

Усовершенствование метода определения уровней экспрессии генов биотрансформации ксенобиотиков в коже пациентов

Руденкова Т. В., Костюк С. А., Шиманская И. Г., Милькото Н. А.

Государственное учреждение образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования», г. Минск, Республика Беларусь

Реферат. Успех применения наружных лекарственных средств для местного лечения при атопическом дерматите и экземе во многом определяется уровнем активности системы трансформации ксенобиотиков в коже пациентов, которая может обуславливать фармакокинетичес-

кую невосприимчивость, за счет низкой концентрации активного вещества в ткани, или за счет резистентности клеток кожи. Изучение индивидуальных особенностей уровней экспрессии некоторых генов, вовлеченных в процесс биотрансформации ксенобиотиков (UGT1A7, HMOX2, BLVRA, CCL13, APOBR, ABC2, GSTP1), может служить маркером чувствительности клеток кожи к лекарственным средствам для местного лечения, так как уровень экспрессии гена дает представление о возможном количестве белкового продукта данного гена, который принимает участие в метаболизме лекарственных средств в клетках кожи.

Ключевые слова: биотрансформация ксенобиотиков, ферменты, гены, ПЦР, atopический дерматит, экзема.

Введение. Лечение atopического дерматита и экземы основано на эпизодическом применении местных глюкокортикоидов в комбинации со смягчающими средствами для быстрого купирования симптомов заболевания. В любом периоде заболевания, в том числе и в период ремиссии, применяют смягчающие и увлажняющие средства. Препаратами выбора для купирования симптомов обострения и поддерживающей терапии являются местные иммуномодуляторы [1, 2].

Лекарственные средства, применяемые в ходе лечения, обладают фармакологическим действием и способствуют нормализации физиологических функций организма, однако для организма они являются чужеродными веществами (ксенобиотиками) и в ряде случаев могут оказывать в том числе и токсическое воздействие. Попав в организм, ксенобиотики подвергаются тем или иным метаболическим превращениям, т. е. биотрансформации [3].

Метаболизм ксенобиотиков представляет собой сформировавшийся в процессе эволюции механизм адаптации организма, направленный на обезвреживание токсичных экзогенных и эндогенных веществ. Этот процесс генетически детерминирован и с одной стороны универсален, а с другой имеет индивидуальные особенности для каждого человека. Наличие генетических особенностей (полиморфизмы, мутации, альтернативные варианты сплайсинга, регуляция экспрессии генов) обуславливает возможность появления у отдельных индивидов устойчивости к действию некоторых лекарственных средств, а у других, наоборот, способствует возникновению повышенной чувствительности. Описано более 300 генов, вовлеченных в процесс биотрансформации ксенобиотиков, среди них можно выделить гены-продукты, которые принимают участие в метаболизме, гены, участвующие в переносе сигнала и гены клеточных рецепторов [4].

Ген UGT1A7 (*UDP glucuronosyltransferase family 1 member A7*) кодирует белок уридин-5-дифосфат глюкурозилтрансферазу (*UDP-глюкуронозилтрансферазу*) — фермент участвующий в глюкоронировании, т. е. превращении небольших липофильных молекул, таких как стероиды, билирубин, гормоны и некоторые лекарственные средства, в растворимые в воде экскретируемые метаболиты. Этот ген является частью сложного локуса, который кодирует несколько UDP-глюкуронозилтрансфераз.

Ген HMOX2 (*Heme oxygenase 2*) кодирует белок гемоксигеназы 2, одного из основных ферментов в катаболизме гема. Оксигеназы — это класс ферментов, катализирующих окислительно-восстановительные реакции с участием молекулярного кислорода. Фермент гемоксигеназа 2 расщепляет гем с образованием биливердина, который впоследствии превращается в билирубин с помощью биливердинредуктазы и монооксида углерода. Активность гемоксигеназы индуцируется гемом субстрата и различными негемичными веществами. К семейству гемоксигеназы принадлежат HMOX1 и HMOX2. Для гена HMOX2 найдено несколько альтернативных вариантов сплайсинга транскриптов, кодирующих три разные изоформы.

