

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ (MDR) У ПАЦИЕНТОВ С РАКОМ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Е.М. ШПАДАРУК

*Международный государственный экологический университет имени А.Д. Сахарова
г. Минск Республика Беларусь*

Рак поджелудочной железы (РПЖ) является чрезвычайно агрессивным онкологическим заболеванием человека, часто сопровождающимся тяжелыми осложнениями и достаточно редко выявляющимся на ранних стадиях.

Главным механизмом множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) является снижение концентрации препарата внутри опухолевой клетки из-за его чрезмерного выведения в межклеточное пространство, что осуществляет гликопротеин Pgp, кодируемый геном MDR1 [3]. Гиперэкспрессия данного гена встречается в норме в надпочечниках, почках, толстой кишке и опухолях данных органов.

S.P. Cole и соавт. в 1992 г. открыли белок множественной лекарственной устойчивости MDR1 – (Multidrug resistance 1), который функционирует как аденозин–5–фосфатаза АТФ–зависимая помпа для цитотоксических препаратов [5]. Белок транспортирует отрицательно заряженные ионы, конъюгированные с молекулой глутатиона. Р–гликопротеин (Pgp) кодируется геном *MDR1*, локализованным на хромосоме 7 (7q21.1), OMIM *171050, и экспрессируется главным образом в тех органах и тканях, которые подвергаются воздействию токсических или потенциально токсических для организма веществ и их продуктов: надпочечниках, кишечнике, печени, почках, мозге, языке, эндотелиальных клетках, клетках крови и т.д. Pgp участвует в активном транспорте широкого круга лекарств, таких как сердечные гликозиды, противораковые средства, иммуносупрессивные препараты и т.д. Уровень экспрессии Pgp обуславливает концентрацию лекарства в клетке: чем выше экспрессия активного транспортера, тем быстрее выводятся субстрат или его метаболиты из клетки и тем скорее снижается их концентрация. Исследования выявили функциональную активность мононуклеарных клеток, экспрессирующих Pgp и инкубированных с даунорубицином – субстратом Pgp. В клетках пациентов рефрактерных к терапии, концентрация лекарственных препаратов может быть снижена за счет повышенной активности Pgp, приводящей к усиленному (или ускоренному) выведению лекарственного препарата. Сниженная концентрация лекарства может обуславливать отсутствие ответа на терапию, что, в свою очередь, в числе других факторов может приводить к более тяжелому течению заболевания [6, 2].

Роль гена MDR1 выражается в рефрактерности опухолей данных локализаций к химиотерапии [1]. Благодаря гидрофильности таксанов, устойчивость к данной группе препаратов связана с геном МЛУ [4].

Цель исследования – определить прогностическую значимость экспрессии гена множественной лекарственной устойчивости (MDR) у пациентов с раком поджелудочной железы для подбора дальнейшей тактики лечения заболевания.

Исследование по выявлению уровня экспрессии гена множественной лекарственной устойчивости (MDR) выполнено 63 пациентам, страдающим раком поджелудочной железы, находившимся на лечении в РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова в 2005–2012 гг. методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. В качестве эндогенного контроля используется ген 18S RNA.

Выделение РНК проводилось из опухолевой ткани пациентов раком поджелудочной железы, заключенной в парафиновые блоки с использованием набора «miRNease Mini Kit» производства фирмы «Qiagen» (Германия) согласно протоколу с последующим спектрофотометрическим измерением концентрации и чистоты выделенной РНК с последующей обратной транскрипцией. Амплификация кДНК проводится с использованием реагентов TaqMan Universal PCR Master Mix. ПЦР–анализ проводится на амплификаторе «7300 Real–time PCR system» (Applied Biosystems, США).

Уровень экспрессии данного гена в нормальной ткани поджелудочной железы принят за базовый уровень в качестве 1. Уровни экспрессии гена в опухолевой ткани оценены по отношению к базовому уровню и выражались в количественных значениях. Условно для статистической обработки полученных результатов приняты значения экспрессии гена до 1 – как отрицательная экспрессия и свыше 1 – положительная. В результате проведенных молекулярно–биологических исследований 63 пациентам раком поджелудочной железы установлено, что у 8 (12,7%) уровень экспрессии гена MDR отмечен выше 1, у 2 (3%) ниже базового уровня. Для оценки диагностической значимости результатов ПЦР–метода определения экспрессии гена множественной лекарственной устойчивости рассчитывали диагностическую чувствительность (ДЧ), диагностическую специфичность (ДС), диагностическую эффективность (ДЭ), предсказательную ценность положительного (ПЦ+) и отрицательного (ПЦ–) результатов.

Диагностическая чувствительность использования определения экспрессии гена множественной лекарственной устойчивости в опухолевой ткани пациентов раком поджелудочной железы составляет 88,9%, диагностическая специфичность – 97,1%, диагностическая эффективность – 95,3%.

Таким образом, в ходе исследования выявлено, что у 12,7% пациентов, страдающих раком поджелудочной железы, детектирован повышенный уровень экспрессии гена MDR с диагностической эффективностью – 95,3%. Что позволяет стратифицировать данную группу, как устойчивую к химиотерапии. 3% пациентов можно рекомендовать химиотерапию, так как экспрессия гена MDR ниже базового уровня.

ЛИТЕРАТУРА

1. Choi C.H. ABC transporters as multidrug resistance // *Cancer Cell Int.* – 2005. – № 5. – P. 30.
2. Leonard G.D, Fojo T., Bates S.E. The role of ABC transporters in clinical practice. // *J. of Oncology* – 2003. – № 8. – P. 411–424.
3. Loo T.W., Clarke D.M. Defining the drug–binding site in the human multidrug resistance P–glycoprotein using a methanethiosulfonate analog of verapamil, MTS–verapamil. // *J. Biol. Chem.* – 2001. – № 276. – P. 14972–14979
4. Multidrug resistance in cancer: role of ATP–dependent transporters mechanisms and the development of chemosensitizers their reversal / M. M. Gottesman [et al.] // *Nat. Rev. Cancer.* 2002. – № 2. – P. 48–58.
5. Overexpression of a transporter gene in a multidrug–resistant human lung cancer cell line / S.P. Cole [et al.] // *Science.* 2003 – № 258. – P. 1650.
6. Pharmacological characterization of multidrug resistant / S.P. Cole [et al.] // *Cancer Res.* 1994 – № 54. – P. 5902.