

Ю. І. Бажора, Я. В. Рожковський, П. Б. Антоненко,  
В. Й. Кресюн, К. О. Антоненко

## Вплив генотипу *CYP2E1* на концентрацію протитуберкульозних препаратів у крові

Одеський національний медичний університет

**Ключові слова:** поліморфізм гена, *CYP2E1*, туберкульоз, рифампіцин, ізоніазид, концентрація в крові

Незважаючи на певні досягнення в зменшенні поширення туберкульозу (ТБ) в Україні станом на 2021 рік, згідно з доповіддю ВООЗ, Україна належить до країн зі значним поширенням мультирезистентних штамів *M. tuberculosis* [1]. Одним зі шляхів поліпшення ефективності лікування ТБ є персоніфікація лікування хворих з урахуванням генетичних особливостей [2]. Варіативність низки генів, що визначають швидкість біотрансформації або транспорт протитуберкульозних препаратів в організмі хворих, може впливати на їхню концентрацію в крові під час лікування [3, 4], на ефективність лікування [5, 6], ризик розвитку токсичних ефектів протитуберкульозної терапії [7, 8].

Відомо, що цитохром P-4502E1 (ген *CYP2E1*) бере участь в утворенні й метаболізмі бензолу, ацетону, тетрахлористого вуглецю тощо, що в свою чергу призводить до утворення реактивних продуктів окиснення та пошкодження органів і, перш за все, печінки [9]. Ізоніазид і його метаболіти можуть впливати на активність ферменту, водночас *CYP2E1* бере участь в утворенні токсичного метаболіту ізоніазиду, а також ймовірно інших гепатотоксинів [10]. Імовірно, що *CYP2E1* може впливати на біо-

трансформацію ізоніазиду та рифампіцину й відповідно на їхній вміст у крові під час протитуберкульозної терапії.

**Мета дослідження** – вивчити значення поліморфізму гена *CYP2E1* для концентрації ізоніазиду та рифампіцину в сироватці крові хворих на ТБ легень під час протитуберкульозної терапії.

**Матеріали та методи.** У дослідженні брали участь 90 хворих на ТБ легень, які перебували на стаціонарному лікуванні в КНП «Одеський обласний центр соціально значущих хвороб» (раніше – Одеський обласний протитуберкульозний диспансер) у 2012–2018 роках. Для дослідження відбирали лише хворих з вперше діагностованим ТБ легень. Серед 80 хворих чоловіки становили 51,3 %, жінки – 48,7 %. Усі хворі на ТБ отримували стандартну терапію згідно з наказом МОЗ України від 9.06.2006 № 384, яка зазвичай включала щоденну комбінацію ізоніазид (4–6 мг/кг) + рифампіцин (8–12 мг/кг) + піразинамід (20–30 мг/кг) + стрептоміцин (12–18 мг/кг) [або етамбутол (15–20 мг/кг)]. Відбір учасників дослідження в обох групах проводили методом «поперечного зрізу» без вікових чи статевих обмежень. Критеріями виключення учасників з дослідження в обох групах була наявність верифікованої ВІЛ-інфекції, вірусних гепатитів. Дослідження були проведені відповідно до Етичного Кодексу Всесвітньої Медичної асоціації

(Гельсинська декларація) щодо досліджень, до яких долучають людину. На початку дослідження хворі, які брали участь у дослідженні, були поінформовані й підписали відповідну письмову згоду. Уміст ізоніазиду вимірювали в сироватці хворих за методикою С. Wollenberg у модифікації Р. І. Шендерової (1975 р.) [11]. Уміст рифампіцину визначали за В. Т. Чубаряном (1994 р.) з модифікацією [12]. Рівень ізоніазиду та рифампіцину вивчали через 2, 4, 6 і 24 год після застосування препаратів у кожного пацієнта протягом першого тижня від початку протитуберкульозної терапії.

