

можно говорить о неблагоприятном прогнозе заболевания в группе пациентов с низкой приверженностью.

Также были оценены факторы, влияющие на приверженность к лечению (управляемые и неуправляемые).

Таблица

Факторы, влияющие на приверженность к лечению

Фактор	Приверженность, %		
	высокая (>95)	средняя (85-95)	низкая (<85)
Всего больных	29 (33,33%)	28 (32,18%)	30 (34,48%)
Возраст:			
- до 30 лет	52,63%	21,05%	26,31%
- более 30 лет	46,94%	20,41%	32,65%
Пол:			
- мужской	44,19%	13,95%	41,86%
- женский	54,54%	27,27%	18,19%
Социальное положение:			
- работающие	53,06%*	28,58%**	18,36%***
- неработающие	44,74%*	10,53%**	44,74%***
Семейное положение:			
- женат/замужем	47,50%	30,00%	22,50%
- холост/не замужем	51,06%	12,76%	36,18%
Употребление алкоголя:			
- нет	50,00%	33,33%	16,67%
- иногда	53,19%	17,02%	29,79%
- часто	31,58%	10,53%	57,89%
Употребление наркотических веществ:			
- да	25,00%*	0,00%**	75,00%***
- нет	53,33%*	24,00%**	22,66%***
Стаж заболевания:			
- до 10 лет	52,94%	11,76%	35,29%
- 10 и более лет	36,36%	30,30%	33,33%
Стадия заболевания:			
- 3	50,00%	25,00%	25,00%
- 4А	42,22%	22,22%	35,55%
- 4Б	71,43%	9,52%	19,05%
- 4В	40,00%	40,00%	20,00%
Вирусный гепатит:			
- да	47,62%	16,66%	35,71%
- нет	51,11%	24,44%	24,44%
Кратность приема АРВ-препаратов:			
- 1-2 раза в сутки	56,00%*	20,00%**	24,00%***
- более 2 раз в сутки	8,34%*	25,00%**	66,66%***

Примечание: *, **, *** – p<0,05

Достоверно более высокая приверженность была отмечена у работающих пациентов, у лиц, не употребляющих

наркотические вещества, и пациентов, принимающих АРВ-препараты не более 2 раз в сутки.

Выводы

1. Только 33,3% пациентов имеют достаточный уровень приверженности к АРВТ.

2. К факторам, снижающим приверженность к АРВТ, относятся отсутствие работы, употребление наркотических веществ и кратность приема АРВ-препаратов более 2-х раз в сутки.

Adherence to antiretroviral therapy and the factors that determine it

A.E. Miroshnikov, A.L. Khokhlov, S.A. Baykova

An important result of the investigation is the identification of a high commitment in 33.3% of patients only, whereas low – in 34.5% of patients, given that the high ability of HIV to mutation and development of resistance, as well as a very limited arsenal of antiretroviral drugs, indicates a poor disease prognosis in patients with low adherence.

Key words: antiretrovirus therapy.

Полиморфизм гена MDR1 и риск развития острого инфаркта миокарда у больных ИБС

О.В. Муслимова, Д.А. Сычев, Е.В. Ших, Р. Е. Козаков

Центр клинической фармакологии ФГБУ НЦ ЭСМП Росздравнадзора РФ, Москва

Контактная информация: Муслимова Ольга Валерьевна elmed@yandex.ru

Статья посвящена возможности раннего прогнозирования неблагоприятных исходов ИБС с помощью инновационных методов диагностики, выявляющих генетические различия между людьми. В фокусе – исследования генотипирование больных ИБС по полиморфному маркеру С3435Т гена MDR1, кодирующего гликопротеин Р, методом ПЦР-ПДРФ. Впервые выявлена ассоциация между носительством генотипов данного маркера и риском развития инфаркта миокарда. Генотипирование рассматривается с точки зрения современных принципов персонализированной медицины с целью индивидуализации подходов к профилактике и лечению сердечно-сосудистых заболеваний.

Ключевые слова: генетический полиморфизм, MDR1, полиморфный маркер С3435Т, гликопротеин Р, ИБС, инфаркт миокарда.

ИБС является основной причиной летальности в промышленно развитых странах мира. Инфаркт миокарда – полигенное заболевание, с многими факторами риска. Наряду с модифицируемыми факторами риска существуют такие, воздействие на

которые не выполнимо: возраст, пол, генетическая предрасположенность. Поэтому одной из актуальных проблем последних лет является выяснение молекулярно-генетических основ развития сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ).

