

УДК 616.895.4-616.853

М.М. Орос¹, Г.П. Андрух²
АСОЦІАЦІЯ ПОЛІМОРФІЗМУ SCN1A ГЕНА НАТРІЄВИХ КАНАЛІВ
З ЕФЕКТИВНІСТЮ ДІЇ ФЕНІТОІНУ ПРИ ЕПІЛЕПСІЇ

Клініка «Водолій», м. Хуст¹
Харківська медична академія післядипломної освіти МОЗ України²

Ключові слова: епілепсія, епілептогенез, SCN1A ген натрієвих каналів, протиепілептична терапія, фенітоїн

Епілепсія – це захворювання, що займає третє місце за поширеністю серед органічних хвороб мозку [1]. Значення проблеми епілепсії пов'язано, перш за все, із тим, що хворі вимушені тривало, а часто і довічно приймати протиепілептичні препарати, які, як правило, мають ті чи інші побічні ефекти. Не дивлячись на появу за останні десятиліття десятків нових протиепілептичних препаратів, відсоток фармакорезистентних хворих залишається достатньо високим, а проблема вибору адекватного протиепілептичного препарату ще більше ускладнюється, що в багатьох випадках обумовлює розвиток псевдорезистентності. Все це ускладнює проблему лікування хворих на епілепсію та призводить до виражених соціально-економічних втрат в сім'ї та суспільстві.

За останні десятиліття розвиток фармакогенетики дає сподівання на покращення швидкого вибору адекватного протиепілептичного препарату, що, в свою чергу, дало б змогу зупинити процес епілептогенезу та зберегти соціальну активність пацієнта. Особлива увага приділяється мішеням дії протиепілептичних препаратів, зокрема, вольтаж-залежним натрієвим каналам (V3 (Na), які є точкою дії цілого ряду антиепі-

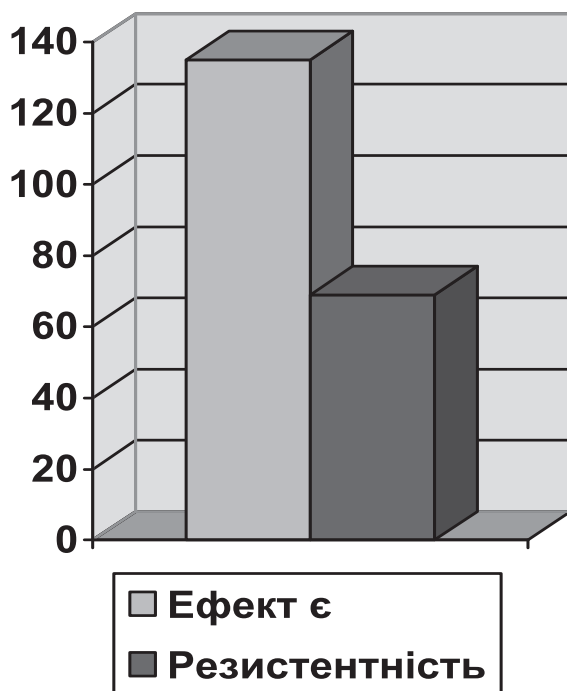
лептичних препаратів (АЕП), таких як: фенітоїн, ламотриджін, карбамазепін, топірамат, флєбамат та ін. [6].

Вже близько 60-70 років в неврологічній практиці для лікування епілепсії використовується фенітоїн, основним механізмом дії якого є блокування V3 (Na) каналів [5]. Ряд досліджень підтверджують, що вивчення особливостей рецептора V3 (Na) каналів, зокрема поліморфізму SCN1A може служити ранньою ознакою ефективності АЕП у конкретного хворого [4]. За даними Blumenfeld H. et al. певний тип поліморфізму рецептора SCN1A може слугувати ознакою патологічної експресії натрієвих каналів в процесі розвитку та підтримання епілептогенезу [2].

Мета. Встановити асоціацію між типом поліморфізму рецепторів V3 (Na) каналів та ефективністю дії фенітоїна у хворих із епілепсією.

Матеріали та методи дослідження. Нами було обстежено 204 хворих із діагнозом епілепсія з них - 107 жінок та 97 чоловіків. Середній вік пацієнтів склав 30+/- 1.9 років. Всі обстежені хворі мали стаж захворювання більше 3 років. Для встановлення поліморфізму V3 (Na) каналів використовували біологічний матеріал (цільна кров), отриманий від хворих на епіле-