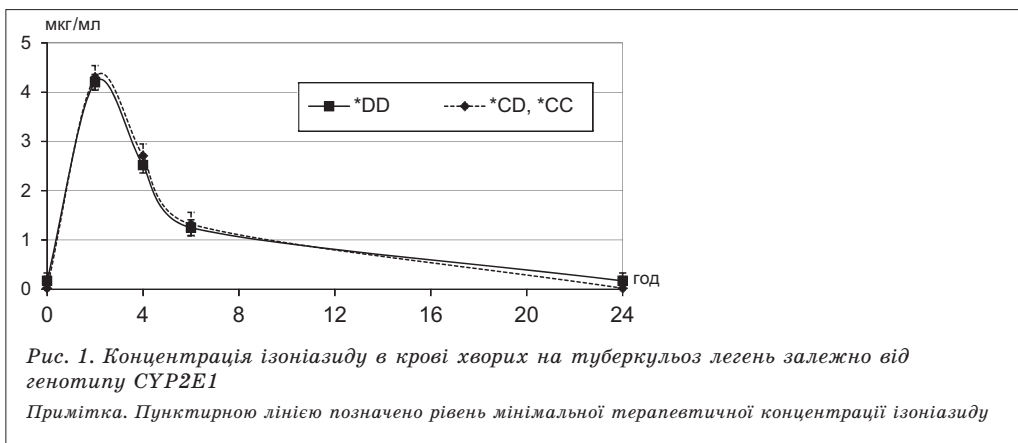
Виділення ДНК з лейкоцитів проводили в бактеріологічній лабораторії з використанням набору реагентів АмплиСенс «ДНК сорб-В». Генотип *CYP450 2E1* досліджували за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) та ендонуклеазного аналізу (метод вивчення поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів (Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP) з використанням ферменту *DraI* [13]. Ампліфікацію проводили за допомогою ДНК-ампліфікатора «Терцик»; рестрикція отриманих ДНК-продуктів відбувалась у термостаті за температури 37 °С; врахування продуктів рестрикції проводили в агарозному гелі. Обрахунок статистичних даних проводили зі залученням Statistica 10.0 software (Dell Software, Austin, TX, USA). Під час статистичної обробки експериментальних даних за необхідності використовували як параметричні методи (t-test), так і непараметричні методи (Mahn-Whitney, Sign test,  $\chi^2$ -test) статистичної обробки даних.

**Результати та їх обговорення.** Особигомозиготи з диким типом дослідженого гена *CYP2E1* (\*DD) визначались як «швидкі метаболізатори» («*rapid*

*metabolizers*», RM); особи, які мали одну мутовану алель у дослідженому гені (\*CD), визначались як «помірні метаболізатори» («*intermediate metabolizers*», IM); й особи, які загалом мали дві мутовані алелі в дослідженому гені (\*CC), визначались як «повільні метаболізатори» («*slow metabolizers*», SM). Було встановлено, що серед 90 хворих на ТБ 80 індивідів (88,9 %) належали до «швидких метаболізаторів», 8 (8,9 %) і 2 (2,2 %) осіб – до «помірних» і «повільних метаболізаторів». У зв'язку з низькою чисельністю групи хворих з генотипом \*CC згодом хворих з генотипами \*CC і \*CD об'єднали в одну групу.

Протягом доби після введення ізоніазиду в носіїв різних генотипів *CYP2E1* вірогідних відмінностей концентрації ізоніазиду в крові хворих не спостерігалось, хоча в носіїв генотипу \*DD вміст ізоніазиду був дещо меншим, ніж у носіїв генотипів \*CD, \*CC (рис. 1). Через 2 год після введення концентрація ізоніазиду становила ( $4,2 \pm 0,17$ ) мкг/мл у носіїв генотипу \*DD і ( $4,3 \pm 0,23$ ) мкг/мл у носіїв генотипів \*CD, \*CC; через 4 год після введення – ( $2,52 \pm 0,16$ ) мкг/мл і ( $2,71 \pm 0,28$ ) мкг/мл; через 6 год – ( $1,25 \pm 0,14$ ) мкг/мл і ( $1,32 \pm 0,28$ ) мкг/мл відповідно. Через 17–18 год після введення концентрація ізоніазиду впала нижче мінімального терапевтичного рівня (0,5 мкг/мл) в обох групах.

