

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

На правах рукопису

АНТОНЕНКО Петро Борисович

УДК [615+577.21]: 616-002.5: 615.28

ВПЛИВ ПОЛІМОРФІЗМУ ПРОЦЕСІВ БІОТРАНСФОРМАЦІЇ ЛІКІВ НА
ЕФЕКТИВНІСТЬ ПРОТИТУБЕРКУЛЬОЗНОЇ ХІМІОТЕРАПІЇ У ЛЮДИНИ

14.01.28 – клінічна фармакологія

Дисертація
на здобуття наукового ступеня
доктора медичних наук

Науковий консультант:
Кресюн Валентин Йосипович,
чл.-кор. НАМН України,
заслужений діяч науки і техніки
України, доктор медичних наук,
професор

Одеса – 2015

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ.....	5
ВСТУП.....	6
РОЗДІЛ 1 ФАРМАКОГЕНЕТИЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ Й ІНШІ ШЛЯХИ ПОЛІПШЕННЯ ЛІКУВАННЯ ТУБЕРКУЛЬОЗУ (огляд літератури).....	14
1.1. Фармакогенетичні особливості процесів біотрансформації ксенобіотиків у людини	14
1.2. Сучасні проблеми туберкульозу.....	21
1.3. Протитуберкульозні препарати.....	31
1.4. Фармакогенетичні особливості збудника туберкульозу, що призводять до медикаментозної резистентності.....	47
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	67
2.1. Характеристика ретроспективних і проспективних методів дослідження.....	67
2.2. Молекулярно-генетичні методи, використані для генотипування хворих і здорових добровольців.....	70
2.3. Методи вимірювання концентрації протитуберкульозних препаратів в крові хворих	73
2.4. Методи, використані для оцінки стану про- і антиоксидантної систем	76
2.5. Молекулярно-генетичні і бактеріологічні методи, вивчення медикаментозної резистентності і ідентифікації мікобактерій туберкульозу.....	77
РОЗДІЛ 3 ВИЗНАЧЕННЯ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ <i>CYP2C9</i> , <i>CYP2C19</i> , <i>CYP2E1</i> , <i>NAT2</i> СЕРЕД ЗДОРОВИХ ДОБРОВОЛЬЦІВ І ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ ЛЕГЕНЬ..	88

	3.1. Вивчення поліморфізму генотипів <i>CYP2C9</i> , <i>CYP2C19</i> серед здорових добровольців.....	88
	3.2. Дослідження поширеності різних генотипів <i>CYP2E1</i> , <i>NAT2</i> у здорових добровольців.....	96
	3.3. Особливості поліморфізму генотипів <i>CYP2C9</i> , <i>CYP2C19</i> у хворих на туберкульоз легень.....	106
	3.4. Варіативність генотипів <i>CYP2E1</i> , <i>NAT2</i> серед хворих на туберкульоз легень.....	114
РОЗДІЛ 4	ЗНАЧЕННЯ ПОЛІМОРФІЗМУ ПРОЦЕСІВ БІОТРАНСФОРМАЦІЇ ДЛЯ КОНЦЕНТРАЦІЇ ІЗОНІАЗИДУ ТА РИФАМПІЦИНУ.....	127
	4.1. Концентрація рифампіцину і ізоніазиду у хворих на туберкульоз з різними генотипами <i>CYP2C19</i> , <i>CYP2C9</i>	127
	4.2. Особливості концентрації рифампіцину і ізоніазиду у хворих на туберкульоз з різними генотипами <i>CYP2E1</i> , <i>NAT2</i>	141
РОЗДІЛ 5	ЕФЕКТИВНІСТЬ ЛІКУВАННЯ ТУБЕРКУЛЬОЗУ ЛЕГЕНЬ В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ГЕНЕТИЧНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ ПРОЦЕСІВ БІОТРАНСФОРМАЦІЇ ХВОРИХ.....	153
	5.1. Наслідки лікування туберкульозу легень в залежності від генотипу <i>CYP2C19</i>	153
	5.2. Ефективність лікування туберкульозу легень в залежності від генотипу <i>CYP2C9</i>	164
	5.3. Наслідки лікування туберкульозу легень в залежності від генотипу <i>CYP2E1</i>	177
	5.4. Особливості перебігу туберкульозу легень в залежності від генотипу <i>NAT2</i>	188
РОЗДІЛ 6	ЕФЕКТИВНІСТЬ ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ ЛЕГЕНЬ ЗАЛЕЖНО ВІД КОНЦЕНТРАЦІЇ ІЗОНІАЗИДУ І РИФАМПІЦИНУ В КРОВІ.....	202

6.1.	Ефективність лікування туберкульозу легень в залежності від концентрації ізоніазиду в крові.....	202
6.2.	Динаміка лабораторних показників у хворих на туберкульоз залежно від вмісту ізоніазиду в крові....	207
6.3.	Результати лікування туберкульозу легень в залежності від концентрації рифампіцину в крові	218
6.4.	Лабораторні показників у хворих на туберкульоз в залежності від вмісту рифампіцину в крові.....	223
РОЗДІЛ 7	МЕДИКАМЕНТОЗНА РЕЗИСТЕНТНІСТЬ І ГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ ШТАМІВ <i>M.tuberculosis</i> , ОТРИМАНИХ ВІД ХВОРИХ ТУБЕРКУЛЬОЗОМ.....	235
7.1.	Фармакогенетичне дослідження медикаментозної резистентності збудника туберкульозу.....	235
7.2.	Особливості туберкульозу легень, викликаного мультирезистентними штамми <i>M. tuberculosis</i>	244
7.3.	Генотипування штамів збудника <i>M.tuberculosis</i> , отриманих від хворих на туберкульоз.....	257
РОЗДІЛ 8	АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	265
8.1.	Особливості поліморфізму генів детоксикації у хворих на туберкульоз легень.....	265
8.2.	Вплив поліморфізму генів родини <i>CYP</i> і <i>NAT2</i> на фармакокінетику протитуберкульозних препаратів.....	275
8.3.	Значення поліморфізму генів біотрансформації ліків і концентрації протитуберкульозних препаратів для лікування туберкульозу.....	280
8.4.	Медикаментозна резистентність <i>M.tuberculosis</i> і фактори, що впливають на неї.....	289
	ВИСНОВКИ.....	294
	ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	299
	ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	300

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ,
СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

- АлАТ – аланінамінотрансфераза
АОС – антиоксидантна система
АсАТ – аспартатамінотрансфераза
ВКІ – висока концентрація ізоніазиду
ВКР – висока концентрація рифампіцину
ГГТ – гамма-глутамілтрансфераза
ДК – дієнові кон'югати
МБТ – мікобактерія туберкульозу
НКІ – низька концентрація ізоніазиду
НКР – низька концентрація рифампіцину
ПА – повільні ацетилятори
ПЛР – полімеразно ланцюгова реакція
п. н. – пара нуклеотидів
ПОЛ – перекисне окиснення ліпідів
ТБ – туберкульоз
ША – швидкі ацетилятори
ШОЕ – швидкість осідання еритроцитів
AUC – «площа під кривою»
СYP-450 – цитохром Р-450
DOTS – Directly Observed Treatment Short course (безпосереднє контрольоване лікування коротким курсом)
МСНС – mean cell hemoglobin concentration (середня концентрація гемоглобіну в еритроциті)
MDR – multidrug resistance (мультирезистентність)
Mean±SEM – середнє значення ± стандартна похибка середньої
MIRU – Mycobacterium Interspersed Repetitive Units (вставлені одиниці, щоповторюються, мікобактерій)
MRT – mean residence time (середній час утримання препарату)
NAT2 – N-ацетилтрансфераза 2
VNTR – Variable Number Tandem Repeats (варіативна кількість тандемних повторів)
wt – wild type (дикий або немутований алель)

ВСТУП

Актуальність теми. Незважаючи на досягнення медичної науки, проблеми ефективної і безпечної фармакотерапії зберігають актуальність на даний час. Відомо, що індивідуальна фармакологічна відповідь залежить від безлічі факторів, серед яких важливе місце займають генетичні особливості пацієнта. Одним із перспективних шляхів підвищення ефективності і безпеки лікування є впровадження в клінічну практику спеціальних технологій (персоніфікованої медицини), що базуються на індивідуальному підході до вибору препарату та його режиму дозування [Heller F., 2013]. Генетичний поліморфізм впливає на активність низки цитохромів (CYP), таких як *CYP 2D6*, *2C9*, *2C19*, що може змінити ефективність багатьох препаратів (варфарин, клопідогрел, тамоксифен, кодеїн тощо) [Mirghani R. A. et al., 2011]. Також поліморфізма гена *N-ацетилтрансферази 2 (NAT2)* визначає швидкість інактивації протитуберкульозного препарату ізоніазиду [Sim E. et al., 2014]. Відомо про значні між-етнічні відмінності щодо поширеності тих або інших генотипів CYP, що визначає розбіжності в активності препарату в різних країнах [Dandara C. et al., 2011]. Тому слід проводити національні скринінгові дослідження для з'ясування особливостей генотипу в окремих регіонах світу.

Серед важливих медико-соціальних проблем України помітне місце займає туберкульоз (ТБ) легень. За рівнем захворюваності на ТБ, який у 2012 р. становив 68,1 випадків на 100 тис населення, Україна належить до країн з високою захворюваністю [Білогорцева О. І., 2013; Фещенко Ю. І. та співавт., 2013]. Особливою проблемою є поширення штамів мікобактерій туберкульозу (МБТ) з мультирезистентністю (одночасна резистентність до ізоніазиду і рифампіцину) або розширеною резистентністю (додаткова резистентність до фторхінолонів і аміноглікозидів) [Петренко В. М. та співавт., 2011; Velásquez G. E. et al., 2014]. Згідно даних ВООЗ, в Україні мультирезистентну форму мають 16 % хворих із новими (первинна резистентність) та 44 % хворих з повторними (вторинна або набута) випадками ТБ легень [Ковальова Г. Г., 2013; Фещенко

Ю. І. та співавт., 2013]. У хворих з розширеною резистентністю виліковування досягається важче, ніж у хворих з мультирезистентним ТБ легень – відповідно у 20–30 % випадків проти 60–70 % [Фещенко Ю. І. та співавт., 2013].

Рутинне визначення медикаментозної резистентності МБТ проводиться за допомогою мікробіологічного методу посіву та потребує багато часу і зусиль лабораторного персоналу [Lam E. et al., 2014]. У зв'язку з цим, необхідно розробляти методи, що забезпечують більш швидкі і точні результати виявлення резистентності МБТ. Найбільш перспективними є молекулярно-генетичні методи, які дозволяють виявляти в генотипі МБТ мутації, пов'язані з медикаментозною резистентністю. Так, на сьогодні встановлено, що найчастіше у ізоніазид-резистентних штамів МБТ відзначаються мутації в генах *katG* і *inhA* [Lam E. et al., 2014]. Тому визначення цих мутацій має покращити ефективність виявлення медикаментозної резистентності.

Однією з причин розвитку медикаментозної резистентності МБТ може бути недостатня сироваткова концентрація протитуберкульозних препаратів. Досить часто в крові у хворих на ТБ легень відзначається низька концентрація протитуберкульозних препаратів, хоча клінічне значення цього явища залишається контраверсійним [Um S. W. et al., 2007]. На теренах України практично не проводились дослідження концентрації протитуберкульозних препаратів в крові хворих під час лікування. Особливо це важливо після впровадження у 2006 р. нової стратегії лікування туберкульозу в Україні, що передбачає значне зменшення дози ізоніазиду [наказ МОЗ України від 24.05.2006 р. № 318].

У зв'язку з цим, першочерговою задачею клінічної фармакології ТБ постає з'ясування комплексного взаємозв'язку між патогеном, організмом людини і дією протитуберкульозних препаратів, що дозволить впровадити генотипування як корисний інструмент оптимізації фармакотерапії ТБ [McIlleron Helen et al., 2006; Singh N. et al., 2009; Matsumoto T. et al., 2014]. Даній проблемі і присвячена ця робота.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота є фрагментом держбюджетних комплексних науково-дослідних робіт МОЗ України, які виконувались кафедрою загальної та клінічної фармакології і кафедрою клінічної імунології, генетики та медичної біології Одеського національного медичного університету (ОНМедУ), за темами «Розробка критеріїв ефективності і безпечності фармакотерапії хворих на туберкульоз і гепатити різної етіології на підставі фармакогенетичних досліджень» (№ держреєстрації 0113U001634) і «Молекулярна епідеміологія штамів *M.tuberculosis* та генетичний поліморфізм метаболізму ксенобіотиків у хворих на туберкульоз у Південному регіоні України» (№ держреєстрації 0110U006662). Дисертант є співвиконавцем зазначених тем.