псію, які проживають у Закарпатській області України. Матеріал наносили на картки FTA (Whatman, USA) для зберігання. Для аналізу було отримано 204 зразка крові на картках FTA, дійсними виявилися 204. Виділення ДНК проводили за допомогою Chelex100 (Bio-Rad Laboratories, USA). На бідистильованій деіонізованій воді (0,5 г Chelex 100 на 10 мл) готували 5% розчин Chelex 100. Невелику кількість матеріалу (FTA картка діаметром 3 мм) заливали 1 мл бідистильованої деіонізованої води. Після знебарвлення, матеріал струшували ретельно на вортексі, після чого відцентругували 10 хв. при 13400 rpm. Видаляли супернатант так, щоб залишилося 20-30 мкл розчину в пробірці. До залишку додавали 200 мкл 5% розчину Chelex 100. Добре перемішували на вортексі. Ставили у термостат на 30 хв. при 56⁰С, періодично струшуючи. Після цього знову перемішували матеріал на вортексі. На 8 хв. ставили в термостат при 100⁰С. Знов перемішували на вортексі. Відцентругували 5 хв. при 13400 rpm. Не задіваючи осад з Chelex 100, переносили супернатант у нову пробірку. Отриманий розчин містив очищену ДНК, проби готові для постановки полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Постановка ПЛР: готували реакційну суміш для ПЛР, виходячи з необхідного числа реакцій, додаючи реагенти в наступному порядку: вода, буфер для ПЛР, розчин dNTP (100 мМ), ДНК-полімераза Taq (5 у/мкл), використовували праймер: SCN1A rs3812718 GACSTATCSTTTACTCSTAATCATT[C/T]TTACCTG GAATTACCGAAATAGTTT)FRW: TGC TCG GAG AAC TCT GAA TGT, REV: GGC AAT TTT TCA GCT CTT CG.



Мал. 1. Розподіл пацієнтів за резистентністю до дії АЕП

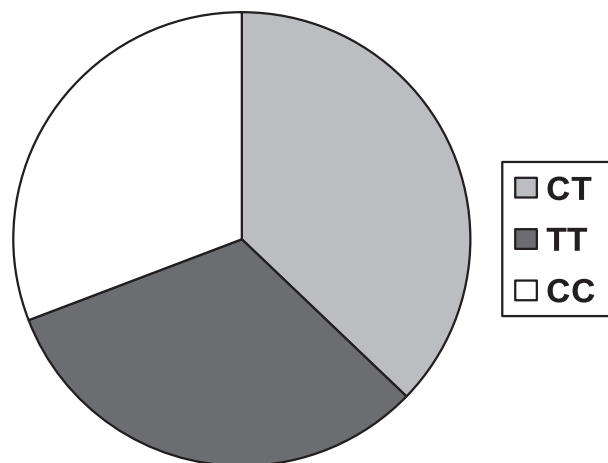
Досліджувані хворі були розділені на дві групи: перша група включала хворих із ефективним медикаментозним лікуванням (135 чол.), а друга група – 69 фармакорезистентних пацієнтів, що склало 66,2% та 33,8% відповідно, дані на малюнку 1.

Фармакорезистентність пацієнтів встановлювали на основі аналізу довготривалого адекватного медикаментозного лікування, користуючись міжнародними критеріями, розробленими Brodie та ін. [3].

Фенітоїн використовували в лікуванні 49 хворих, дози препарату, які приймали пацієнти, були в межах від 351 до 468 мг на добу.

Результати: за допомогою полімеразної реакції було встановлено три поліморфізми SCN1A – TT, CT, та CC комбінацію алелей даного гену.

Розподіл в групі досліджуваних становив: 76 хворих мали поліморфізм CT- 37,4%, 65 пацієнтів – TT поліморфізм 31,8%, а у 63 пацієнтів було встановлено CC поліморфізм SCN1A -30.8%, дані на малюнку 2.



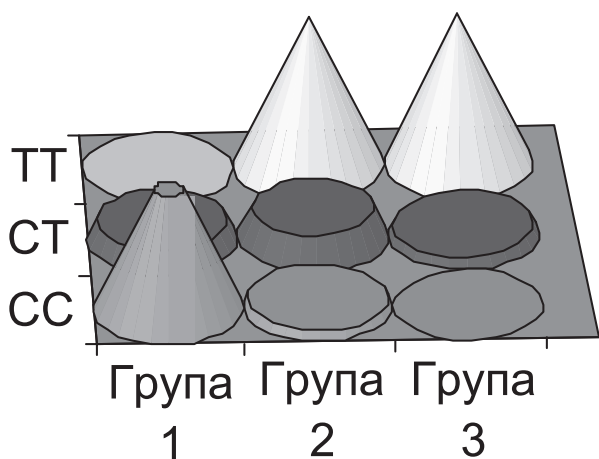
Мал. 2. Розподіл хворих за виявленими поліморфізмами SCN1A

Дані розподілу відповідають середньостатистичному розподілу даного поліморфізму в популяції.

Лікування фенітоїном проводилося в 49 пацієнтів. Їх було розділено на три групи в залежності від ефективності дії фенітоїну. Перша група включала пацієнтів, які мали зникнення або різке зменшення кількості нападів під час монотерапії дифенінном, друга група включала пацієнтів, які не реагували на фенітоїн, але мали регрес кількості нападів при додаванні інших АЕП, а третя група включала пацієнтів які були абсолютно фармакорезистентними. Перша група склала 14 пацієнтів, друга та третя - 19 та 16 чоловік відповідно.