Ген BLVRA (*biliverdin reductase A*) кодирует белок, принадлежит к семейству биливердинредуктаз, члены которого катализируют превращение биливердина в билирубин в присутствии NADPH или NADH.

Ген CCL13 (*C-C motif chemokine ligand 13*) — один из генов цитокинов, который расположен на q-плече 17 хромосомы. Продукт данного гена — белок CCL13 является хемокином, который участвует в иммунорегуляторных и воспалительных процессах, а также индуцирует хемотаксис моноцитов, лимфоцитов, базофилов и эозинофилов.

Ген APOBR кодирует белок рецептора аполипопротеина В (*Apolipoprotein B receptor*). Количество APOBR (рецепторов к ЛПНП) на поверхности клеток, регулируется в зависимости от потребности клетки в холестерине, необходимом для образования мембран: при недостаточной концентрации холестерина в клетке повышается количество рецепторов APOBR на поверхности клетки, что может служить маркером активности обменных процессов в клетке.

Значительную роль в процессе биотрансформации ксенобиотиков отводят ферментам системы глутатион-S-трансфераз (GST) и белкам семейства ABC-транспортеров. Ферменты GST участвуют

в детоксикации ксенобиотиков, катализируя процесс их конъюгации с глутатионом. Участие GST в развитии лекарственной устойчивости основано на прямом детоксифицирующем действии.

АВС белки (*ATP Binding Cassette transporters*, АТФ-зависимые транспортеры) принимают участие в формировании лекарственной устойчивости клеток на этапе реализации токсического воздействия веществ на клетку, т. е. на уровне проникновения препаратов через клеточную мембрану и накопления внутри клетки эффективных концентраций лекарства. АВС-транспортеры обеспечивают транспорт лекарственных средств из клетки, что приводит к снижению концентрации препарата внутри клетки.

Изучение индивидуальных особенностей уровней экспрессии некоторых генов биотрансформации ксенобиотиков может служить маркером чувствительности клеток кожи к лекарственным средствам для местного лечения, так как уровень экспрессии гена дает представление о возможном количестве белкового продукта данного гена, который принимает участие в метаболизме лекарственных средств в клетках кожи.

Цель работы — усовершенствование метода определения уровней экспрессии генов биотрансформации ксенобиотиков (*UGT1A7*, *HMOX2*, *BLVRA*, *CCL13*, *APOBR*, *ABCC2*, *GSTP1*) в соскобах глубоких слоев кожи пациентов на основе применения ПЦР в режиме реального времени.

Материалы и методы. Исследования проводили с использованием биологического материала от пациентов с атопическим дерматитом ($n = 3$) и экземой ($n = 3$), а также практически здоровых лиц контрольной группы ($n = 3$). В качестве биологического материала использовали соскобы глубоких слоев пораженных участков кожи пациентов с атопическим дерматитом и экземой; у практически здоровых лиц соскобы брали на локтевых сгибах. Для получения соскобного материала глубоких слоев кожи использовали стерильный скальпель. Полученный материал помещали в пробирку типа эппендорф объемом 1,5 мл, содержащую 200 мкл раствора для стабилизации и хранения РНК «RNA later» (*Sigma*). Пробирки замораживали и оставляли для хранения при температуре -80°C .

Непосредственно перед проведением исследований образцы, хранившиеся в растворе *RNA later* отмывали физиологическим раствором. К отмытому осадку клеток добавляли 1 мл *TRIzol* реагента (*Invitrogen*) и гомогенизировали их с использованием *TissueLyser II* (*Qiagen*) в течение 3 мин (частота 10/с).

Инкубировали образцы 5 мин при комнатной температуре. Добавляли в каждую пробирку 200 мкл хлороформа. Перемешивали содержимое пробирок в течение 15 с и инкубировали 3 мин при комнатной температуре. Пробирки центрифугировали 15 мин при 4°C со скоростью 8 000 г. Верхнюю бесцветную фазу, содержащую РНК, переносили в чистые пробирки и использовали для дальнейшего выделения РНК.