При аналізі поширеності субтерапевтичного вмісту ізоніазиду в крові було встановлено, що у хворих з генотипом \*DD через 2, 4 і 6 год після введення такий стан спостерігався в 18,8–27,5 %, а через добу після введення – у 91,3 % пацієнтів. У носіїв генотипів \*CC, \*CD субтерапевтична концентрація ізоніазиду мала місце через 6 і 24 год після введення препарату в 30,0 % і 71,3 % пацієнтів відповідно.

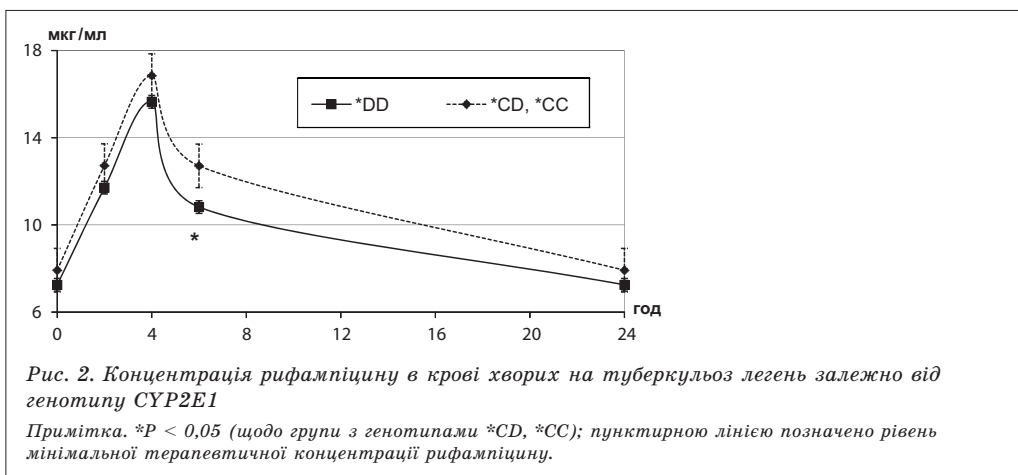


У хворих на ТБ легень з генотипом *\*DD* уміст рифампіцину в крові протягом доби після введення також був дещо меншим, ніж у носіїв генотипів *\*CD*, *\*CC* (рис. 2). Загалом через 2 год після введення концентрація рифампіцину становила  $(11,71 \pm 0,29)$  мкг/мл у носіїв генотипу *\*DD* і  $(12,70 \pm 0,90)$  мкг/мл у носіїв генотипів *\*CD*, *\*CC*; через 4 год після введення –  $(15,65 \pm 0,39)$  мкг/мл і  $(16,85 \pm 1,10)$  мкг/мл; через 6 год –  $(10,82 \pm 0,23)$  мкг/мл і  $(12,72 \pm 1,10)$  мкг/мл. Водночас в осіб з генотипами *\*DD* концентрація рифампіцину через 6 год після його введення була на 17,5 % нижчою, ніж у хворих з генотипами *\*CD*, *\*CC* ( $P < 0,05$ ;  $CI = -3,39...-0,48$ ).

При вивченні поширеності субтерапевтичного вмісту рифампіцину в крові було встановлено, що у хворих

з генотипом *\*DD* через 2 і 6 год після введення такої стан спостерігався лише в 2,5 %; у носіїв генотипів *\*CD*, *\*CC* субтерапевтичний уміст протягом 6 год після введення взагалі не фіксувався. Наприкінці доби після застосування в 30 % хворих, які були носіями генотипів *\*CD*, *\*CC*, і в 71,3 % носіїв генотипу *\*DD* відзначалась субтерапевтична концентрація рифампіцину в крові. Отже, у носіїв варіантних алелей у 2,1 разу рідше спостерігались випадки субефективної концентрації рифампіцину, ніж у хворих з генотипом *\*DD* ( $P < 0,05$ ;  $\chi^2 = 5,34$  у разі критичного значення  $\chi^2 = 3,84$ ).