Було проведено аналіз розподілу поліморфізму SCN1A рецептора відповідно до груп ефективності дії фенітоїну. В першій групі переважав поліморфізм CC, встановлений у 12 обстежених та був зафіксований поліморфізм CT у 2 обстежених. У другій групі вста-

новлено поліморфізм СС тільки в одного пацієнта, СТ – у 3 пацієнтів і поліморфізм ТТ - у 15 пацієнтів. У третій групі поліморфізм СС не зустрічався, СТ виявлений в одного пацієнта, а тип поліморфізму ТТ було встановлено в 15 хворих. дані на малюнку 3



Мал. 3. Аналіз розподілу типів поліморфізму SCN1A по групах відповідно ефективності дії фенітоїну

Аналізуючи малюнок 3, чітко спостерігаємо, що в другій та третій групах переважають хворі із поліморфізмом ТТ SCN1A рецептора. Це саме ті групи, в яких фенітоїн не виявив ефективності для профілактики виникнення епілептичних нападів. Якщо об'єднати обидві групи, то із 35 пацієнтів, резистентних до дії

фенітоїну, поліморфізм SCN1A по типу ТТ зустрічається у 30 хворих, що складає 85,5%, тоді як в групі з ефективною дією фенітоїну поліморфізм SCN1A ТТ не зустрічається. СС поліморфізм SCN1A зустрічається у 85,7% пацієнтів першої групи.

Висновок

На основі вище наведеного можна припустити чітку асоціацію між ефективністю дії фенітоїну як АЕП та СС поліморфізмом SCN1A. Існує також чітка асоціація між резистентністю до фенітоїну та ТТ поліморфізмом SCN1A. Ми розуміємо необхідність подальших досліджень в цій галузі, але, вважаємо доцільним використання визначення поліморфізму SCN1A рецептора перед призначенням фенітоїну. Це дало б змогу уникнути довготривалого титрування препарату в неефективних випадках при наявності ТТ поліморфізму і, таким чином, можна зменшити час підбору адекватної фармакотерапії епілепсії і, тим самим, уникнути розвитку епілептогенезу.

Література:

1. Карлов В.А. Эпилепсия у детей и взрослых, женщин и мужчин М. «Медицина». 2010 с.717.
2. Blumenfeld H. Lampert A. Klein Jp. Et al. Role of hippocampal sodium channel Nav 1.6 in kindling epileptogenesis. *Epilepsia* 2009; 50:44-50.
3. Brodie M.J. Drug-Resistant. *Epilepsies* (Ph. Kahane, A. Berg, W. Losher et al. France: John Libbey Eurotext, 2008:17-27.
4. Petrelli C, Passamonti C, Cesaroni E, Zamponi N Pediatric Neurology Department, Ospedale Salesi, Ancona. EARLY PROGNOSTIC FACTORS IN PATIENTS WITH SEVERE MYOCLONIC EPILEPSY IN INFANCY. *Italy Epilepsia*, 51(Suppl. 4):1-189, 2010 doi: 10.1111/j.1528-1167.2010.02658.x
5. Hill B. Ionsc channels of excitable membranes. Sunderland: Sinauer Associates Inc, 2001.
6. Wolf P. Praxisbush Epilepsien. Diagnostik, Behandlung, Rehabilitation. -Stuttgart: Khlhammer.- 2003.- P.394.

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА SCN1A ГЕНА НАТРИЕВЫХ КАНАЛОВ С ЭФФЕКТИВНОСТЬЮ ДЕЙСТВИЯ ФЕНИТОИНА ПРИ ЭПИЛЕПСИИ

М.М. Орос, Г.П. Андрух

Статья посвящена фармакогенетике противозепилептической терапии. Внимание уделено мишеням воздействия противозепилептических препаратов - вольтаж-зависимым натриевым каналам. Обоснована четкая ассоциация между эффективностью действия фенитоина и СС полиморфизмом SCN1A, а также четкая ассоциация между резистентностью к фенитоину и ТТ полиморфизмом SCN1A. Полученные данные позволяют снизить время подбора противозепилептической терапии и уменьшить эпилептогенез.

Ключевые слова: эпилепсия, эпилептогенез, SCN1A ген натриевых каналов, противозепилептическая терапия, фенитоин

POLYMORPHISM SCN1A SODIUM CHANNEL GENE SENSATIONAL EFFECTS PHENYTOIN FOR EPILEPSY

M.M. Oros, G.P. Andrukh

The article is devoted to the pharmacogenetics of antiepileptic therapy. Attention is given to the impact of anti-epileptic drugs target - the voltage-dependent sodium channels. Proved a clear association between the efficiency of action of phenytoin and СС polymorphism of SCN1A, and a clear association between resistance to phenytoin and ТТ polymorphism of SCN1A. The obtained data allow us to reduce the time of selection of antiepileptic therapy and reduce epileptogenesis.

Keywords: epilepsy, epileptogenesis, SCN1A sodium channel gene, antiepileptic therapy, phenytoin