Мета і задачі дослідження. Метою роботи є вивчення впливу генетичних особливостей хворих, що пов'язані з біотрансформацією протитуберкульозних препаратів першого ряду, та збудника туберкульозу, які призводять до розвитку резистентності штамів, і впливають на ефективність і безпечність лікування.

Для досягнення зазначеної мети розв'язувалися такі задачі:

1. Визначити особливості поліморфізму генів біотрансформації ліків *CYP2C9*, *CYP2C19*, *CYP2E1* і *NAT2* в організмі здорових добровольців і хворих на туберкульоз легень в Одеському регіоні.
2. Дослідити вплив поліморфізму генів біотрансформації ліків, що досліджувались, на фармакокінетику найбільш ефективних протитуберкульозних лікарських препаратів – ізоніазиду і рифампіцину.
3. Вивчити значення поліморфізму генів *CYP2C9*, *CYP2C19*, *CYP2E1* і *NAT2* для ефективності лікування туберкульозу легень.
4. З'ясувати вплив поліморфізму генів біотрансформації ліків, що досліджувались, на токсичну дію протитуберкульозної терапії.
5. Визначити значення фармакокінетики ізоніазиду і рифампіцину для успішності хіміотерапії туберкульозу легень.
6. Вивчити вплив концентрації ізоніазиду і рифампіцину на розвиток

токсичних ефектів протитуберкульозної терапії.

7. З'ясувати фактори, що сприяють розвитку і поширенню мультирезистентних штамів *M.tuberculosis*.

8. Проаналізувати особливості мультирезистентних штамів збудника туберкульозу.

9. Дослідити динаміку поширеності медикаментозної резистентності та розробити експрес-методи її визначення у збудника туберкульозу.

10. Визначити комплексний вплив генетичного поліморфізму хворих на туберкульоз легень і штамів *M.tuberculosis* на ефективність і безпечність хіміотерапії туберкульозу.

Об'єкт дослідження – підвищення ефективності і безпечності фармакотерапії хворих на туберкульоз легень.

Предмет дослідження – встановлення генетичних особливостей хворих на туберкульоз легень, його збудника та фармакокінетичних параметрів протитуберкульозних препаратів, що впливають на ефективність і безпечність фармакотерапії.

Методи дослідження – фармакогенетичні, клініко-фармакологічні, молекулярно-біологічні, біохімічні, мікробіологічні, математичні, статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше за допомогою полімеразної ланцюгової реакції і ендонуклеазного аналізу встановлено поліморфізм генів детоксикації ксенобіотиків *CYP2C19*, *CYP2C9*, *CYP2E1* і *NAT2* серед хворих на туберкульоз легень в Одеському регіоні. Виявлено, що наявність генотипу «повільних метаболізаторів» *CYP2E1* у хворих на туберкульоз легень асоціюється з високою концентрацією рифампіцину в крові, генотипу «повільних ацетиляторів» *NAT2* – з високою концентрацією ізоніазиду, генотипу «повільних метаболізаторів» *CYP2C9* – з високою концентрацією обох препаратів.

Встановлено, що у хворих з генотипом «повільних метаболізаторів» *CYP2C9* і генотипом «повільних ацетиляторів» *NAT2* спостерігались найкращі результати стаціонарного лікування туберкульозу легень. Вперше показано, що

у «повільних метаболізаторів», згідно генотипу *CYP2E1* і *CYP2C9*, і «повільних ацетиляторів», згідно генотипу *NAT2*, відзначена висока активність маркерів цитолізу, що свідчить про підвищений ризик розвитку небажаних реакцій протитуберкульозного лікування у цієї категорії хворих. Доведено, що висока концентрація ізоніазиду в крові хворих супроводжувалась кращими результатами стаціонарного лікування, а також більш високою активністю маркерів цитолізу, ніж низька концентрація цього препарату. Вперше встановлено, що наявність генотипу «повільних ацетиляторів» *NAT2* або генотипу «повільних метаболізаторів» *CYP2C9* у хворих на туберкульоз легень асоціювалась з підвищеним ризиком розвитку мультирезистентності у *M.tuberculosis*.

За результатами дослідження отримано 2 патенти України, які присвячені молекулярно-генетичному методу виявлення мутації в гені *katG* (патент України № 56690 від 25.01.2011 р.) і методу екстракції рифампіцину із біологічних субстратів для вимірювання його концентрації (патент України № 88002 від 25.02.2014 р.).

Практична значення одержаних результатів. Наведені дані обґрунтовують доцільність дослідження генетичних особливостей процесів біотрансформації ксенобіотиків у хворих на туберкульоз легень, а також рівня найбільш ефективних протитуберкульозних препаратів – ізоніазиду і рифампіцину в крові хворих як важливих прогностичних маркерів перебігу і наслідків лікування, а також розвитку небажаних реакцій. Це дозволить індивідуалізувати фармакотерапію туберкульозу легень у кожного окремого хворого, що має поліпшити результати його лікування. Доведено доцільність та інформативність експрес-діагностики ізоніазид-резистентності штамів *M.tuberculosis* шляхом визначення мутацій в генах *katG* і *inhA* збудника.

За результатами дослідження опубліковано 1 методичні рекомендації МОЗ України, 2 інформаційних листи МОЗ України, нововведення у Реєстрі галузевих нововведень,.

Результати роботи впроваджено в навчальний процес кафедри

фармакології і кафедри клінічної фармації та клінічної фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова, кафедри фармакології, клінічної фармакології та фармакоеконіміки і кафедри загальної та клінічної фармації ДЗ «Дніпропетровська державна медична академія», кафедри фармакології і кафедри клінічної фармакології та фармакотерапії ДЗ «Луганський державний медичний університет», кафедри фармакології Національного фармацевтичного університету, кафедри експериментальної та клінічної фармакології з клінічною імунологією та алергологією ВДНЗ «Українська медична стоматологічна академія», кафедри фтизіопульмонології і кафедри клінічної імунології, генетики та медичної біології Одеського національного медичного університету, в лікувально-діагностичну роботу Одеського обласного протитуберкульозного диспансеру (ООПТД).

Особистий внесок дисертанта. Автором особисто проведено патентно-інформаційний пошук, сформульовано мету і завдання дослідження, здійснено планування, виконано фармакогенетичні, клініко-фармакологічні*, молекулярно-біологічні, біохімічні, мікробіологічні дослідження; проведено статистичну обробку отриманих даних, які оформлено у вигляді таблиць та рисунків; проаналізовано та узагальнено результати досліджень; опубліковано та апробовано основні дані, а також написано та оформлено дисертацію й автореферат.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи були апробовані на VII Національному з'їзді фармацевтів України «Фармація України. Погляд у майбутнє» (Харків, 2010); науково-практичній конференції «Безпечність ліків і фактори ризику небажаних ефектів фармакотерапії» (Тернопіль, 2010); XV ювілейній міжнародній науково-практичній конференції «Спортивна медицини, лікувальна фізкультура та валеологія» (Одеса, 2010); 41 Всесвітній конференції з захворювань легень

* Автор висловлює глибоку вдячність за консультативну допомогу д.б.н., професору О. В. Жук (Opole University, Poland).

(Берлін, Німеччина, 2010); II міжнародній науково-практичній конференції «Интегративный подход к проблемам туберкулеза и ВИЧ-инфекции» (Гомель, Білорусь, 2011); IV Національному з'їзді фармакологів України (Київ, 2011); XI і XII з'їздах всеукраїнського лікарського товариства (Харків, 2011; Київ, 2013); міжнародній конференції INSPiR (Кишинів, Молдова, 2011); науково-практичній конференції «Біохімічні основи патогенезу ураження внутрішніх органів різної етіології та способи їх фармакологічної корекції» (Тернопіль, 2011); ювілейній конференції «Біофізичні стандарти та інформаційні технології в медицині» (Одеса, 2011); науково-практичній конференції «Актуальні питання професійної патології» (Одеса, 2011); Національному конгресі «Клінічна фармація: 20 років в Україні» (Харків, 2013); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Медико-соціальні проблеми туберкульозу в Україні» (Київ, 2013); XXX науково-практичній конференції з міжнародною участю «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (Харків, 2013); V з'їзді фтизіатрів і пульмонологів України (Київ, 2013); міжнародній науково-практичній конференції «Вітчизняна та світова медицина: вимоги сьогодення» (Дніпропетровськ, 2013); VII Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю з клінічної фармакології (Вінниця, 2013); науково-практичній конференції «Сучасні аспекти медицини і фармації Півдня України» (Одеса, 2013); IV Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Аспекти розвитку фармацевтичних та медичних досліджень на сучасному етапі» (Луганськ, 2014); IX Південноукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні проблеми внутрішньої медицини - класичні уявлення та сучасні тенденції» (Одеса, 2014); міжнародній конференції «Актуальные вопросы медицины» (Актобе, Казахстан, 2014); науковій конференції «XIII–е чтения В. В. Подвысоцкого» (Одеса, 2014); X міжнародній науково-практичній конференції «Наукові дослідження – теорія та експеримент '2014» (Полтава, 2014).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 60 наукових робіт, з

яких 19 статей в наукових журналах, рекомендованих МОН України (з них 5 у наукометричних журналах), 8 статей - в іноземних виданнях, які включені до міжнародних наукометричних баз, методичні рекомендації МОЗ України, 2 інформаційних листи МОЗ України, 2 патенти України, 28 тез доповідей на конференціях, з'їздах та конгресах.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена на 345 сторінках комп'ютерного тексту, складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, 5 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів, висновків, списку використаних джерел. Робота ілюстрована 82 таблицями і 83 рисунками. Бібліографічний покажчик включає 369 джерел, з них 73 – кирилицею.

РОЗДІЛ 1

ФАРМАКОГЕНЕТИЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ Й ІНШІ ШЛЯХИ
ПОЛПШЕННЯ ЛІКУВАННЯ ТУБЕРКУЛЬОЗУ

(огляд літератури)

1.1. Фармакогенетичні особливості процесів біотрансформації
ксенобіотиків у людини

Здавна лікарі відзначали наявність відмінностей щодо ефективності і побічних ефектів при призначенні тих самих препаратів різним особам. Генетичний фактор розглядається як потенційна умова, що може пояснити цю варіативність. Фармакогенетика фокусується на варіантах (поліморфізмах) в одному або кількох генах-кандидатів, водночас фармакогеноміка оцінює цілий геном щодо асоціації з фармакологічними фенотипами [1].

Генетичний поліморфізм може впливати на метаболізм і транспорт ліків або їх фармакологічну активність [1]. Відомо, що біотрансформація лікарських препаратів проходить у два етапи: 1) перетворення проліків в активні сполуки або перетворення лікарських сполук в токсичні чи неактивні метаболіти, головним чином шляхом через реакції, які каталізуються цитохромами (CYP) 450 (фаза I - метаболізм); 2) трансформацію ліків в сполуки, які є більш водорозчинними і легше виділяються (фаза II – кон'югація). Генетичний поліморфізм впливає на активність низки CYP, таких як *CYP 2D6*, *2C9*, *2C19*, що може змінити ефективність низки препаратів, наприклад кодеїну, тамоксифену, клопідогрелу, варфарину тощо або впливає на ферменти другої фази – тіопурин-метилтрансферази, N-ацетилтрансферази та ін., що може змінити ефективність дії таких препаратів, як 5-фторурацилу, азатіоприну, ізоніазиду тощо. Активність білків, які приймають участь у транспорті лікарських сполук до або з клітин, наприклад протимікробних засобів, гіполіпідемічного препарату симвастатину, також обумовлюється генетично.

Генетичний фактор може модифікувати субстрат («мішень») для лікарських препаратів, наприклад мутації клітин пухлини можуть обумовлювати їх більшу або меншу чутливість до хіміотерапевтичних засобів.