Для прогнозирования заболеваемости ИБС в первую очередь исследуются гены, продукты которых вовлечены в липидный гомеостаз, в систему свертывания крови или влияют на физиологию стенки сосудов.

Гликопротеин *P* – продукт гена *MDR1* – представляет собой насос, локализованный на цитоплазматических мембранах различных клеток. Он осуществляет выброс во внеклеточное пространство различных ксенобиотиков, препятствует их всасыванию и способствует скорейшему выведению [1]. Гликопротеин *P* обнаруживают в опухолевых клетках и в нормальных тканях организма человека, в том числе и в кардиомиоцитах. Субстратами гликопротеина *P* являются широко применяемые лекарственные средства, используемые и для лечения ИБС. В ряде работ указывается на то, что субстратом гликопротеина *P* также является и альдостерон [5].

Активность гликопротеина *P* зависит от множества факторов, основным из которых является полиморфизм гена *MDR1*, кодирующего гликопротеин *P*. Наибольшее клиническое значение имеет полиморфный маркер *C3435T*, представляющий собой замену нуклеотидной последовательности в 3435-положении цитозинового нуклеотида на тимидиновый. В мире проведен ряд исследований, доказывающих, что концентрация гликопротеина *P* повышается в ишемизированных тканях и в ответ на оксидативный стресс в том числе и в миокарде [2, 3, 4]. Носительство разных генотипов полиморфного маркера *C3435T* гена *MDR1* влечет за собой разнообразие активности и количества гликопротеина *P*, а, следовательно, может быть ассоциировано с разнообразными формами ИБС и тяжестью их течения.

Целью работы явилось изучение ассоциации между носительством генотипов по полиморфному маркеру гена *MDR1*, кодирующего гликопротеин *P*, с особенностями течения ИБС (риском развития острого инфаркта миокарда).

Материалы и методы

Критерием отбора было наличие любой формы ишемической болезни сердца у пациента. В группу обследованных больных вошло 100 чел. (64 женщины, 36 мужчин). Средний возраст больных составил $73,16 \pm 7,21$ лет.

Все больные были разделены на две группы: имевшие ОИМ и не имевшие ОИМ в анамнезе. ОИМ перенесли 36% больных (36% чел.).

У всех больных собирался тщательный анамнез, включавший в себя выяснение возраста возникновения первых симптомов ИБС, характера течения заболевания, осложнений, обострений, возможный семейный анамнез ИБС. Проводился ряд обязательных исследований для диагностики формы ИБС и ее осложнений.

Эхокардиографическое обследование проводилось на ультразвуковых аппаратах *GE«Logic 400»* (США) по стандартному протоколу.

ЭКГ регистрировалась в 12 стандартных отведениях.

Перенесенный инфаркт миокарда диагностировался по анализу серии ЭКГ и/или по данным ЭхоКГ, а также по данным медицинской документации.

Исследование полиморфизма *C3435T* гена *MDR1*. У каждого больного брали 100 мкл венозной крови. ДНК выделяли стандартным фенольным методом с протеинкиназой *K*. Генотипирование проводили методом ПЦР-ПДРФ (полимеразная цепная реакция и полиморфизм длин рестрикционных фрагментов).

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью компьютерного пакета статистических программ «*INSTAT*». Для определения статистической значимости частот аллелей и генотипов в группах больных применялся критерий χ^2 или точный тест Фишера.

Результаты и их обсуждение

По результатам генотипирования по полиморфному маркеру *C3435T* гена *MDR1* 11 пациентов оказались носителями *CC* генотипа (11%); 65 пациентов – *CT* генотипа (65%); 24 – *TT* генотипа (24%). Частота аллеля *C* составила 43,5%, аллеля *T* – 56,5%.

Изученная выборка адекватно отражает частоты генотипов в реальных популяциях, рассчитанных по соотношению Харди-Вайнберга: уровень значимости p был больше 0,05 ($p=0,06$, $\chi^2=5,529$).

В группе пациентов, перенесших ОИМ, частота генотипа *CC* составила 19,44%, частота генотипа *CT* – 38,8%, а частота *TT*-генотипа – 41,66%. Распределение частот генотипов полиморфного маркера *C3435T* гена *MDR1* в группах больных, перенесших ОИМ, и в группе больных, не перенесших инфаркт миокарда, статистически достоверно различается ($p=0,0002$, $\chi^2=16,862$).