Отримані результати засвідчили, що в носіїв варіантних алелей – *\*CC*, *\*CD*, які асоціюються з уповільненням метаболізму ксенобіотиків, відзначався



більш високий уміст рифампіцину та тенденція до більшого вмісту ізоніазиду, ніж у носіїв генотипу \*DD. Ці результати свідчать про участь ферменту CYP2E1 у метаболізмі рифампіцину. Згідно з попередніми дослідженнями в носіїв генотипу \*DD активність маркерів цитолізу аспаратамінотрансферази й аланінаміно-трансферази після проведення протитуберкульозного лікування була вищою, ніж у хворих з генотипами \*CC, \*CD [7].

### Висновки

1. Отримані результати засвідчили, що поліморфізм CYP2E1 у хворих на ТБ легень має певне значення для концентрації рифампіцину в сироватці крові. У носіїв генотипу \*CC, \*CD у 2,1 разу рідше спостері-

гались випадки субефективної концентрації рифампіцину, а концентрація рифампіцину через 6 год після його введення була на 17,5 % вищою, ніж у хворих з генотипом \*DD ( $P < 0,05$ ).

2. У носіїв варіантних алелей – \*CC, \*CD, які асоціюються з уповільненням метаболізму ксенобіотиків, відзначалась тенденція до більшого вмісту ізоніазиду, ніж у носіїв генотипу \*DD.

3. Визначення генотипу CYP2E1 є важливим предиктором умісту рифампіцину в крові, ефективності лікування, ризику розвитку ураження печінки під час лікування туберкульозу, а також імовірно ризику виникнення набутої медикаментозної резистентності збудника ТБ.

1. WHO. Global Tuberculosis Report 2021. Geneva : WHO. 2021, 43 p. URL: <https://apps.who.int/iris/rest/bitstreams/1379788/retrieve>.
2. Human pharmacogenetic peculiarities affecting the action of anti-tuberculosis medicines. P. B. Antonenko, V. I. Kresyun, G. V. Zaychenko, V. V. Godovan. *Clinical pharmacy*. 2016. V. 20 (1). P. 6–11.
3. Фармакокінетика ізоніазиду у хворих на туберкульоз з різним генотипом ацетилювання. В. Й. Кресюн, В. В. Філюк, П. Б. Антоненко та ін. *Український пульмонологічний журнал*. 2013. № 3. С. 24–27.
4. SLCO1B1 and SLC10A1 polymorphism and plasma rifampin concentrations in patients with comorbidity tuberculosis-diabetes mellitus in Baja California, Mexico. R. Perea-Jacobo, R. Muñoz-Salazar, R. Laniado-Laborín et al. *Tuberculosis*. 2022. V. 136. Art. 102248.
5. Influence of GSTM1 and NAT2 deletion polymorphism on efficiency of TB treatment and selection of way of administration of anti-TB reparations. L. D. Todoriko, P. B. Antonenko, M. M. Kuzhko et al. *Infusion & Chemotherapy*. 2019. № 1. P. 9–16.
6. A retrospective cohort study on the treatment outcomes and genotyping of isoniazid-resistant tuberculosis patients in Eastern China. Y. Li, J. Shi, W. Song et al. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. 2022. V. 30. P. 335–339.
7. Association between effectiveness of tuberculosis treatment and cytochrome P-450E1 polymorphism of the patients. P. Antonenko, D. Butov, V. Kresyun, T. Butova. *International Journal of Mycobacteriology*. 2017. V. 6 (4). P. 396–400.
8. The association between cytochrome P450 polymorphisms and anti-tuberculosis drug-induced liver injury: a systematic review and meta-analysis. L. Xingren, R. Song, Z. Jingwei et al. *Annals of Palliative Medicine*. 2021. V. 10, № 6. P. 6518–6534.
9. Прикладне значення генотипування. Ю. С. Рудик, С. М. Пивовар, А. С. Попович, В. В. Николаєва. *Клінічна фармація*. 2012. Т. 16, № 4. С. 4–10.
10. Exploration of inhibition potential of isoniazid and its metabolites towards CYP2E1 in human liver microsomes through LC-MS/MS analysis. B. Ankit, A. Kumar, S. Kumar et al. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2021. V. 2035. Article 114223.
11. Шендерова Р. И. Определение активного тубазида в сыворотке крови методом Вилленберга. *Лабораторное дело*. 1975. № 2. С. 114–116.