Поліморфізм генів також має велике значення в становленні і прогресуванні багатьох захворювань [18]. Порівняльний аналіз відмінностей між геномними профілями груп хворих людей і контрольних груп здорових пацієнтів дозволяє виявляти гени, відповідальні за розвиток певної патології. На теперішній час опубліковані дані про декілька тисяч поліморфізмів, що впливають на зміну біохімічних і фізіологічних процесів в організмі людини, зокрема відомо про 2000 мутацій, так званих одиночних нуклеотидних поліморфізмах (single nucleotide polymorphisms або SNPs), що впливають на активність CYP [19]. Найбільш важливим є поліморфізм *CYP 1A2, 2D6, 2C9* і *2C19*. Наприклад, фермент CYP 2C9 може утворювати як судинозвужуючі, так і судинорозширюючі сполуки, однак продукція перших переважає, зокрема під час відпочинку та фізичного навантаження [20]. Наявність варіантного алеля *CYP 2C9*3* пов'язують з меншим рівнем загальних тригліцеридів і ліпопротеїдів низької щільності, ніж у «диких» гомозигот (тобто при відсутності варіантних алелів) [21]. Система цитохрому P-450 впливає на апоптоз, тому поліморфізм ферментів CYP-450 визначати чутливість організму людини до ТБ. Встановлено, що алель А, генотип АG гена *CYP2C19* і алель G, генотип GG гена *CYP3A5* асоціюються зі зменшеною чутливістю до ТБ [22]. Встановлена наявність асоціації поліморфізму гена *CYP2C19* і розвитком есенціальної гіпертензії - наявність варіантного алеля *CYP2C19*3* асоціюється зі зниженим ризиком розвитку гіпертензії [23]. Ціла низка ізоферментів мікосомних CYP (наприклад, *CYP2J2, CYP 2C8, CYP 2C9, CYP 4F*) можуть відігравати важливу роль в патогенезі ішемії-реперфузії [24]. Мікосомальні CYP можуть бути мішенню для нових препаратів для корекції ішемічного-реперфузійного пошкодження міокарда. Мітохондріальні CYP, що приймають участь в синтезі стероїдних гормонів, також можуть стати мішенню для медикаментозної кардіопротекції [24]. Зокрема, *CYP 11A1* і *CYP 27A1* можуть

відігравати роль у підтриманні функції мітохондрій шляхом обмеження утворення і посилення елімінації токсичних оксистеролів [24]. Встановлено зв'язок між поліморфізмом *CYP2C9* 430C>T і ризиком розвитку колоно-ректального раку і аденоми [25]. Поліморфізм *CYP2C9* асоціюється з більш високою мінеральною щільністю кісток, ніж при відсутності мутацій в даному гені [26].

Цитохром 2E1 (ген *CYP2E1*) приймає участь в ушкодженні клітин шляхом утворення реактивних продуктів окиснення і бере участь у метаболізмі ацетону, бензолу, бензопірену, тетрахлористого вуглецю та інших сполук [18]. В результаті утворюються перекис водню і вільнорадикальні пероксид і гідроксил, що викликає пошкодження органів і, перш за все, печінки. Зміна кількості або активності ферменту призводить до зміни ризику пошкодження організму. Фермент бере участь також у виведенні з організму N-нітрозамінів тютюнового диму – канцерогенів, які також викликають рак грудей. У США проводилося дослідження пацієток перед і після менопаузи [18]. Було виявлено, що наявність поліморфізму *DraI-C* гена *CYP2E1* у пацієток, які палили, перед менопаузою, є чинником ризику захворювання на рак грудей. Навіть при незначному курінні (одна сигарета на тиждень) протягом більше одного року наявність у пацієток гетерозиготного генотипу *DraI-T / C* призводить до збільшення ризику захворювання на рак грудей більш, ніж у 7 разів [18]. Отже, знання генетичних основ патологічного процесу забезпечує можливість визначення генетичних особливостей захворювання окремого пацієнта (генодіагностика), на підставі чого складають рекомендації з проведення повноцінного комплексу профілактичних заходів.

Генотипування, яке має колосальне значення для медицини, є комплексом заходів, що включає побудову індивідуальних генетичних карт, збір і аналіз усієї сукупності даних за поліморфізмом у певній групі населення (популяції), визначення медичної значущості мутацій і, в кінцевому підсумку, картування захворювань за групами. Безперечно, впровадження в медицину такого підходу розширить арсенал методів терапії, можливо, і генотерапії. З'являється науково

обґрунтований метод, завдяки якому з певним ступенем імовірності можна оцінити ризик розвитку тих чи інших захворювань у будь-якої людини, а при застосуванні спеціально розроблених профілактичних заходів – відтермінувати їх прояв. У багатьох розвинених країнах світу (США, Франції, Канаді, Німеччині, Великобританії, Японії) реалізація програм генетичної паспортизації вже розпочата і здійснюється за фінансової підтримки урядових, регіональних і приватних фондів [27].

Стосовно біотрансформації лікарських сполук, специфічний поліморфізм родини ферментів СYP-450 пов'язаний з фенотипами, які називаються «ультра», «помірний» і «повільний» по відношенню до «швидкого» метаболізатора, який асоціюється з «диким» генотипом (тобто з немутованими алелями) [27]. Серед 57 СYP людини, що відомі, близько десятка ферментів, які належать до родин СYP1, 2 і 3, відповідають за біотрансформацію близько 70-80% всіх ліків, що використовуються [28]. Можливо, що мембрана клітин ссавців сприяє зв'язуванню ліпофільних субстратів (в тому числі і ліків) шляхом стабілізації білкової конформації, що свідчить про надходження та вихід специфічного субстрату відносно ферментів родини СYP [29]. Найбільш експресованими в печінці є СYP 3A4, 2C9, 2C8, 2E1 і 1A2, водночас 2A6, 2D6, 2B6, 2C19 і 3A5 є менш поширеними, а такі СYP як 2J2, 1A1 і 1B1 експресовані головним чином поза печінки. Експресія кожного СYP визначається комбінацією унікальних механізмів і факторів, включаючи генетичний поліморфізм, індукцію ксенобіотиками, регуляцію цитокінами і гормонами, наявність патологічних процесів, а також віком, статтю тощо. Мультиалельні генетичні поліморфізми, які в значній мірі залежать від етнічного фактору, відіграють провідну роль в активності СYP 2D6, 2C19, 2C9, 2B6, 3A5 і 2A6. Саме для цих СYP постійно збільшуються дані щодо впливу на побічні ефекти, ефективність і дозування препаратів.

Відомо про значні міжетнічні відмінності щодо поширеності тих або інших генотипів СYP [2,4], що буде визначати різну активність препарату серед різних етнічних груп. Наприклад, серед населення азійських країн варіантний

алель *CYP2C19*2* є більш поширеним, ніж серед мешканців Європи, що асоціюється з резистентністю до антиагрегантного засобу клопідогрелу [30]. Це збільшує ризик інфаркту міокарда і тромбозу стентів [31,32]. Тому слід проводити національні скринінгові дослідження для з'ясування особливостей генотипу в окремих регіонах світу. Значення поліморфізмів CYPs 1A1, 1A2, 2C8, 2E1, 2J2 3A4 є менш доведеним, хоча новітні дані відносно CYP3A4 доводять важливість поліморфізму відповідного гена [28]. Розуміння відносних змін в активності ферментів або рівня кліренсу специфічних препаратів відносно до генотипу особи є важливим компонентом розуміння фармакогеномних даних для персоналізованого лікування. Для з'ясування CYP-опосередкованої фенотипової метаболічної реакції використовують рекомбінантні ферменти і мікросоми печінки людини разом з застосуванням селективних інгібіторів і антитіл інгібіторів [33].

Пригнічення ферментів CYP відіграє важливу роль при лікуванні низки хвороб таких, як багатьох ракових захворювань і грибкових інфекцій, що спричиняє взаємодію між лікарськими препаратами [34]. Взаємозв'язок між активністю і структурою (SAR), що вивчають за допомогою тривимірного кількісного структура-активність взаємозв'язку (3D-QSAR), представляє важливий інструмент для розуміння взаємодії інгібіторів з активними центрами ферментів CYP. Застосування механізму QSAR відносно ферментів CYP1A1, 1A2, 1B1, 2A6, 2B6, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1, 3A4 дозволяє з'ясувати активні центри ферментів і взаємодію між ферментами та їх інгібіторами [34]. Також є модель передбачення впливу поліморфізму гена CYP на активність препарату. Для цього співвідносять параметр «площа під кривою» з двома параметрами: фракційним внеском дослідженого CYP з пероральним кліренсом *in vivo* і фракційною активністю комбінації алелей відносно «диких» гомозигот [20]. Існує метод передбачення місця метаболізму нової лікарської сполуки шляхом молекулярного орбітального аналізу положення ліганду, обрахованого з використанням теорії функціональної щільності. Це дозволяє передбачити продукти метаболізму нової сполуки [35]. За допомогою біоінформаційних

програм стає можливим застосування сучасних методів (*in silico*) вивчення поліморфізму генів CYP. Так, за допомогою вказаних підходів було вивчено рівень поліморфізму і гомології гена CYP3A4, створено дизайн праймерів, підібрані рестриктази і передбачено продукти ампліфікації для вивчення поліморфізму вище згаданого гена [36].

Показовими є фармакогенетичні дослідження активності варфарину – перорального антикоагулянта, який застосовують для профілактики тромбозів, тромбоемболій при фібриляції / тріпотінні передсердь. Сила антикоагулянтного ефекту визначається індивідуальною чутливістю, обумовленою генетичним поліморфізмом *CYP2C9* і вітамін К епоксид редуктази (*VKORC1*) [37,38]. Аби уникнути передозування, що приводить до кровотеч при лікуванні носіїв алелів *2 і *3, доцільно знижувати дозу варфарину. При лікуванні носіїв алелів *CYP2C9**3 необхідно знижувати дози таких препаратів: фенітоїну – при лікуванні епілепсії [39], кетопрофену – при запальних процесах [40], гліклазиду – при інсуліннезалежному діабеті [41] тощо. Доведено, що наявність варіантного алеля *3 посилює гіпохолістеринемічний ефект флувастатину [42]. Розроблено алгоритм підбору дози варфарина, який враховує генотип *CYP2C9* і *VKORC1*, а також етнічну приналежність, вік, зріст, вагу пацієнта, введення інших лікарських препаратів, які можуть змінювати активність вище зазначених ферментів (протигрибкові азоли, макроліди, карбамазепін, фенітоїн тощо) [42-45].

На сьогоднішній день в практичній медицині вже започатковано з'ясування поліморфізму низки генів, зокрема генетичне тестування гена *CYP2C9* перед введенням антикоагулянту варфарину, гена *CYP2C19* перед введенням антиагреганту клопідогрелу, гена тіопурин-метилтрансферази перед введенням тіопуринових препаратів (азатіоприну), також відомі декілька біомаркерів в онкології [1,27,37]. З'ясування поліморфізму гена *CYP2C19* дозволяє визначити групи, в якій ефект клопідогрелу значно знижений – в цій групі, як альтернативні можна призначати прасугрел і тікагрелор [37,46]. Існує ще кілька тестів, важливість яких для дії лікарських препаратів доведена, але

тести ще широко не запроваджені – визначення поліморфізму гена *CYP2D6* для дії тамоксифену і кодеїну, гена *CYP2C19* для дії інгібіторів протонної помпи. Складності застосування фармакогенетичних досліджень в практичній медицині пов'язані з багатьма факторами, зокрема поганим дизайном майбутнього дослідження, недостатньою кількістю спостережень, гетерогенністю серед хворих в популяціях і фенотипах. Для покращення ефективності досліджень слід застосовувати секвенуючі технології нового покоління, розробити чітке визначення фенотипу і залучати багатоцентрові дослідження, що дозволить не тільки збільшити кількість спостережень, але і відтворити зв'язок і підтвердити результати в різних етнічних групах [47].