Для того, чтобы оценить вклад каждого из генотипов в риск развития ОИМ, было решено объединить пациентов, имеющих генотипы *CT* и *TT* в одну группу и сравнить частоту генотипа *CC* против *CT+TT*. Генотип *CC* чаще встречался в группе пациентов, перенесших ОИМ, по сравнению с группой больных, не перенесших ОИМ ($p=0,053$ – точный тест Фишера), различия статистически не значимы.

Мы объединили пациентов, имеющих генотипы *CT* и *CC*, в одну группу

и сравнили частоту генотипа *TT* против *CT+CC*. Генотип *TT* достоверно чаще встречался среди пациентов, перенесших ОИМ, по сравнению с группой без ОИМ в анамнезе ($p=0,0043$ – точный тест Фишера). Это позволяет говорить об ассоциации между полиморфным маркером *C3435T* гена *MDR1* и развитием ОИМ, т.е. генотип *TT* является фактором риска, предрасполагающим к развитию ОИМ у больных ИБС: $p=0,0043$, $\chi^2=8,171$, $RR=2,262$, $95\% ID: 1,402$ to $3,64$.

Для того, чтобы выяснить, ассоциирован ли аллель *T* или *C* с риском развития ОИМ, мы сопоставили частоты аллелей *C* и *T* в группах больных, перенесших ОИМ и не перенесших ОИМ. Выяснилось, что аллель *T* чаще встречался в группе пациентов, перенесших ОИМ (61%>54%), а аллель *C* чаще встречался в группе пациентов, не перенесших ОИМ (46%>39%). Однако частоты аллелей *C* и *T* достоверно не различались в вышеуказанных группах ($p=0,402$, $\chi^2=0,7022$). Таким образом, ни аллель *T*, ни аллель *C* полиморфного маркера *C3435T* гена *MDR1* не ассоциированы с развитием ОИМ.

Для того, чтобы оценить вклад генотипа *CT* в риск развития ОИМ было решено объединить пациентов, имеющих генотипы *CC* и *TT*, в одну группу и сравнить частоту генотипа *CT* против *CC+TT*. Генотип *CT* достоверно чаще встречался среди пациентов, не перенесших ОИМ, по сравнению с группой без ОИМ в анамнезе (79,7%>32,6%, $p<0,0001$ – точный тест Фишера). Это позволяет говорить об ассоциации между полиморфным маркером *C3435T* гена *MDR1* и развитием ОИМ, т.е. риск возникновения ОИМ у больных ИБС достоверно меньше среди носителей генотипа *CT* по сравнению с лицами-носителями

генотипов *CC* и *TT*: $p < 0,0001$, $\chi^2 = 22,022$, $RR = 0,3119$, 95% ID: 0,1880 to 0,5176.

В результате проведенного исследования выявлена ассоциация между полиморфным маркером *C3435T* гена *MDR1* и развитием ОИМ: 1. Генотип *TT* является фактором риска, предрасполагающим к развитию ОИМ у больных ИБС: $p = 0,0043$, $\chi^2 = 8,171$, $RR = 2,262$, 95% ID: 1,402 to 3,648). 2. Риск возникновения ОИМ у больных ИБС достоверно меньше среди носителей генотипа *CT* по сравнению с лицами-носителями генотипов *CC* и *TT*: $p < 0,0001$, $\chi^2 = 22,022$, $RR = 0,3119$, 95% ID: 0,1880 to 0,5176. Т.е. носительство генотипа *CT* является протективным в отношении риска развития ОИМ у больных ИБС. 3. Аллель *T* и/или *C* полиморфного маркера *C3435T* гена *MDR1* не ассоциированы с развитием ОИМ у больных ИБС ($p = 0,402$, $\chi^2 = 0,7022$).

Выводы

Таким образом, предположение о том, что экспрессия гена *MDR1*, кодирующего гликопротеин P, может оказывать влияние на риск развития ИБС, а носительство генотипов полиморфного маркера *C3435T* данного гена может влиять на различный характер ее течения, нашло свое подтверждение в проведенном исследовании. Выявлен еще один генетический фактор предрасположенности к сердечно-сосудистым заболеваниям.