Выделение РНК проводили с применением набора реагентов «Арт РНК *MiniSpin*» (ООО «Арт-БиоТех», Беларусь) согласно инструкции производителя.

Определение концентрации и степени чистоты выделенной РНК проводили спектрофотометрически (*NanoDrop 1000*, *Thermo scientific*, США) при длинах волн 230 и 260 нм. После оценки качества выделенной РНК, ее подвергали реакции обратной транскрипции с использованием набора «ArtMix-RT ревертаза» (ООО «АртБиоТех», Беларусь) согласно инструкции производителя.

Полученную в результате реакции обратной транскрипции к ДНК использовали для постановки *TaqMan* ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ) с применением реагента “Quick-Load Taq 2X Master Mix” (Праймтех, Беларусь), специально подобранных пар праймеров и зондов для каждого гена, включая *house-keeping* гены, на термоциклере Rotor-Gene-6000 (*Corbett research*, Австралия).

Результаты и их обсуждение. На первом этапе исследования были подобраны пары праймеров (*forward* и *reverse*) и последовательности TaqMan-зондов для генов *UGT1A7*, *HMOX2*, *BLVRA*, *CCL13*, *APOBR*, *ABCC2*, *GSTP1* с использованием Vector NTI программного обеспечения (таблица 1).

Таблица 1 — Последовательности праймеров и зондов для определения уровней экспрессии генов биотрансформации ксенобиотиков

Ген	Праймер	Нуклеотидная последовательность
UGT1A7	прямой	TGGCTCTGGGCTGAAGTTCTCTGA
	обратный	AGCTTCCCTGACCTTGGCAAAG
	зонд	FAM-GGGTGGACTGGCCTCCTTCCCCTATAT- BHQ1
HMOX2	прямой	TTCACATACTCAGCCCTCGAGGAG
	обратный	ATACTCCATGTCCTTGGTCAGCGC
	зонд	FAM-CGAGGAGGAAATGGAGCGCAAC- BHQ1

Окончание табл. 1

Ген	Праймер	Нуклеотидная последовательность
BLVRA	прямой	CGTTGGAAGAAGAGCGGTTTGG
	обратный	GCTCTTCCAAAGTGGCAGACACAA
	зонд	FAM-TTCAGCGGCATCTCTCGCCTGACCTG- BHQ1
CCL13	прямой	TCATGACAGCAGCTTTCAACCCC
	обратный	CATAGCTCTTCAGCCTCTGCAAGG
	зонд	FAM-GATGCACTCAACGTCCCATCTACTTG- BHQ1
APOBR	прямой	TCTGTGGCTGCTGGGATTATGG
	обратный	TTCTTTCGAGTCCCAGCCTTGC
	зонд	FAM-ATGTGGTCCCACACATCAGCGCTGCT- BHQ1
ABCC2	прямой	TTCAGCGAGACCGTATCAGGTT
	обратный	TTCTGGTTGGTGTCAATCCTCA
	зонд	FAM-TGCCTTTGAGCACCAGCAGCGATTT- BHQ1
GSTP1	прямой	CTGCAGATCTCCTTCGCTGA
	обратный	ACATATGCTGAGAGCAGGGG
	зонд	FAM-CTGCTGGACTTGCTGCTGAT-BHQ1

В качестве флуоресцентной метки для зондов таргетных генов при проведении *TaqMan* ПЦР-РВ использовали FAM, в качестве гасителя — BHQ1.

Далее была изучена возможность использования подобранных пар праймеров и зондов для выявления экспрессии каждого из исследуемых генов. Амплификацию проводили для каждого гена в 9 образцах, пробы ставили в дублях.

Амплификационная смесь имела универсальный состав для всех таргетных генов и различалась только специфическими парой праймеров и зондом, которые вносили в пробирку: 15,0 мкл 2X *Quick-Load Taq Master Mix* (Беларусь), 1,1 мкл смеси эквивалентных концентраций праймеров (прямой и обратный) и зонда, 10,9 мкл воды и 3 мкл кДНК.