Також важливим є і поліморфізм генів другої фази біотрансформації – кон'югації, наприклад N-ацетилтрансферази. Ариламін-N-ацетилтрансферази (NATs) є унікальною групою ферментів, що відіграють важливу роль у детоксикації лікарських засобів (гідралазин, сульфаніламід, ізоніазид тощо) і активації канцерогенів [3,48]. У людини присутні два ізоферменти (NAT1 і NAT2), що кодуються поліморфними генами. Значні варіації щодо ацетилювання ліків пов'язані з поліморфізмом гена *NAT2*. Фермент NAT1 метаболізує р-аміносаліцилати і катаболіт фолатів – пара-амінобензоїлглутамат [3,49]. Фермент NAT2 синтезується, головним чином, в печінці, але визначається в незначних кількостях в інших тканинах: в шкірі, легенях, нирках; NAT1 – в багатьох тканинах дорослих і ранніх ембріонів [50]. Інгібітори NAT1 у людини можуть допомогти у виявленні раку грудей і хіміотерапії пухлин [49]. Відомо, що поліморфізм *NAT2* впливає на виникнення раку сечового міхура [51]. Поліморфізм гена *NAT2* визначає швидкий, помірний і повільний типи ацетилювання. З одного боку, генотип повільного NAT2 ацетилятора може бути важливою детермінантою розвитку та клінічного перебігу пародонтиту, цукрового діабету, бронхіальної астми, раку сечового міхура тощо [52-54]. З іншого боку, поліморфізм *NAT2* має значення для швидкості інактивації і відповідно концентрації різних лікарських препаратів, включаючи протитуберкульозний препарат ізоніазид, антиаритмічний препарат

новокаїнамід тощо [55]. Таким чином, визначення генотипу/фенотипу NAT2 може служити як допоміжний метод для покращення ефективності фармакотерапії і мінімізації побічних ефектів під час лікування низки захворювань, зокрема туберкульозу.

Водночас залишаються і складнощі. Наприклад, необхідні подальші дослідження для кращого розуміння клінічного значення і доцільності цих тестів. Вважається, що у майбутньому фармакогенетика/геноміка зможуть допомогти на шляху персоналізації лікування, надаючи лікарю допомогу у виборі потрібного препарату для певного пацієнта, що має поліпшити ефективність і безпечність лікування. Крім того, знання генетичних особливостей розвитку захворювань допоможе в майбутньому розробити рекомендації щодо модифікації способу життя з метою запобігання виникненню певних хвороб [18]. В той же час в Україні відзначається недостатня кількість фармакогенетичних досліджень.

1.2. Сучасні проблеми туберкульозу

Туберкульоз (ТБ) – це інфекційне захворювання, яке спричиняється *Mycobacterium tuberculosis* (МТБ) і яке вбиває щорічно 2 мільйона людей в усьому світі [56]. Близько 2 мільярди осіб у світі є носіями латентної інфекції, серед яких у 10% може відбутись перехід латентної (сплячої) форми в активний ТБ. У зв'язку з величезним резервуаром латентного ТБ, важливими є пошук нових препаратів або їх комбінацій, здатних вбивати «сплячі» бацили, що виживають десятиліттями в гранулематозних осередках в легенях хворих на ТБ [56].

Стан епідемічної ситуації в Україні з ТБ за період 2006-2010 рр. характеризується нестійкою тенденцією до зменшення показників захворюваності та смертності. Згідно офіційної статистики, в Україні в 2010 р. відзначалось зниження захворюваності на туберкульоз із 72,7 у 2009 р. до 68,4 на 100 тис. населення [57]. Ці дані свідчать про стабілізацію епідемії ТБ в

Україні з 2006 р. і про недостатню ефективність існуючих протитуберкульозних заходів [58]. Водночас у 2012 р. в Україні відбулось невелике збільшення захворюваності на туберкульоз із 67,2 у 2011 р. до 68,1 випадків на 100 тис. населення (на 1,3 %), що є близьким до індикативного прогностичного показника 2015 року — 67,5 випадків на 100 тис. населення [5,6]. Рівень смертності від ТБ за період 2006-2012 рр. знизився на 40,0 % і становив у 2012 році 15,1 випадку на 100 тис. населення, і майже досяг індикативного прогностичного рівня 2015 року — 15,0 [6]. Проте, незважаючи на позитивні зміни відносно показників захворюваності та смертності від ТБ, епідемічна ситуація в Україні залишається нестійкою. За період 2009-2012 рр. відмічається уповільнення темпів зниження рівня захворюваності на туберкульоз майже в 2,0 рази. Так, з 2005 до 2009 року захворюваність знизилась на 13,6 %, а з 2009 до 2012 року — на 6,3 % [5].

У 2011 р. захворюваність на туберкульоз в Одеській області, порівняно з 2010 р., зросла на 13,4 % і становила 87,8 на 100 тис. населення, що на 20 % перевищує загальні показники по Україні. Смертність від ТБ у Одеській області за 2009—2011 рр. знизилась на 5,1 %, порівняно з 2009 р. та на 0,1 % — порівняно з 2010 р., але в той же час перевищує середні показники по країні на 1,9 % [59].

У 2012 р., згідно даних ВООЗ, розрахунковий рівень захворюваності на ТБ в Україні становив 89,0 на 100 000 населення. Серед пострадянських країн нижчий за Україну рівень захворюваності на ТБ мають тільки три країни Балтії та трохи нижчий – Білорусь. Отже, Україна має середньо-високий рівень захворюваності на ТБ [9]. Щодо поширеності ТБ можна виділити 3 регіони в Україні. Так, в 7 регіонах України, в тому числі і в Одеській обл. (яка зайняла передостаннє місце – 94,0 випадків на 100 тис. населення), фіксується найвищий показник захворюваності на ТБ (понад 75,0 на 100 тис. населення) [9]. Прогноз щодо епідемічної ситуації з ТБ в Україні свідчить про те, що до 2015 р. важко досягнути запропонованих ВООЗ цілей Тисячоліття ("Millennium Development Goals") [58]. Час, потрібний для досягнення доепідемічного рівня відносно ТБ в

Україні, потребує щонайменше 10 років, для досягнення доепідемічного рівня захворюваності - не менше 12 років [9]. Водночас одна з країн сусідок України – Туреччина вже досягла поставлених цілей Тисячоліття [60]. В Західних країнах більшість випадків ТБ припадає на іммігрантів, зокрема зі Східної Європи. Наприклад, в Болоньї (Північній Італії) іммігранти становлять 13 % всього населення, а серед хворих на ТБ іммігранти становлять 68 % (2011 р.) [61]. Також, серед людей, народжених в Західній Європі ТБ виникає частіше серед літніх людей (середній вік понад 60-ти років), ніж серед іммігрантів (середній вік близько 30 років) [61].

Наведені дані свідчать про зменшення основних показників захворюваності на ТБ в Україні, водночас епідеміологічна ситуація характеризується збереженням великої кількості хворих, які є джерелом інфікування *M.tuberculosis* (МБТ), включаючи і найбільш уразливі категорії населення – дітей та підлітків [57]. Захворюваність на ТБ серед дітей віком до 14 років протягом 2006-2010 рр. скоротилась з 8,9 випадків до 7,8; серед підлітків віком 15-17 років – з 34,9 до 29,9 [62]. Захворюваність дітей на туберкульоз віком до 18 років в 2010 р. в Україні зменшилась на 12,4 %, у порівнянні з 2009 р. [57]. Водночас захворюваність дітей віком до 17 років в 2012 р. мала певну тенденцію до збільшення на 5,0 %, у порівнянні з 2011 р., і становила 8,4 випадку на 100 тис. дітей (у 2011 р. — 8,0) [5]. В той же час за період 2006-2010 рр. зменшились показники профілактичних оглядів дитячого населення – з 90,5 до 71,4 відносно загальної кількості дітей віком 0-14 років [62]. Несприятливими чинниками щодо ситуації з поширенням ТБ серед дітей і підлітків слід вважати наявність серед цієї категорії поза легеневих і вторинних форм, збільшення кількості розпадів і бактеріовиділень, появу хіміорезистентних форм [62]. Важке економічне та екологічне становище в країні, високий рівень інфікованості дітей та підлітків МБТ, значна кількість бактеріовиділювачів серед дорослого населення не дають змоги очікувати значного поліпшення епідемічної ситуації щодо ТБ у дітей і підлітків у найближчому майбутньому [62].

Проблема захворюваності на ТБ серед медичних працівників в Україні залишається досить актуальною. Так, за період від 1990 до 2005 рр. захворюваність на ТБ серед медичних працівників фтизіатричних закладів збільшилась від 30 до 850 осіб [63]. В останні роки з'явилася певна тенденція до зниження захворюваності на ТБ медичних працівників – у 2010 і 2011 рр. захворіло 530 і 525 осіб (проти 700 у 2006 р.) [64,65]. Водночас в деяких областях, зокрема в Вінницькій області відзначається негативна тенденція – за період 2007-2012 рр. захворюваність зросла від 50,5 до 51,5 на 100 тис. медичних працівників [66]. Це менше, ніж в середньому серед населення регіону (60-55,3 відповідно). Значна кількість випадків рецидивів ТБ серед медичних працівників – 18,8 % - свідчать про неналежну якість лікування.

В літературі наводиться думка, що ознак епідемії ТБ в Україні на сьогодні (кінець 2013 р.) немає, водночас країна наблизилась до етапу «концентрованої» епідемії ТБ серед ВІЛ-інфікованих осіб [9]. І саме ця категорія пацієнтів повина мати пріоритет у Загальнодержавній та регіональних ТБ-програмах в Україні. Це пов'язано з тим, що Україна має найвищу поширеність ко-інфекції ТБ/ВІЛ з усіх пострадянських країн – близько 17 % [9].

Проблема ТБ та ВІЛ/СНІДу дуже актуальна для України. У 2009 р. показник захворюваності на ВІЛ/СНІД збільшився в 3,5 рази, порівняно з 2000 р., і склав 43,6 на 100 тис. населення [67,68]. Кількість захворілих на туберкульоз серед ВІЛ-інфекцію зросла з 103 пацієнтів у 2000 р. до 3380 в 2009 р.; в 2012 р. вже 15,3 % хворих з новими випадками туберкульозу були ВІЛ-носіями [10]. Також зросла смертність від комбінації ВІЛ/туберкульоз – від 945 хворих у 2004 р. до 2529 хворих у 2009 р [67]. Захворюваність на активний ТБ у поєднанні зі СНІДом в Україні в період з 2006 по 2010 рр. зросла в 2,6 рази (від 3,3 до 8,7 на 100 тис. населення) [58]. При цьому в Одеській області відбулось зростання кількості випадків ко-інфекції ТБ/ВІЛ - на 7,1 %, порівняно з 2010 р., та на 9 % — з 2009 р. [59]. Згідно літературних даних у хворих на ТБ легень відзначається значний відсоток осіб з діагнозом хронічних гепатитів В і С. Так, специфічні маркери вірусного гепатиту В у сироватці крові хворих на

туберкульоз зустрічаються в 10-25 раз частіше, ніж у населення в цілому [69,70]. Поширеність потрійної інфекції: туберкульозу, ВІЛ-інфекції та вірусних гепатитів В і С також є досить значною. Наприклад, серед хворих на ТБ цей показник сягає 6,7 %, серед ВІЛ-інфікованих - 4,7 % [7].

На тлі стабілізації захворюваності туберкульозом протягом останніх років спостерігається значне збільшення захворюваності дітей на ко-інфекцію ТБ/ВІЛ [71]. Так, в 2009 р. вперше кількість виявлених випадків вказаної ко-інфекції збільшилась на 50% відносно попереднього року; поширеність ВІЛ-інфекції серед дітей з вперше діагностованим туберкульозом в 2009 р. сягнула 8,2 % (у дорослих цей показник становить 10%). Серед ВІЛ-інфікованих дітей віком до 14 років спостерігається подальше зростаання поширеності ТБ – в 2009 р. вона сягнула 1900 на 100 тис. ВІЛ-інфікованих, що в 200 раз більше, ніж серед популяції дітей в середньому (8,9 випадків) [71].

В 6-28 % у хворих на ТБ відзначаються L-форми МБТ [72]. Ця персистенція МБТ є причиною збереження імунологічних змін. З іншого боку, призначення імуносупресивних засобів, наприклад фактору некрозу пухлин для лікування аутоімунних захворювань, може призвести до активації латентного ТБ і тому буде потребувати лікування латентного ТБ – або 9-ти місячне лікування ізоніазидом, або 3-х місячне лікування комбінацією ізоніазид+рифампіцин [73]. На сьогодні доведена ефективність програми лікування L-форми МБТ при пересадці органів задля попередження реактивації ТБ процесу і зменшення летальності, за виключенням пересадки печінки, наприклад шляхом призначення рифампіцину [74,75].