Polymorphism in MDR1 gene and the risk of acute myocardial infarction development

O.V. Muslimova, D.A. Sichev, E.V. Shikh, R.E. Kosakov

The article is devoted to possibility of early forecasting of Coronary Heart Disease (CHD) failures by using the innovative methods of diagnostics revealing genetic distinctions between people. In this research focus is revealing of the genotype of patients with CHD on *C3435T* polymorphism in *MDR1* gene, expressing

Список литературы

1. **Кукес В.Г.** Клиническая фармакология. Москва, Издательская группа «ГЭОТАР-Медиа». 2008. 1056 с.
2. **Flens M.J., Zaman G.J., van der Valk P., Izquierdo M.A., Schroeijers A.B., Scheffer G.L., van der Groep P., de Haas M., Meijer C.J., Scheper R.** Tissue distribution of the multidrug resistance protein. *J. Am J Pathol.* 1996. Apr;148(4):1237-47.
3. **Laguens R.P., Lazarowski A.J., Cuniberti L.A., Vera Janavel G.L., Cabeza Meckert P.M., Yannarelli G.G., del Valle H.F., Lascano E.C., Negroni J.A., Crottogini A.J.J.** Expression of the MDR-1 gene-encoded P-glycoprotein in cardiomyocytes of conscious sheep undergoing acute myocardial ischemia followed by reperfusion *Histochem Cytochem.* 2007. Feb;55(2):191-7. Epub. 2006. Nov 13.
4. **Robertson S.J., Kania K.D., Hladky S.B., Barrand MAJ.** P-glycoprotein expression in immortalised rat brain endothelial cells: comparisons following exogenously applied hydrogen peroxide and after hypoxia-reoxygenation. *Neurochem.* 2009. Oct;111(1):132-41. Epub. 2009. Jul 25.
5. **Uhr M., Holsboer E., Müller M.B.** Penetration of endogenous steroid hormones corticosterone, cortisol, aldosterone and progesterone into the brain is enhanced in mice deficient for both *mdr1a* and *mdr1b* P-glycoproteins. *J Neuroendocrinol.* 2002. Sep;14(9):753-9.

glycoprotein P, by PCR-PLRF. The association between carriers of genotypes of the given polymorphism and risk of development of acute myocardial infarction is revealed for the first time. Revealing of the genotype is considered from the point of view of modern principles of the personalized medicine for the purpose of an individualization of approaches to preventive maintenance and treatment of diseases.

Key words: genetic polymorphism, MDR1, polymorphic marker *C3435T*, glycoprotein P, CHD, acute myocardial infarction, aldosterone.

Условия хромато-масс-спектрометрического определения десмопрессина в биологических образцах

Нгуен Чи Тхань

Первый МГМУ им. Сеченова, Москва

Контактная информация: Нгуен Чи Тхань E-mail: elmed@yandex.ru

Хроматографическое разделение проводили при постоянной температуре 30°C на колонке Phenomenex Luna C18. При хромато-масс-спектрометрическом анализе ионизация осуществлялась электрораспылением при атмосферном давлении в режиме регистрации положительных ионов. Детектирование проводилось в режиме регистрации селективных реакций (SRM). Извлечение десмопрессина из биологических образцов плазмы человека проводили методом твердофазной экстракции. Предел детектирования десмопрессина в плазме человека составил 1,0 пг/мл, а предел количественного определения десмопрессина в плазме человека – 2,0 пг/мл.

Ключевые слова: десмопрессин, ВЭЖХ.

В 1974 г. был создан синтетический аналог природного аргинин вазопрессина – десмопрессин (1-деаино-8-D-агинин вазопрессин), специфический агонист рецепторов V2. Десмопрессин получен в результате изменений в строении молекулы вазопрессина – дезаминирование 1-цистеина и замещение 8-L-аргинина на 8-D-аргинин.

В 1977 г. после клинических испытаний, выполненных в Италии, десмопрессин стал использоваться во многих других странах, и Всемирная организация здравоохранения включила этот препарат в список основных лекарственных средств для лечения больных гемофилии и болезнью Виллебранда, наиболее рас-

пространенных нарушений свертываемости крови. Несмотря на 20 лет клинического использования десмопрессина, механизмы действия все еще не полностью исследованы.

Целью настоящего исследования явилась разработка метода экстракции и количественного определения изучаемого препарата в плазме крови человека.

Хроматографическое разделение проводили при постоянной температуре 30°C на колонке Phenomenex Luna C18 (150×2 мм, размер частиц – 5 мкм, размер пор – 100 Å) фирмы «Phenomenex» (Torrance, CA, США). В качестве мобильной фазы использовали 0,05% раствор муравьиной кислоты (pH=3) (A) и