международным участием//Безопасность фармакотерапии: NOLI NOCERE!. Казань. Россия. - 2020. - С. 161-162.
12. Очилова Г.С. Воздействие гена MDR-1 на результативность лечение хронического гастрита// Сборник тезисов I Республиканской научно-практической конференции фармакологов с международным участием// Актуальные вопросы фармакологии: от разработки лекарств до их рационального применения. Бухара. Узбекистан. – 2020. - С. 64-65.

13. Очиллов А.К. Воздействие гена CYP2C19 на результативность лечения хронического гастрита// Сборник тезисов III Всероссийской научно-практической конференции с международным участием//Безопасность фармакотерапии: NOLI NOCERE! Казань. Россия. – 2020. - С. 160-161.
14. Очиллов А.К. Отличительная черта гена CYP2C19 фармакотерапии // Сборник тезисов I Республиканской научно-практической конференции фармакологов с международным участием//Актуальные вопросы фармакологии: от разработки лекарств до их рационального применения. Бухара. Узбекистан. – 2020. – С. 63-64.
15. Очиллов А.К., Очиллова Г.С. Клиническая значимость полиморфизмов гена CYP2C19// Сборник научных трудов по материалам Международной научной конференции посвященной 85-летию Курского государственного медицинского университета//Университетская наука: взгляд в будущее. Курск. Россия. 2020. – Т. I. - С. 376-379.