Наведені дані свідчать про досягнення у боротьбі з ТБ в Україні в період 2006-2011 рр. – зниження захворюваності, в тому числі і серед дітей. Але з 2012 р. спостерігається стагнація і навіть погіршення ситуації – зростання захворюваності, поширення ко-інфекцій ТБ з ВІЛ і вірусними гепатитами. Отже, проблема ТБ наразі залишається актуальною і потребує подальших зусиль суспільства, в тому числі і наукових досліджень, направлених на подолання цієї небезпечної хвороби.

ТБ разом з вірусними гепатитами В, С і ВІЛ/СНІД залишається соціально значущими хворобами не лише в Україні, а й у світі. Це пов'язано з особливостями перебігу туберкульозного процесу у хворих з ко-інфекцією. Наприклад, виліковування ТБ при наявності ВІЛ-інфекції досягається лише у третини пацієнтів, водночас у 20,0 % хворих розвивається рецидив захворювання на ТБ [67]. Це пов'язано з тим, що у хворих на ТБ, що асоціюється з ВІЛ-інфекцією та вірусними гепатитами В і С, комплексна дія самих вірусів, антибактеріальних, протівірусних препаратів справляє на організм пацієнтів значний токсичний, цитолітичний та імуносупресивний ефекти, таким чином, сприяючи прогресуванню порушень метаболічного гомеостазу [7]. Досить часто у хворих на хронічний гепатит С (ХГС) застосовують ПЕГ-інтерферон- α (Пег-ІФН) та рибавірин [76]. Ці препарати можуть призвести до клітинного імунодефіциту, що в свою чергу, може сприяти розвитку багатьох інфекцій, зокрема реактивації ТБ, при цьому реактивація ТБ-інфекції відбувається протягом 3–8 місяців [76].

У хворих з ко-інфекцією ТБ/ВІЛ/гепатити В і С у 1,8 рази частіше відзначається ускладнений перебіг туберкульозного процесу зі схильністю до швидкої генералізації; спостерігаються бактеріовиділення і деструктивні зміни в легенях, частіше виявляють ТБ внутрішньогрудних лімфатичних вузлів, полісерозити та позалегеневі форми ТБ [7]. Ефективність протитуберкульозної хіміотерапії у хворих з поєднаною інфекцією залежить передусім від стадії перебігу ВІЛ-інфекції, а наявність вірусного гепатиту підвищує ризик смерті від туберкульозної інфекції на 80 % [7]. У хворих на ТБ/ВІЛ ко-інфекцію зі зменшенням кількості CD4-лімфоцитів до 200 кл/мкл та нижче виникають найзначніші гематологічні зсуви - анемія, яка асоціюється зі смертністю, і лімфопенія із абсолютною кількістю лімфоцитів, нижчою за 1000 кл/мкл [77]. Також у цієї категорії хворих відзначаються підвищений рівень сечовини й креатиніну, активація внутрішньоклітинних трансаміназ, зростання показників тимолової проби. Таким чином, необхідним є розробка і обґрунтування

проведення системи протиепідемічних і лікувально-профілактичних заходів у хворих з мікст-інфекцією.

Також незадовільним є рівень ефективності лікування серед інших категорій хворих на ТБ. Так, у 2009 році в Україні у хворих на вперше діагностований ТБ легень лікування було ефективним лише у 57,7 % хворих [9]. Серед причин низьких результатів лікування: самовільне переривання лікування з боку хворих; високий рівень резистентності МБТ до протитуберкульозних препаратів та пропуск добових доз протитуберкульозних препаратів («невдале лікування»); несвоєчасна діагностика або/та лікування, що проводилось неадекватно до стандартів протитуберкульозної хіміотерапії [9]. Згідно іншого дослідження вперше діагностованого ТБ легень встановлено, що чоловіча стать, низький рівень освіти і імміграція є факторами невдачі лікування ТБ; наявність туберкульозних порожнин, зловживання алкоголю і старший вік – є факторами смерті від ТБ; наявність цукрового діабету, тютюнопаління – є предикторами тривалого лікування [78]. Серед причин, що призводили до переривання лікування латентного ТБ була імміграція, розвиток гепатиту, розвиток інших побічних ефектів фармакотерапії [79]. В Україні найчастіше достроково припиняють лікування соціально-дезадаптовані групи населення: непрацюючі, зловживаючи алкоголем, ті, що попередньо знаходились в місцях позбавлення волі, а найчастішими причинами припинення лікування були фінансові труднощі хворих та їх недостатня поінформованість [80]. Половина хворих з ТБ легень, що рецидивує, із бактеріовиділенням мала супутні захворювання, на відміну від бактеріонегативних випадків. Крім того, у хворих з ТБ, що рецидивує, із бактеріовиділенням відзначалась значно гірші якість спостереження в цій категорії, недостатня регулярність лікування з приводу первинного випадку та регулярність і якість хіміопрофілактики, ніж у бактеріонегативних хворих [81]. Необхідно впровадити удосконалені протитуберкульозні заходи з метою підвищення ефективності лікування та зменшення кількості хворих з невдалим і перерваним лікуванням та з летальним наслідком, поліпшення стану

протитуберкульозної служби і, у перспективі, поліпшення епідемічної ситуації з ТБ в країні [58].

Протимікробна терапія медикаментозно-чутливого ТБ потребує призначення ізоніазиду, рифампіцину, піразинаміду, етамбутолу протягом 2-х місяців з наступним застосуванням ізоніазиду і рифампіцину ще чотири місяці [56]. В грудні 2012 р. в Україні затверджено Уніфікований клінічний протокол «Туберкульоз» (УКПМД) [10]. Однак викликом є недостатня прихильність пацієнтів до лікування, що призводить до виникнення мультирезистентних штамів шляхом мутації в геномі МБТ. Подальше накопичення мутацій призводить до формування мультирезистентності і розширеної резистентності МБТ [82]. Особливістю нового УКПМД є те, що в основі його ідеології лежить епідеміологічний підхід до ведення випадку захворювання з ідентифікацією найнебезпечніших хворих, які згідно даних мікроскопії, виділяють МБТ з мультирезистентністю, їхньою негайною ізоляцією і правильним лікуванням з перших днів. Цей підхід ґрунтується на впровадженні швидких методів ранньої діагностики ТБ і мультирезистентного ТБ (посів на рідке середовище і молекулярно-генетичні дослідження, зокрема експрес-метод із застосуванням Xpert MTB/RIF) [10]. Лікування ТБ, що є медикаментозно чутливим, виявляється ефективним в 95 % і більше [82]. Міжнародні рекомендації для боротьби з ТБ вперше були оприлюднені в 2006 році Агенцією для міжнародного розвитку в США, в 2009 році з'явилась друга редакція і нещодавно була розроблена третя редакція [83]. Ця програма була схвально прийнята ВООЗ і рекомендована особливо для країн з середнім и низьким доходами. Після десятиліть стагнації в царині діагностики і лікування ТБ, знедавна почали інтенсивно поширюватись нові технології для боротьби з туберкульозом, зокрема швидкі молекулярні тести для підтвердження наявності МБТ і визначення резистентності до рифампіцину [83]. Зміни відбуваються і в стандартах діагностування ТБ, особливо наголос зроблено на групах з підвищеним ризиком розвитку ТБ; оновлено дані щодо антиретровірусної

терапії у хворих з ко-інфекцією ТБ/ВІЛ і переглянуто стандарти хіміотерапії медикаментозно резистентного ТБ [83].

Пріоритетами є скорочення лікування медикаментозно чутливого ТБ, поліпшення терапії медикаментозно резистентного ТБ і спрощення комбінованого лікування ТБ/ВІЛ [84]. Для підвищення ефективності лікування хворих необхідно призначати режими хіміотерапії із урахуванням поширеності мультирезистентності МБТ в регіонах згідно результатів тестування медикаментозної резистентності МБТ [9]. У випадках, коли профіль резистентності МБТ невідомий та існує ризик наявності мультирезистентного ТБ, доцільно призначати хворим стандартний режим хіміотерапії, який розроблений для хворих четвертої клініко-диспансерної категорії (тобто вже апріорі є мультирезистентними) [8].

Лікування мультирезистентного ТБ потребує спеціальних програм [85]. Застосування більш агресивного лікування у хворих з мультирезистентними штамми (одночасна резистентність до ізоніазиду та рифампіцину) або наявністю розширеної резистентності (додаткова резистентність до фторхінолонів і аміноглікозидів) знижує ризик смерті або невдачі лікування [8]. Лікування мультирезистентного ТБ потребує застосування 5-7 менш ефективних, більш дорогих і токсичних протитуберкульозних препаратів другого і третього рядів понад 2 років, що є дуже важким для країн, що розвиваються [82]. При наявності каверн додатково можна проводити колапсотерапію шляхом пневмоперитонеума [86]. Припинення бактеріовиділення на момент завершення інтенсивної фази хіміотерапії спостерігається у 76-93 % хворих на мультирезистентний ТБ і не залежить від інтенсифікації хіміотерапії шляхом додавання кількох протитуберкульозних препаратів, до яких МБТ є резистентні [87]. У фазі продовження хіміотерапії хворих на ТБ виявилось, що більш ефективним є стандартний режим за рахунок використання препаратів 2-го ряду та фторхінолонів, ніж індивідуальний підбір хіміопрепаратів [88].

Туберкульоз з розширеною резистентністю в країнах, що розвиваються, загалом недостатньо успішно лікується [82]. Застосування ізоніазиду в підвищених дозах (0,45-0,90 г/добу) в складі комплексної терапії у хворих на ТБ з розширеною резистентністю підвищує частоту припинення бактеріовиділення і регресії каверн; скорочує строки припинення бактеріовиділення і загоєння каверн приблизно на 1 місяць [89]. При цьому, толерантність до підвищеної дози ізоніазиду є доброю або задовільною. Особливої уваги потребує лікування складного ТБ із серйозними ускладненнями – інтерстиціальною пневмонією і хронічним обструктивним захворюванням легень [90]. У хворих на ТБ з розширеною резистентністю додавання кількох протитуберкульозних препаратів, до яких МБТ є резистентною, або додаткове призначення до 5-6 препаратів, до яких МБТ є чутливою, підвищує ефективність терапії – абацилярність досягається у 53 і 40% відповідно [87]. При цьому вартість лікування в першому випадку була в 1,3 рази нижчою, ніж в другому випадку (1031 грн. проти 1339 грн.). У зв'язку з потужним міграційним процесом, питання вартості лікування ТБ загострюється навіть в розвинутих країнах, де ціна протитуберкульозної терапії одного хворого становить близько 2000 доларів США [91]. Зокрема, стандартна 6-ти місячна терапія (2HRZE/4HR) буде коштувати 600 доларів США, лікування латентного ТБ – 80 або 256 доларів США при застосуванні ізоніазиду (9 місяців) або рифампіцину (4 місяці) відповідно [91]. В Україні при перерахунку на одного хворого на ТБ згідно з Уніфікованим клінічним протоколом в Україні сума витрат на лікування та діагностику передбачається 4,7 тис. грн. на рік – 1 тис. грн. для хворого на медикаментозно-чутливий ТБ; 2,3 тис. грн. - для наявності моно-, полірезистентного ТБ, 18 тис. грн. для мультирезистентного ТБ [9].

Для попередження реактивація «сплячої» МБТ (L-форми) і розвитку активного ТБ легень потребується 9-ти місячне лікування [72]. Пошук найкращої стратегії лікування латентного ТБ має спиратись на показник ціна-безпеки стратегії з високою ефективністю і короткою тривалістю курсу

[92]. Згідно одних даних, окреме застосування ізоніазиду для попередження ТБ у хворих з ВІЛ-інфекцією не попереджає виникнення ТБ в регіонах його значного поширення – в такому випадку треба інтегрувати постійний прийом ізоніазиду в загальну програму лікування ВІЛ-інфікованих [93]. Прийом ізоніазиду для попередження активного ТБ є складним в регіонах з обмеженими фінансовими можливостями, що потребує підготовки відповідних спеціалістів і закладів, розуміння медичними працівниками важливості своєї роботи, соціальна допомога пацієнтам [94]. Для покращення прихильності лікування латентного ТБ у ВІЛ-інфікованих рекомендується поєднати служби боротьби з ТБ і ВІЛ-інфекцією [95]. Отже, для елімінації «сплячої» МБТ необхідно зменшити тривалість лікування активного і латентного ТБ, а також скоротити резервуар латентного ТБ серед людей.