12. Патент 88002 Україна, МПК (2014.01) А61К31/00, С12Q, 1/68 (2006.01), С12R 1/32 (2006/01) Спосіб визначення вмісту препарату рифампіцину у сироватці крові під час хіміотерапії туберкульозу. Антоненко П. Б., Кресюн В. Й., Годован В. В., Антоненко К. О., Анісімов В. Ю., Щербачов С. В.; заявник і патентовласник Одес. нац. мед. ун-т. № u201311707; заявл. 04.10.2013; опубл. 25.02.2014, Бюл. № 4/2014. 4 с.
13. Susceptibility to esophageal cancer and genetic polymorphisms in glutathione-S-transferases T1, P1 and cytochrome P450 2E1. D.-X. Lin, Y.-M. Tang, Q. Peng et al. *Cancer epidemiology, biomarkers and prevention*. 1998. V. 7. P. 1013–1018.

*Інформація про конфлікт інтересів.* Жодного конфлікту інтересів у авторів роботи не було. Робота підтримана МОЗ України в межах НДР «Персоніфікація лікування і розробка нових біологічно активних речовин у оптимізації фармакотерапії низки соціально значущих захворювань» (№ 0121U107508).

**Ю. І. Бажора, Я. В. Рожковський, П. Б. Антоненко, В. Й. Кресюн, К. О. Антоненко**

### **Вплив генотипу CYP2E1 на концентрацію протитуберкульозних препаратів у крові**

Серед заходів, що можуть поліпшити якість лікування хворих на туберкульоз (ТБ) легень важливе місце посідає персоніфікація хіміотерапії. Відомо, що фермент CYP2E1 бере участь у метаболізмі низки ксенобіотиків, імовірно й протитуберкульозних препаратів.

*Мета дослідження* – вивчити значення поліморфізму гена CYP2E1 для концентрації ізоніазиду та рифампіцину в сироватці крові хворих на ТБ легень під час протитуберкульозної терапії.

Для цього за допомогою полімеразної ланцюгової реакції було проведено визначення поліморфізму гена CYP2E1 у 90 хворих на ТБ легень, що вперше виявлено. На початку лікування вимірювали вміст ізоніазиду та рифампіцину в крові через 2, 4, 6 і 24 год після введення протитуберкульозних препаратів.

Встановлено, що серед 90 хворих на ТБ 80 індивідів (88,9 %) мали генотип \*DD, 8 осіб (8,9 %) і 2 особи (2,2 %) мали генотип \*CD і \*CC відповідно. Протягом доби після введення ізоніазиду в носіїв різних генотипів CYP2E1 вірогідних відмінностей його концентрації в крові хворих не спостерігалося, хоча в носіїв генотипу \*DD вміст ізоніазиду був дещо меншим, ніж у носіїв генотипів \*CD, \*CC. Через 17–18 год після введення концентрація ізоніазиду впала нижче мінімального терапевтичного рівня (0,5 мкг/мл) в обох групах. Загалом через 2 год після введення концентрація рифампіцину становила 11,71 мкг/мл у носіїв генотипу \*DD і 12,70 мкг/мл у носіїв генотипу \*CD, \*CC; через 4 год після введення – 15,65 мкг/кг і 16,85 мкг/кг; через 6 год – 10,82 мкг/мл і 12,72 мкг/кг. Водночас у осіб з генотипами \*DD концентрація рифампіцину через 6 год після його введення була на 17,5 % нижчою, ніж у хворих з генотипами \*CD, \*CC ( $P < 0,05$ ; CI = -3,39...-0,48). Наприкінці доби після застосування в 30 % хворих, які були носіями генотипів \*CD, \*CC, і в 71,3 % носіїв генотипу \*DD відзначалась субтерапевтична концентрація рифампіцину в крові. Отже, у носіїв варіантних алелей в 2,1 разу рідше спостерігались випадки субефективної концентрації рифампіцину, ніж у хворих з генотипом \*DD ( $P < 0,05$ ;  $\chi^2 = 5,34$  при критичному значенні  $\chi^2 = 3,84$ ).