Так как рассчитанные температуры отжига всех пар праймеров находились в пределах от 59 до 61,5 °C, была составлена универсальная программа для амплификации таргетных генов: 1 цикл 95 °C — 10 мин, 45 циклов 95 °C — 10 с, 60 °C — 40 с (термоциклер *Rotor-Gene-6000*, *Corbett research*, Австралия). Результаты, полученные в ходе выполнения данного этапа, представлены в таблице 2.

Таблица 2 — Значения пороговых циклов для генов UGT1A7, HMOX2, BLVRA, CCL13, APOBR, ABCC2, GSTP1 полученные при выполнении моноплексной ПЦР

Образец, №		Значение пороговых циклов (Ct) для генов						
		UGT1A7	HMOX2	BLVRA	CCL13	APOBR	ABCC2	GSTP1
1	1.1	22,24	25,65	26,11	21,32	23,52	25,18	26,31
	1.2	22,47	25,47	25,85	21,05	23,82	25,06	26,14
2	2.1	26,85	25,62	24,33	22,81	25,35	31,44	28,65
	2.2	26,53	25,87	24,02	22,52	25,57	31,47	28,47
3	3.1	20,03	21,31	27,21	24,22	22,47	—	27,83
	3.2	20,18	21,05	27,45	24,67	22,71	—	28,02
4	4.1	26,35	23,33	26,11	26,52	25,54	27,62	—
	4.2	26,61	23,66	26,48	26,24	25,42	28,87	—
5	5.1	24,14	26,63	21,14	18,92	20,66	25,11	23,52
	5.2	23,85	26,42	20,88	18,64	20,41	25,28	23,34
6	6.1	25,78	25,26	26,63	28,35	27,15	29,35	—
	6.2	26,06	24,92	26,34	28,01	26,94	29,61	—
7	7.1	27,52	29,55	26,54	27,36	23,84	32,07	29,75
	7.2	27,93	29,01	26,61	27,82	23,49	31,97	29,66

Окончание табл. 2

Образец, №		Значение пороговых циклов (<i>Ct</i>) для генов						
		UGT1A7	HMOX2	BLVRA	CCL13	APOBR	ABCC2	GSTP1
8	8.1	31,82	32,11	29,12	31,92	31,15	—	—
	8.2	31,03	31,64	28,77	32,17	30,82	—	—
9	9.1	30,03	31,03	32,04	30,36	30,51	—	—
	9.2	29,88	31,24	32,01	30,65	30,24	—	—

В трех образцах были получены отрицательные результаты по выявлению экспрессии гена ABCC2, еще в трех пробах был получен отрицательный результат по выявлению экспрессии гена GSTP1. Во всех остальных случаях значения пороговых циклов, полученные при выполнении моноплексной ПЦР-РВ, для целевых генов находились в пределах от 18,64 до 32,04.

С целью оценки уровня амплификации неспецифических фрагментов ДНК был дополнительно проведен электрофоретический анализ полученных в ходе проведения моноплексной ПЦР ампликонов. При анализе результатов электрофоретической детекции было установлено присутствие четких полос на уровне детекции специфических фрагментов ДНК во всех анализируемых образцах.

Для оценки аналитической специфичности усовершенствованного метода ампликоны после проведения этапа электрофореза извлекли из геля с использованием набора реагентов *QIAquick Gel extraction kit (Qiagen 2)*. Данные образцы использовали для анализа нуклеотидной последовательности полученных фрагментов ДНК с применением сиквенс-анализа. Сиквенс-анализ проводили с использованием набора реагентов *BigDye Terminator Cycle Sequencing kit v3.1 (Applied Biosystems)* и прямого праймера для каждого целевого гена. Отсеквенированные фрагменты ДНК подвергались очистке с использованием *DyeEx 2.0 Spin kit (Qiagen)* и последующему электрофоретическому анализу на генетическом анализаторе *ABI Prism 310 (Applied Biosystems)*.