1.3. Протитуберкульозні препарати

Пошук ліків з високою здатністю проникати в казеозну гранульому, особливо активних проти штамів з медикаментозною резистентністю є вкрай необхідні для ерадикації МБТ у людини [56]. Для досягнення цих цілей широкий спектр препаратів і стратегій вивчається на теперішній час. Сучасне лікування ТБ з ізоніазидом і рифампіцином підтвердило свою ефективність, однак токсичність, невдачі лікування, рецидиви, мультирезистентність є серйозними ускладненнями.

Вже понад 50 років піридин-4-карбокси гідразид (ізонікотиніл гідразид або ізоніазид) є протитуберкульозним препаратом першого ряду і залишається головною зброєю в битві проти ТБ. Ізоніазид перетворюється в організмі в активну форму – ізонікотиніл-НАД – бактеріальною каталазою-пероксидазою KatG [96]. Розуміння ролі KatG в активації ізоніазиду гальмувалось недостатністю знань щодо місця зв'язування ізоніазиду. Встановлено кілька можливих місць зв'язування вздовж вхідного каналу KatG. Повний доступ до активного центру гему блокується залишком аспартату D141, що розташований

біля гема [96]. Встановлено зв'язок між протимікробним ефектом ізоніазиду на поверхні клітинних мембран і рН [97]. Доведено високий афінитет ізоніазиду в кислому середовищі, що не тільки пояснює його накопичення в інфікованих клітинах, а також і деякі побічні ефекти [97].

Були досліджені нові похідні ізоніазиду, структура яких пов'язана з різними анілінами і з карбоніловою групою. Встановлено, що антимікробна активність 2-ізонікотиноїл-N-(4-октилфеніл)гідразинкарбоксаміду є близькою до ізоніазиду [98]. Серед галоген-похідних найбільша протитуберкульозна активність спостерігається у 2-ізонікотиноїл-N-(2,4,6-трихлорфеніл)гідразинкарбоксаміду. Більшість гідразинкарбоксамідів, особливо похідні 4-алкіланіліну, мають виразну активність проти нетуберкульозних мікобактерій [98]. Для синтезу нових протитуберкульозних препаратів залучають і новітні методи, наприклад QSAR-базований дизайн і синтез похідних ізоніазиду (гідразони і гідразиди ізонікотиноїлу) [99]. Показано, що ліпофільність не може пояснити активність сполук, водночас коротша дистанція N-N і довші групи заміщення призводять до більшої антимікробної активності [99]. У всіх похідних ізоніазиду відсутня протитуберкульозна активність серед штамів, у яких відсутній ген *katG*, що відповідає за активацію похідних ізоніазиду. Нові синтезовані сполуки, що містять ізоніазидний та імідазольний фрагменти – N'-[[імідазол-5-іл)метилен] ізонікотиногідразидів можуть бути прототипами для створення високоефективних протитуберкульозних лікарських засобів і, зокрема, для лікування хіміорезистентних форм туберкульозу легень [88,100]. Також виразну протитуберкульозну активність і низьку токсичність проявляють деякі новітні 1,2,3-триазол похідні ізоніазиду [101].

Похідне ізоніазиду - N'-(1-фенілетиліден)ізонікотиногідразид має протигрибкову активність і може застосовуватись як заміна для амфотерицину Б і ітраконазолу під час лікування гістоплазмозу [102]. Протигрибкова дія можливо пов'язана з дією гідразону, який впливає на вміст клітинного ергостеролу. Також низка похідних ізоніазиду виявила протипухлинну активність [103]. Встановлено, що наявність гідроксильної групи на

бензольному кільці, особливо в орто-положенні відіграє важливу роль у протипухлинній дії. Деякі похідні виявили активність, яка не поступалась відомому протипухлинному препарату доксорубіцину [103].

Починаючи з відкриття та впровадження в 1960-х роках, рифаміцини, як і ізоніазид, залишаються основою для лікування ТБ [104]. Незважаючи на вражаючі властивості рифаміцини мають і недоліки: швидка селекція резистентних штамів, гепатотоксичність, грипоподібний стан (особливо у великих дозах), потужна індукція цитохромів Р-450 і пригнічення транспортних систем печінки [104]. Доведено, що скорочення тривалості лікування за умови доброго перенесення хворими високих доз також передбачає можливість застосування більш потужних або менш токсичних аналогів рифампіцину. Деякі похідні рифампіцину мають більшу активність проти рифампін-резистентних штамів [104]. Значна взаємодія між препаратами, що є характерним для рифампіцину, дещо покращена на прикладі рифабутину і рифалазилу і використання скринінг-тесту СYP-індукції, які слугують для пошуку ще кращих аналогів рифампіцину. Така побічна дія як грипоподібний стан є важливим пунктом, особливо в класі рифалазилу. Перспективним є дослідження профілю рифалазилу і його аналогів у порівнянні з рифампіцином, рифапентином і рифабутином на прикладі різних скринінгових досліджень [104].

Рифапентин, що є похідним рифампіцину, на сьогодні використовується для інтермітуючого лікування ТБ. Більш часте введення рифапентину у тварин може скоротити тривалість латентного і активного ТБ [105]. Розглядається інгаляційне введення рифапентину для покращення біодоступності, притаманної для пероральних форм. Рифампіцин, окрім туберкульозу, знедавна викликав інтерес для терапії інфекції при застосуванні штучних імплантів (наприклад, клапанів серця) [106]. Рифампіцин має відмінну здатність проникати в тканини і унікальну активність проти бактерій, що зростає на біологічних поверхнях імплантів. Швидкий розвиток резистентності у бактерій відносно рифампіцину є його «Ахілловим сухожиллям» [106]. Зафіксовано, що

взаємодія між біологічними мембранами клітин і рифампіцину відбувається більш активно в умовах кислотного середовища. Отримані дані можуть допомогти в пошуку нових аналогів з більшою ефективністю і меншою кількістю побічних ефектів, ніж у рифампіцину, і крім того зрозуміти більшу селективність рифампіцину відносно мембран інфікованих клітин і побічні ефекти препарату [107].

Велике значення для лікування ТБ, особливо мультирезистентного, мають похідні фторхінолонів. Вже понад 10 років застосовуються похідні I^{го} покоління – офлоксацин, ципрофлоксацин. Пізніше у фтизіатрії з'явилися похідні II^{го} і III^{го} покоління – левофлоксацин, геміфлоксацин тощо. Останні препарати виявили більшу протитуберкульозну активність, забезпечують кращий терапевтичний ефект, ніж препарати I^{го} покоління [108]. У хворих на мультирезистентний ТБ із фторхінолон-чутливими штамми МБТ як моксифлоксацин, так і левофлоксацин виявили однаково високий клінічний ефект у складі комплексних режимів хіміотерапії - за 6 місяців інтенсивної фази хіміотерапії припинення бактеріовиділення досягли у 78 %, а загоєння каверн за цей період досягли близько 40 % [109]. Частота побічних ефектів безпосередньо від прийому моксифлоксацину сягнула 11 % хворих, левофлоксацину — у 8 % хворих ($P > 0,05$).

Ще одним можливим напрямком дії протитуберкульозних препаратів є вплив на ферменти Сур-450 МБТ [110]. Синтезовано похідні верапамілу, які за протитуберкульозною активністю не поступаються рифампіцину [111]. Дві сполуки, що включають 2-амінотіазолову групу, також виявляють антимікобактеріальну активність [112]. Ген NAT (N-ацетилтрансферази) є дуже важливим для виживання МБТ в макрофагах. Інгібітори NAT – це початкова точка розробки нових протитуберкульозних препаратів [49].

Натепер проходять II^б і III клінічні фази оцінки комбінацій, що включають великі дози рифаміцинів, 8-метоксихінолонів, діарилхінолонів (бедахілін) і нітроімідазолів [84]. Інші сполуки – новітні етилендіаміни – на початковій стадії клінічних досліджень [84]. Ще однією перспективною групою

протитуберкульозних препаратів, що вже застосовується у фтизіатрії, є група оксазолідинонів, зокрема лінезоліду, додавання якого до стандартної терапії призводить до припинення бактеріовиділення і зникнення клінічних симптомів у 97 % хворих на ТБ з розширеною резистентністю і у 95,6 % з мультирезистентним ТБ. При застосуванні стандартної схеми без лінезоліду вище вказані показники були на рівні 71 і 43 % відповідно [113]. Побічні реакції від комплексної терапії спостерігались у 49 % (при додаванні лінезоліду) і у 37 % (без додавання лінезоліду). Лінезолід найчастіше зумовлював гематологічні побічні ефекти (11 %), що виявлялося анемією та/або лейкопенією і/або тромбоцитопенією [113]. Деламанід, бедаквілін і PA-824 – це нові протитуберкульозні препарати для лікування МБТ з розширеною резистентністю [114]. В недавньому минулому також були намагання лікувати мультирезистентний ТБ за допомогою меропенему/клавуланату, котримаксазолу [115].

Загалом, є причини для оптимізму, оскільки новітні розробки дозволять сформувати нові режими в найближчому майбутньому. Однак, тривалі інвестиції, політична відповідальність і наполегливість науковців необхідні для досягнення успіху [84].

Вимірювання концентрації протитуберкульозних препаратів може бути корисним для моніторингу вмісту препарату під час лікування. Для хворих на ТБ моніторинг вмісту протитуберкульозних препаратів надає об'єктивну інформацію клініцисту для корекції дози препаратів. Оптимізація дозування препаратів з використанням відстеження концентрації (therapeutic drug monitoring, TDM) може бути кращим підходом для лікування, ніж використання стандартних доз. Особливо спостерігається обмаль інформації щодо використання TDM в лікуванні хворих з мультирезистентним ТБ в клінічній практиці [116].

Для зручності можна вимірювати концентрацію препаратів через 2 год після прийому, коли у більшості препаратів спостерігається пік концентрації, і через 6 год, що дозволяє відрізнити пізню абсорбцію і неповне всмоктування

[117]. Використання «мінімальної концентрації, що інгібує» передбачає утримання вмісту препарату понад мінімуму для максимального ефекту лікування, хоча не всі клініцисти з цим погоджуються. Також передбачається «терапевтичний коридор» лікарської речовини, нижче якого концентрація не повинна падати [117]. Деякі дослідники пропонують замість концентрації протитуберкульозних препаратів більше орієнтуватись на «площу під кривою» протягом доби (AUC_{0-24}) [118].

В певному відсотку випадків лікування туберкульозу концентрація протитуберкульозних препаратів в крові не досягає терапевтичних значень. За даними *Chideya et al.* низька C_{max} для ізоніазиду і рифампіцину спостерігалась у 37 і 84 % відповідно [119]; за даними *S. W. Um et al.* – у 15 і 24 % відповідно [13]; за даними *F. Fahimi et al.* – у 49 і 92 % [120]. Згідно інших досліджень більшість хворих під час стандартної протитуберкульозної терапії досягає терапевтичного рівня ізоніазиду, піразинаміду і етамбутолу в крові [121]. Особливу увагу потребують хворі, які перебувають на екстракорпоральній мембранній оксигенації [122]. Отже, низька концентрація протитуберкульозних препаратів є частим явищем, хоча клінічне значення низької концентрації залишається нез'ясованим [13].

На початку 2000-х років добова доза ізоніазиду становила 5-15 мг/кг ваги на добу (600-900 мг в середньому). При цьому дійсно вважалось, що незалежно від типу ацетилювання, досягається достатня для терапевтичної дії концентрація препарату в організмі. Але згідно запровадженої близько 2006 р. DOTS-стратегії лікування дозу ізоніазиду скоротили до 4-6 мг/кг на добу (300-400 мг в середньому). При цьому даних щодо вмісту протитуберкульозних препаратів в організмі хворих при такому зниженні дози у світі небагато, але велика частка проведених досліджень свідчить про значну поширеність субефективних концентрацій препаратів [123]. На теренах України данні щодо вмісту протитуберкульозних препаратів, особливо після впровадження нової стратегії лікування, майже відсутні.