Таким чином, визначення генотипу CYP2E1 є важливим предиктором вмісту рифампіцину в крові, ефективності лікування, ризику розвитку ураження печінки під час лікування ТБ, а також імовірно ризику виникнення набутої медикаментозної резистентності збудника ТБ.

*Ключові слова:* поліморфізм гена, CYP2E1, туберкульоз, рифампіцин, ізоніазид, концентрація в крові

**Yu. I. Bazhora, Ya. V. Rozhkovskiy, P. B. Antonenko, V. I. Kresyun, K. O. Antonenko**  
**An impact of CYP2E1 genotype on the blood concentration of antituberculosis agents**

Among the activities that can improve the quality of treatment of the patients with pulmonary tuberculosis (TB), personification of chemotherapy is occupied an important place. It is known that cytochrome CYP2E1 is involved in the metabolism of numerous xenobiotics, presumably including anti-tuberculosis drugs.

*The aim of this study* was to investigate the significance of CYP2E1 polymorphism for the concentration of isoniazid and rifampicin in blood serum of the patients with pulmonary TB during anti-TB therapy.

For this purpose, the PCR was used for detection of CYP2E1 polymorphism in 90 patients with newly diagnosed pulmonary TB. At the beginning of treatment, the level of isoniazid and rifampicin in the blood was measured 2, 4, 6 and 24 h after the administration of anti-tuberculosis drugs.

It was established that among 90 tuberculosis patients, 80 (88.9 %) individuals had the \*DD genotype, 8 (8.9 %) and 2 (2.2 %) individuals had the \*CD and \*CC genotypes correspondently. During 24 h after the isoniazid administration there were no significant differences in the concentration of isoniazid in the blood

---

---

serum of individual with different *CYP2E1* genotypes, although in carriers of the *\*DD* genotype the isoniazid level was slightly lower than in carriers of the *\*CD*, *\*CC* genotypes. Approximately 17–18 h after the administration, the isoniazid concentration dropped below the minimal therapeutic level (0.5 mcg/ml) in both groups. In general, 2 h after administration, in the carriers of *\*DD* genotype the rifampicin concentration was 11.71 mg/kg and in the carriers of *\*CD*, *\*CC* genotype – 12.70 mcg/ml; 4 h after administration – 15.65 mcg/ml and 16.85 mcg/ml correspondently; after 6 h – 10.82 mcg/ml and 12.72 mcg/ml correspondently. At the same time in individuals with *\*DD* genotypes, a rifampicin concentration 6 h after its administration was 17.5 % lower than in patients with *\*CD*, *\*CC* genotypes ( $P < 0.05$ ; CI = -3.39...- 0.48). A day after rifampicin administration about 30 % of the patients who were carriers of genotypes *\*CD*, *\*CC*, and 71.3 % of the carriers of genotype *\*DD* had a subtherapeutic concentration of rifampicin in the blood. Therefore, cases of subeffective concentration of rifampicin were observed 2.1 times less common in carriers of variant alleles than in patients with the *\*DD* genotype ( $P < 0.05$ ;  $\chi^2 = 5.34$  with a critical value of  $\chi^2 = 3.84$ ).

Thus, the determination of the *CYP2E1* genotype is an important predictor of the content of rifampicin in the blood serum, the effectiveness of treatment, the drug-induced liver-injury during the treatment of TB as well as the risk of acquired drug-resistance of *M. tuberculosis*.

*Key words: gene polymorphism, CYP2E1, tuberculosis, rifampicin, isoniazid, blood concentration*

---

Надійшла: 2 грудня 2022 р.

Прийнята до друку: 21 грудня 2022 р.

---

**Контактна особа:** Антоненко Петро Борисович, доктор медичних наук, професор, кафедра фармакології та фармакогнозії, Одеський національний медичний університет, буд. 2, Валіховський пров., м. Одеса, 65082. Тел.: + 38 0 97 587 56 36.  
Електронна пошта: petrosantonenko@gmail.com