Полученные данные о нуклеотидной последовательности образцов сравнивали с зарегистрированными последовательностями анализируемых генов в on-line поисковой системе BLAST (Режим доступа : www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/bl2seq/bl2.html) для идентификации принадлежности той или иной последовательности к определенному гену [5]. Для всех проанализированных образцов совпадение нуклеотидных последовательностей с зарегистрированными находилось на уровне 100 %, что позволило сделать вывод о высокой аналитической специфичности усовершенствованного метода (100 %) [6].

Исходя из полученных значений пороговых циклов при проведении моноплексной ПЦР были выбраны образцы для проведения исследований по оценке эффективности усовершенствованного метода определения экспрессии генов биотрансформации ксенобиотиков. Для оценки генов UGT1A7 и ABCC2 был выбран образец № 1, для гена HMOX2 — образец № 3, для генов BLVRA, CCL13, APOBR, GSTP1 — образец № 5, так как значения пороговых циклов амплификации для указанных генов в данных образцах были самыми низкими.

Для оценки эффективности протекания ПЦР проводили амплификацию 10-кратных разведений образцов кДНК с целью построения стандартной кривой. Концентрацию к ДНК в неразведенном образце условно принимали за 100 и делали 2 разведения (10, 1). Амплификацию проб проводили в дублях. При анализе результатов амплификации проводили построение стандартной кривой корреляции между значениями пороговых циклов *Ct* и \log_{10} условной концентрации кДНК для изучаемых генов.

Рассчитанные значения корреляции (R^2) между значениями пороговых циклов *Ct* и \log_{10} условной концентрации кДНК в образцах составила от 0,993 до 0,999. Полученные значения эффективности ПЦР находились в пределах от 1,56 (для гена ABCC2) до 1,71 (для гена CCL13). Все полученные результаты представлены в таблице 3.

Выбор референсного гена для расчета нормализованной экспрессии целевых генов проводили среди *house-keeping* генов человека: HGUS, GAPDH, NAGK. После проведения амплификации выбранных генов в тех же образцах, в которых оценивали амплификацию целевых генов (UGT1A7, HMOX2, BLVRA, CCL13, APOBR, ABCC2, GSTP1), рассчитывали коэффициент вариации (CV) исходя из полученных значений концентраций *house-keeping* генов [6]. Амплификацию всех проб проводили в дублях, для расчета коэффициента вариации использовали средние значения концентраций.

В результате анализа полученных данных для нормализации значений уровней экспрессии целевых генов в качестве референсного был выбран ген GAPDH (*glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase*), так как именно для него было установлено самое низкое значение коэффициента вариации — 6,1 %. Для генов HGUS и NAGK рассчитанные значения коэффициентов вариации находились на уровне 12,5 и 11,7 % соответственно.

Таблица 3 — Значения пороговых циклов, эффективности и корреляции для генов UGT1A7, HMOX2, BLVRA, CCL13, APOBR, ABCC2, GSTP1

Ген	Образец, №	Значение пороговых циклов (<i>C_t</i>)						<i>E</i>	<i>R²</i>
		100		10		1			
		100.1	100.2	10.1	10.2	1.1	1.1		
UGT1A7	1	22,33	22,51	25,51	25,78	28,32	28,57	1,67	0,997
HMOX2	3	21,44	21,57	25,28	25,16	30,27	30,65	1,59	0,994
BLVRA	5	21,21	21,36	26,47	26,71	31,41	31,24	1,67	0,997
CCL13	5	19,03	19,01	24,45	24,56	27,78	27,83	1,71	0,999
APOBR	5	20,36	20,58	26,74	26,69	31,12	31,35	1,65	0,995
ABCC2	1	25,38	25,47	29,12	29,68	33,32	33,71	1,56	0,993
GSTP1	5	23,41	23,62	28,13	28,25	31,61	31,27	1,66	0,995

Для амплификации *house-keeping* гена GAPDH использовали праймеры: прямой-GAPDH-f — GCCATCAATGACCCCTTCAT и обратный-GAPDH-r — GCCATGGAATTTGCCAT, а также зонд GAPDH-p — JOE-CTCAACTACATGGTTTACATGTTCCAAATATGATTCCA-BHQ2 (С. М. Leutenegger и соавт., 1999). В качестве метки для зонда использовали флуорофор JOE, в качестве гасителя — BHQ2.