Для країн з низьким рівнем захворюваності на ТБ (до 10 випадків на 100000 нас.) і низькою первинною мультирезистентністю МБТ (до 3-5 %) ця стратегія дозування виправдала себе. В цих країнах ТБ перейшов у розряд рідкісних захворювань і перестав бути соціальною проблемою. В Україні, як і в багатьох пострадянських країнах, зберігається високий рівень поширеності ТБ. В низці країн, що розвиваються і мають високий рівень поширення ТБ (тобто мають ситуацію подібну до України), широко проводяться дослідження вмісту найбільш ефективних протитуберкульозних препаратів. Це зокрема – Турція [124], Південна Африка [125], Індія [126] тощо. У світі продовжуються дослідження впливу концентрації протитуберкульозних препаратів на ефективність лікування, оскільки дотепер нема однозначного трактування цього зв'язку. Загально визнаним вважається корисним моніторинг концентрації протитуберкульозних препаратів в організмі хворих при невдачах лікування [123,127]. Також тривають дослідження щодо розуміння, попередження і подолання значної медикаментозної резистентності МБТ шляхом вивчення вмісту протитуберкульозних препаратів у хворих під час лікування [128].

Вміст протитуберкульозних препаратів залежать від шляху введення препаратів. Встановлено, що середнє значення максимальної концентрації рифаміцину натрієвої солі через 10 хв. після внутрішньовенного введення в дозі 450—600 мг становить $(22,9 \pm 2,3)$ мкг/мл, що в 2,5 разів перевищує концентрацію рифампіцину через 2 год. після прийому тієї ж дози в капсулах внутрішньо. При цьому інші протитуберкульозні препарати не застосовували [129]. Високих рівнів бактеріостатичної активності крові (БАК) досягнуто у 100 % пацієнтів, що отримували ізоніазид, рифаміцин SV та етамбутол шляхом внутрішньовенної інфузії і 91 % - при пероральному введенні [129]. Результати дослідження динаміки БАК протягом шести годин свідчили про збереження показників у межах високих та середніх рівнів. Згідно клінічного дослідження встановлено, що у групи хворих, які отримували препарати в парентеральній формі, симптоми інтоксикації зникали в середньому через 2,2 тижні, при пероральному прийомі – через 3,1 тижні ($p < 0,05$), абацитарність за даними

мікроскопії досягнуто у 100 % хворих при внутрішньовенному введенні препаратів і у 82 % - при пероральному введенні [129]. Середні терміни загоєння порожнин у хворих, які отримували препарати внутрішньовенно становили 3,1 міс, при пероральному - 3,7 міс ($P > 0,05$). Отже, внутрішньовенний шлях введення протитуберкульозних препаратів призводить до більш швидкої абацилярності та рубцювання порожнини розпаду, порівняно з пероральним шляхом введення [129]. Отже, існують біофармацевтичні відмінності щодо біодоступності окремих лікарських форм протитуберкульозних препаратів.

Після прийому рифампіцину в дозі 600 мг на день пік концентрації рифампіцину становить від 6,4 до 19,9 мг/л [130]. Згідно літературних даних, терапевтична концентрація рифампіцину складає 8-24 мкг/мл [131]. У 15 % хворих на ТБ відзначається субтерапевтична концентрація рифампіцину, головним чином у чоловіків (71 %). Швидкість всмоктування рифампіцину була повільніше, а об'єм розподілу більше у хворих на ТБ, ніж у здорових добровольців; у чоловіків відзначався більший об'єм розподілу і кліренс рифампіцину, ніж у жінок [130]. Отже, фармакокінетичні показники змінюються під час туберкульозного процесу, а також мають гендерні відмінності.

Відомо, що оптимальний рівень концентрації ізоніазиду через 2 год після прийому дози складає 3-5 мг/л, через 3-х год - 1,5 мг/л [132]. Найбільша концентрація ізоніазиду спостерігається у хворих при внутрішньовенному введенні – через 1 год. – 4,2 мкг/мл, через 3 год. - 6,8 мкг/мл, через 5 год. – 5,4 мкг/мл, через 12 год. – 1,2 мкг/мл [133]. Майже аналогічні дані отримані при інгаляційному введенні. Найменша концентрація ізоніазиду в крові хворих зафіксована при прийомі препарату внутрішньо, однак рівень концентрації через 12 год. після його прийому був вірогідно вищим, ніж при внутрішньовенному або інгаляційному введенні [133]. Отже, методом вибору при призначенні ізоніазиду у хворих на полірезистентний ТБ легень на стаціонарному етапі може бути внутрішньовенний або інгаляційний шляхи

його введення. Інгаляційний метод введення ізоніазиду є неінвазивним і легко доступним в будь-якому протитуберкульозному закладі [133].

У дітей відзначаються відмінності між генотипом NAT2 і фенотипом ацетилювання (співвідношення ацетилізоніазиду і ізоніазиду). Згідно дослідження в Венесуелі 43 і 40 % мали генотип помірних або повільних ацетиляторів відповідно. Співвідношення ацетилізоніазид/ізоніазид в крові і період напіввиведення ізоніазиду відрізнялись між носіями генотипів повільного і швидкого/помірного ацетилювання [134]. Концентрація ізоніазиду у повільних ацетиляторів в 2 і 7 разів вище, ніж у помірних і швидких ацетиляторів [135]. Різні етнічні групи можуть мати різну поширеність швидких і повільних ацетиляторів, тому ефективність стандартної дози у пацієнтів в різних популяціях треба перевірити [48]. Водночас, можливе протиріччя між даними генотипу і фенотипу процесів ацетилювання. Так, на прикладі Аргентини показано, що близько 46 % дітей мали дикий тип гена, водночас 97 % дітей мали фенотип швидких ацетиляторів [136]. У дітей, які народились з малою масою тіла, при введенні ізоніазиду у розрахунку 10 мг/кг ваги на день, концентрація ізоніазиду досягла рекомендованого терапевтичного рівня і була співставна з вмістом препарату у дорослих. Максимальна концентрація спостерігалась через 2 год. після введення, уповільнення елімінації спостерігалась у молодших дітей і у повільних ацетиляторів [137]. Отже, є вікові відмінності у швидкості біотрансформації ізоніазиду.

Методом контролю прихильності хворих до протитуберкульозної терапії є визначення концентрації препаратів в крові. Найбільш визнаним, але складним і витратним методом є високоефективна рідинна хроматографія. Як більш доступна альтернатива, зокрема щодо прийому ізоніазиду може рекомендуватись його вимірювання в сечі через 4 год. за допомогою арканзаського колориметричного способу, який дає результати дуже близькі до більш дорогої мас-спектрометрії, водночас через 24 год. після прийому спостерігається значна розбіжність між двома вказаними способами [138]. Розроблено метод визначення протитуберкульозних препаратів рифампіцину і

кларитроміцину та їх метаболітів дезацетилрифампіцину і 14-гідроксикларитроміцину у висушеному зразку крові, який зберігає свою інформативність протягом 2-х місяців [139]. За вірогідністю метод не поступався вимірюванню вмісту препаратів в крові напряму, що дозволяє використовувати для збору зразків серед хворих в сільській місцевості. Як комплекс-утворюючі сполуки для екстракції використовували етилендіамінтетраацетат і дефероксамін [139]. Визначення AUC₀₋₂₄ для рифампіцину у хворих на ТБ можна спрогнозувати шляхом визначення 2-3-х експериментальних відрізків (через 2, 4 і 12 год. після введення препарату) [140].

Прийом протитуберкульозних препаратів (ізоніазиду, рифампіцину, етамбутолу, піразинаміду) разом з їжею зменшує концентрацію препаратів в крові у хворих і уповільнює досягнення піку концентрації [141]. Хворі на цукровий діабет і ВІЛ-інфіковані пацієнти мають вищий ризик поганого всмоктування і взаємодії між окремими препаратами, що змінює концентрацію протитуберкульозних препаратів в крові [117]. Доведено, що фторхінолони (норфлоксацин, офлоксацин) за умов комбінованого застосування з ізоніазидом знижують всмоктування і біодоступність останнього [142].

Проведено розрахунок фармакокінетичних показників протитуберкульозних сполук в препаратах, які рекомендовані ВООЗ і містять фіксовані комбінації протитуберкульозних речовин, із застосуванням симуляційної моделі Монте Карло [143]. Встановлено, що вміст рифампіцину співставний з дорослими хворими, але із значною варіативністю. Водночас, вміст піразинаміду і ізоніазиду буде нище, ніж у дорослих [143]. Проведенні дослідження щодо біоеквівалентності 22 препаратів, кваліфікованих ВООЗ для лікування ТБ, що містять ізоніазид, рифампіцин, піразинамід і етамбутол окремо або в комбінаціях. Встановлено, що всі досліджені генерики можуть заміщати один одного безпечно зі збереженням терапевтичного ефекту [144].

Зв'язок між концентрацією ізоніазиду і резистентністю до нього є складним і нагадував перегорнуту U-подібну криву [145]. Після одного дня

лікування місце крапки, що характеризує зв'язок між часом впливу і розміром резистентної субпопуляції був нижче, ніж перед початком лікування. Це свідчить про те, що частина попередньо існуючих резистентних субпопуляцій вбивалась на протязі перших днів в прямій залежності від концентрації протитуберкульозних препаратів. Однак крива набувала форму перегорнутої літери U на третій день, що співпало із закінченням знешкодження мікробів і виникнення ізоніазид-резистентних популяцій з виносними помпами (пригнічується резерпіном) і мутаціями в гені *katG*, що зазвичай зустрічається у резистентних до ізоніазиду штамів [48]. Водночас, фармакокінетико-фармакодинамічний взаємозв'язок між впливом ізоніазиду і виникненням до нього резистентності все ще залишається нез'ясованим, тому бажано оцінити чи низький рівень препарату в крові асоціювався з гіршим ефектом лікування, чи ні [48].

Для з'ясування фармакокінетичних характеристик вже відомих протитуберкульозних препаратів і сполук-кандидатів більше уваги приділяють розробці відповідних моделей у тварин. Наприклад, запропонована модель з інфікуванням щурів ліній Вістар МБТ інгаляційно, після чого можна вивчати ефективність протитуберкульозних препаратів з вимірюванням фармакокінетичних індексів [146].

Зважаючи на значу поширеність ко-інфекції ТБ/ВІЛ важливим питанням є взаємодія протитуберкульозних і антиретровірусних препаратів. Принципи лікування активного ТБ у ВІЛ-позитивних і ВІЛ-негативних не відрізняються між собою. Лікування обох захворювань є складним, зважаючи на взаємодію між препаратами обох груп [147]. Ця взаємодія може зменшувати терапевтичний ефект препаратів і посилювати небажані ефекти один одного [148]. Наприклад, рифаміцини, що є потужними індукторами СYP-450, призводить до зниження (часто до субтерапевтичного рівня) концентрації в плазмі деяких груп антиретровірусних препаратів. Також рифампіцин є індуктором АТФ-зв'язуючого локусу транспортера Р-глікопротеїна, що знижує біодоступність одночасно призначених антиретровірусних засобів [147]. З

іншого боку, концентрація рифабутину може залежати від дії антиретровірусних препаратів, які можуть активувати або пригнічувати ферменти СУР. Застосування нуклеозидних інгібіторів оберненої транскриптази (невірапіну, ефавірензу) не змінює вміст ізоніазиду і рифампіцину за умов їх одночасного застосування [149]. З іншого боку, призначення рифампіцину одночасно зі стандартною дозою ефавірензу (600 мг/день) у хворих з генотипом *CYP2B6 516 GT* і *TT* є фактором зростання концентрації ефавірензу [150].

За умови поєднання рифабутину з інгібітором протеази потребує зменшення дози першого до 150 мг на день [147]. Це пов'язано з тим, що щоденне призначення рифабутину один раз на день при поєднанні з лопінавіром/ритонавіром (інгібітори протеази) асоціювалось з більшою на 32 % концентрацією рифабутину, ніж за умов його ізольованого застосування [150]. Навпаки, додавання інгібіторів протеаз при призначенні рифабутину три рази на тиждень призводило до зниження концентрації останнього на 44 %. Зі свого боку, рифабутин не впливав на концентрацію лопінавіру/ритонавіру [150]. Рифампін зменшував концентрацію нового антиретровірусного препарату етравірину, однак концентрація останнього залишалась в межах рекомендованої концентрації [151].