Оценка эффективности протекания реакции амплификации для выбранного референсного гена GAPDH, позволила установить, что при использовании данных пар праймеров, зонда, универсального состава реакционной смеси и условий амплификации (которые были использованы и для целевых генов) рассчитанное значение эффективности протекания реакции составило 1,67.

При сравнении рассчитанных показателей эффективности протекания реакции амплификации для референсного гена GAPDH и целевых генов UGT1A7, HMOX2, BLVRA, CCL13, APOBR, ABCC2, GSTP1, был сделан вывод о возможности проведения мультиплексной ПЦР для одновременной амплификации целевого и референсного генов в одной пробирке.

В ходе оптимизации мультиплексной ПЦР-РВ в одной пробирке одновременно амплифицировали один из целевых генов (UGT1A7, HMOX2, BLVRA, CCL13, APOBR, ABCC2, GSTP1) и референсный ген GAPDH. Детекцию целевых генов проводили по каналу *Green*, так как зонды для данных генов были мечены флуорофором FAM, а детекцию гена GAPDH проводили по каналу *Yellow*, так как зонд для него был мечен флуорофором JOE.

В пробирки для амплификации вносили 15,0 мкл 2X *Quick-Load Taq Master Mix* (РБ), 1,1 мкл смеси эквивалентных концентраций праймеров и зонда для одного из целевых генов (UGT1A7, HMOX2, BLVRA, CCL13, APOBR, ABCC2, GSTP1), 1,1 мкл смеси эквивалентных концентраций праймеров и зонда для гена GAPDH, 9,8 мкл воды и 3 мкл кДНК. Праймеры и зонды вносили в конечной концентрации 3,2 рмоль/мкл.

Для выбора оптимального режима амплификации для каждого из исследуемых генов при проведении мультиплексной ПЦР были опробованы 3 режима (таблица 4). Амплификацию проводили с использованием термоциклера “Rotor-Gene-6000” (“Corbett research”, Австралия).

Таблица 4 — Программы амплификации, с изменением температуры отжига праймеров

Режим, №	Программа амплификации
1	1 цикл: 95 °С — 10 мин;
	45 циклов: 95 °С — 10 с, 62 °С — 20 с, 60 °С — 20 с
2	1 цикл: 95 °С — 10 мин;
	45 циклов: 95 °С — 10 с, 60 °С — 40 с
3	1 цикл: 95 °С — 10 мин;
	45 циклов: 95 °С — 10 с, 58 °С — 20 с, 60 °С — 20 с

Наилучший результат амплификации для всех целевых генов и референсного гена GAPDH был достигнут при использовании режима 2.

После анализа результатов амплификации целевых генов и референсного гена GAPDH в пробах биологического материала пациентов, рассчитывали процент уровня нормализованной экспрессии генов [7]. Для расчета использовали средние значения пороговых циклов целевого и референсного генов, полученные при постановке проб в дублях. Полученные результаты представлены в таблице 5.

Таблица 5 — Значения процента уровней нормализованной экспрессии генов UGT1A7, HMOX2, BLVRA, CCL13, APOBR, ABCC2, GSTP1 в пробах биологического материала пациентов

Образец, №	Процент уровня нормализованной экспрессии гена						
	UGT1A7	HMOX2	BLVRA	CCL13	APOBR	ABCC2	GSTP1
1	22,45	62,26	55,95	120,01	141,06	2,66	9,81
2	37,11	42,15	81,32	91,74	105,25	10,84	6,22
3	76,23	19,58	39,56	99,81	129,50	—	25,18
4	15,65	52,54	28,78	62,88	111,43	6,60	—
5	7,20	9,90	6,25	152,53	77,17	11,84	9,66
6	52,48	36,61	69,55	36,73	129,78	5,73	—
7	58,83	51,90	16,76	73,23	124,15	81,37	45,75
8	6,55	15,12	27,06	21,15	6,28	—	—
9	3,74	0,02	5,52	6,53	9,52	—	—

Заключение. В ходе проведения исследований усовершенствован метод определения уровней нормализованной экспрессии генов биотрансформации ксенобиотиков в коже пациентов на основе использования мультиплексной ПЦР в режиме реального времени. Результаты постановки ПЦР с использованием подобранных пар праймеров, зондов, программы амплификации и проведенный расчет значений процента уровней нормализованной экспрессии генов UGT1A7, HMOX2, BLVRA, CCL13, APOBR, ABCC2, GSTP1 позволяют сделать вывод, что усовершенствованный метод можно использовать для определения уровней экспрессии данных генов в соскобах глубоких слоев кожи пациентов.

Литература

1. Жерносек, В. Ф. Новое в патогенезе атопического дерматита и современные подходы к его лечению у детей / В. Ф. Жерносек // Медицинские новости. — 2013. — № 2. — С. 46–52.
2. Круглова, Л. С., Петрунин, Д. Д. Влияние наружной противовоспалительной терапии на морфофункциональные характеристики эпидермального барьера. Оптимизация схем лечения атопического дерматита / Л. С. Круглова, Д. Д. Петрунин // Вестник дерматологии и венерологии. — 2018. — Т. 94, № 4. — С. 73–82.
3. Григорцевич, Н. Ю. Генотипирование в помощь врачам-дерматологам, косметологам и их пациентам / Н. Ю. Григорцевич // Косметика и медицина. — 2016. — № 1. — С. 10–17
4. Cascorbi, I. Genetic basis of toxic reactions to drugs and chemicals / I. Cascorbi // Toxicol. Lett. — 2006. — Vol. 62(1). — P. 16–28. — DOI: 10.1016/j.toxlet.2005.10.015/.
5. Руденкова Т. В. Анализ нуклеотидных замен в генах, кодирующих белки цитоадгезии *Mycoplasma genitalium* / Т. В. Руденкова // Репродуктивное здоровье. Восточная Европа. — 2012. — № 5. — С. 185–188.
6. Организация системы контроля качества исследований методом полимеразной цепной реакции / Н. А. Бадыгина [и др.] // Лабораторная диагностика. Восточная Европа. — 2012. — № 1. — С. 28–38.
7. Метод определения уровней экспрессии генов, обеспечивающих синтез коллагена и эластина, в биоптатах кожи пациентов с хроническими дерматозами, сопровождающимися атрофией кожи / С. А. Костюк [и др.] // Дерматовенерология. Косметология. — 2017. — № 2. — С. 179–187.

Improvement of the method of the xenobiotics biotransformation genes expression levels identification in patients skin samples

Rudenkova T. V., Kostiuk S. A., Shimanskaya I. G., Milkoto N. A.

*State Educational Institution “The Belarusian Medical Academy of Post-Graduate Education”,
Minsk, Republic of Belarus*

The success of use of external drugs for topical treatment of atopic dermatitis and eczema is largely determined by the level of activity of the xenobiotic transformation system in the skin of patients, which can

cause pharmacokinetic immunity due to the low concentration of the active substance in the tissue, or due to the resistance of the skin cells. The study of the individual characteristics of the expression levels of some genes involved in xenobiotics biotransformation (UGT1A7, HMOX2, BLVRA, CCL13, APOBR, ABCC2, GSTP1) can be considered as a marker of the sensitivity of skin cells to drugs for local treatment, because the level of gene expression gives an idea of the possible amount of the protein product of a given gene, which is involved in the metabolism of drugs in skin cells.

Keywords: xenobiotics biotransformation, enzymes, genes, PCR, atopic dermatitis, eczema.

Поступила 25.10.2019