Вимірювання концентрації препаратів не може пояснити всіх варіантів дії протитуберкульозних препаратів у хворого і гарантувати одужання, однак при поєднанні з даними бактеріологічного дослідження може стати важливим інструментом успіху [117].

Прихильність пацієнтів до протитуберкульозної терапії є критично важливим для успішного лікування активного ТБ. Протитуберкульозні препарати, що спричиняють гепатотоксичність, можуть погіршувати прихильність до лікування і призводити до переривання лікування [152]. Медикаментозно-індукована гепатотоксичність може бути неїдіосинкразійною (передбачувана) і ідіосинкразійною (непередбачувана). Щорічно у світі фіксують 20 випадків медикаментозного ураження печінки на 100 000 осіб

[153]. До факторів ризиків медикаментозного ураження печінки включають дозу препарату, ліпофільність препарату і виразність печінкового метаболізму [153]. Наявність цирозу печінки перед початком лікування ТБ збільшує ризик розвитку гепатотоксичності протитуберкульозних препаратів, зокрема ізоніазиду, рифампіцину і піразинаміду [154]. Відміна протитуберкульозних препаратів у хворих з медикаментозним гепатитом призводила до поліпшення стану хворих і зменшенню ознак гепатиту [155]. З іншого боку, більшість хворих з ознаками ізоніазид-викликаного гепатиту змогли пройти стандартне лікування, включаючи ізоніазид і рифампіцину [156].

Протитуберкульозна терапія досить часто спричиняє ідіосинкратичне ураження печінки, що може призвести до розвитку гострої печінкової недостатності [157,158]. Близько 4% хворих, які отримували ізоніазид, виявляли ознаки ізоніазид-індукованого ураження печінки, що виявляється збільшенням активності аланінамінотрансферази (АлАТ), аспартатамінотрансферази (АсАТ) або вмісту білірубіну в 2 рази і більше, у порівнянні з нормальним показником [159,160]. Застосування ізоніазиду навіть для лікування латентного ТБ може призводити до гострої печінкової недостатності, яка супроводжується морфологічними ознаками гепатоцелюлярного ураження, холестазу, інфільтрацією печінки імунними клітинами [161]. Додавання антиретровірусної терапії до рифампіцину у хворих з ко-інфекцією ТБ/ВІЛ збільшує ризик ураження печінки в 10 разів; наявність ВІЛ-інфекції додатково до ТБ збільшує ризики ураження печінки в 4 рази [162].

Складнощі вивчення токсичної дії ізоніазиду у тварин пов'язані з тим, що у щурів застосовують дози препарату, значно більші, ніж у людини, тому більш адекватною моделлю є дослідження на мишах, що засвідчила проєктивну і патогенетичну роль імунної системи при ураженні печінки ізоніазидом [163]. Ураження печінки при введенні ізоніазиду опосередковане імунною реакцією - зростання кількості Th17 клітин і Т-клітин, що утворюють інтерлейкін-10, збільшення антитіл проти ізоніазиду, зокрема IgG (підкласу IgG3), що

асоціюється з Th1-типом імунної реакції і фіксує комплемент [164,165]. З іншого боку, важко визначити: ці зміни є результатом чи причиною ураження печінки? Введення ізоніазиду після попередньої імунізації ізонікотиною кислотою призвело до зменшення симптомів експериментального аутоімунного гепатиту [159]. Отримані дані засвідчили імуносупресивну дію ізоніазиду, незважаючи на його здатність викликати утворення антитіл [159].

Ізоніазид та його метаболіти (зокрема, гідразин) можуть пошкоджувати мітохондрії гепатоцитів, що веде до розладів енергетичного гомеостазу [166]. Застосування ізоніазиду і рифампіцину спричиняє посилення процесів ПОЛ та окислювальної модифікації білків [167-169]. До поки, відсутні фармакогенетичні докази того, що утворення гідразину і окислюючих радикалів під час біотрансформації ізоніазиду пов'язане з поліморфізмом CYP [170].

Крім гепатотоксичності для ізоніазиду також характерна нейротоксичність. Застосування ізоніазиду у хворих може призводити до розвитку неврологічних побічних ефектів, зокрема медикаментозне сп'яніння [171], ураження мозочку [172]. Характерним неврологічним побічним ефектом ізоніазиду є виникнення епілептоформних судом, рефрактерних до звичайних антиепілептичних засобів, які усуваються лише введенням піридоксину [173,174]. Ще одним побічним ефектом протитуберкульозної терапії є сенсорна полінейропатія. Встановлено, що генотип повільного ацетилювання, чорний колір шкіри, повторне лікування і позалегеновий/дисемінований ТБ є факторами розвитку сенсорної полінейропатії [175].

Інший найбільш ефективним протитуберкульозним препаратом є рифампін (його похідне – рифампіцин), який крім індукції мікосомальних ферментів печінки, лейкопенії, може спричинити анафілаксію і стан, подібний до сироваткової хвороби [176], тромбоцитопенію [177], гостре ураження нирок (тубулоінтерстичний нефрит) [178]. Концентрація рифампіцину є вищою серед хворих на ТБ, у яких в подальшому розвивається медикаментозний гепатит [179]. Протитуберкульозні препарати першого ряду здатні викликати

DRESS-синдром (алергічний висип на шкірі, лихоманка, еозинофілія, ураження внутрішніх органів) [180].

Застосування протитуберкульозних препаратів першого ряду у тварин призводить до розрив ланцюжків ДНК різного ступеня в клітинах крові, нирок і печінки, що свідчить про генотоксичну дію протитуберкульозних препаратів [181]. Через 3 міс. від початку лікування у хворих на ТБ відзначається істотне зростання вмісту загального білка в сечі, порівняно з початком лікування [182]. Досить поширеним є гостре ураження нирок під час застосування рифампіну. Зокрема, серед літніх людей цей побічний ефект спостерігався у 7 % [183].

Генотип повільного ацетилятора є вірогідним фактором ризику для помірного і тяжкого ураження печінки і нейротоксичності, спричинене ізоніазидом, хоча автора передбачають наявність інших генетичних факторів, що обумовлюють розвиток гепатотоксичності [51,184,185]. Гепатотоксичність ізоніазиду пов'язана з його токсичними метаболітами, які утворюються в печінці під час його біотрансформації, за участю таких ферментів, як NAT2, CYP2E1 і глутатіон-S-трансферази (GST) [152]. Ризик медикаментозного ураження печінки вище при наявності алеля *A* (генотип *GA* і *AA*) в гені *NAT2*, а також у носіїв генотипу *NAT2*5*CT* [51,186,160].

Подвійний «null» генотип *GSTM1* and *GSTT1* також асоціювався з розвитком гепатиту [156]. Гетерозиготи '*c1c2*' гена *CYP2E1* мали підвищений ризик розвитку токсичного гепатиту [152]. Мета-аналіз засвідчив, що наявність генотипу *CYP2E1 *1A/*1A* і гомозиготного генотипу «нуль» *GSTM1* асоціюється з високим ризиком медикаментозно-викликаного ураження печінки [185]. Згідно інших досліджень генотипи *CYP2E1 RsaIc1/c1*, *RsaIc1/c2* чи *c2/c2*, а також «нуль» генотипу *GSTM1/GSTT1* не асоціювався з ураженням печінки під час протитуберкульозної терапії [186]. Відзначають і міжетнічні відмінності наприклад, висока кореляція генетичного поліморфізму *NAT2*, *CYP2E1* і *GSTM1* з ризиком розвитку медикаментозного ураження печінки відзначались в Східній Азії; в країнах Європи така кореляція була значно менша або була відсутня [187]. Водночас, в китайській популяції відсутні

відмінності щодо поліморфізму генів *CYP3A4*, *CYP2C9* і *CYP2C19* між хворими на ТБ з ознаками медикаментозного гепатиту і здоровими добровольцями [188]. Встановлено, що *CYP3A* не має впливу на системну фармакокінетику ізоніазиду у мишей [189].

Встановлено, що генотипи *NAT2* гетерозиготи, *NAT2* гомозиготи, *del GSTM1*, *del GSTT1* і наявність алеля *NAT2*2*5* можуть бути ендегенними факторами високого ризику порушення фільтруючої та реабсорбційної систем нирок під токсичним впливом протитуберкульозних препаратів [190]. Отже, у хворих на ТБ легень під час стандартної хіміотерапії виявлені значні розлади реабсорбційної та видільної функції нирок, інтенсивність яких залежить від генотипу *NAT2*, *GSTM1* і *GSTT1*.

Поліморфізм генів *CYP2C9* і *CYP2C19* у хворих на ТБ мав значення для розвитку такого побічного ефекту, як макулопапулярні висипання під час хіміотерапії. Зокрема вказаний побічний ефект частіше розвивався у носіїв алелів *CT* або *TT* гена *CYP2C9* і для заміни *W212X* гена *CYP2C19* [191].

Як відомо, рифампіцин є потужним індуктором кількох ізоформ *CYP* в печінці і кишечнику, що призводить до прискорення елімінації паралельно призначених препаратів, чий метаболізм опосередкований тим самими ізоформами і це часто призводить до зниження фармакологічного ефекту [50,192,193]. Навпаки, ізоніазид пригнічує активність *CYP1A2*, *CYP2A6*, *CYP3A*, *CYP2C9*, *CYP2C19*, *CYP2D6*, *CYP2E1* [194]. Саме завдяки пригніченню *CYP2A6* в печінці людини ізоніазидом 7-гідроксилування ефавірензу відбувається зростання концентрації останнього; також зростання спостерігається у хворих з генотипом *CYP2B6*6/*6* [195,196] Згідно інших даних, ізоніазид збільшує експресію *CYP2E1*, в тому числі і в ЦНС, шляхом утворення продуктів ПОЛ, що може являти собою ризик ураження нейроцитів [197].

Етамбутол є потужним інгібітором ферментів *CYP1A2* і *CYP2E1*, помірний - ферментів *CYP2C19* і *CYP2D6*, а також слабким – для ферментів *CYP2A6*, *CYP2C9* і *CYP3A4* [198,199]. Введення комбінації

протитуберкульозних препаратів – ізоніазиду, рифампіцину, етамбутолу і піразинаміду – призводило до посилення експресії генів CYP2E1, 3A2 (ортолог людського 3A4), 2C23 (ортолог людських 2C9 і 2C19) у сім'яниках щурів. Індукцію 2E1 автори пов'язують з дією ізоніазиду, 3A2 і 2C23 – з дією рифампіцину. Це призводить до гонадотоксичної дії (пригнічення синтезу тестостерону, зниження рівня сперматозоїдів) [200].

Персоналізована медицини використовує технології, які дозволяють досягати неможливого раніше рівня лікування в практичній медицині. На сьогодні лікування ТБ не є персоналізованим [16]. Потрібні подальші дослідження щодо зв'язку між генотипом пацієнтів і розвитком побічних ефектів, що може зробити генотипування корисним інструментом для оптимізації терапії і зменшення частоти побічних ефектів, особливо в країнах з високою поширеністю ТБ [15].

1.4. Фармакогенетичні особливості збудника туберкульозу, що призводять до медикаментозної резистентності

Мультирезистентний туберкульоз визначається як одночасна резистентний до рифампіцину і ізоніазиду [201]. Діагностика обмежена і зазвичай запізня, в той же час лікування цієї форми є тривалим, токсичним і недостатньо ефективним. В регіонах з обмеженими економічними ресурсами, успішність лікування мультирезистентного ТБ не перевищує 60-70 % [201]. Згідно досліджень в Польщі, серед мультирезистентного ТБ лише 17% пацієнтів закінчили лікування, водночас 33% хворих померло протягом 7 років після встановлення діагнозу, 24 і 17 % пацієнтів самовільно припинило лікування і зазнали невдачі під час лікування відповідно [202]. Наявність мультирезистентних штамів МБТ асоціюється з більш частою госпіталізацією і потребують більш тривалого лікування, ніж хворі з чутливими штамми, і призначення препаратів другого і третього рядів, які відрізняються низькою ефективністю і безпечністю [203,115].

Основною причиною розвитку хіміорезистентного ТБ є перерви у лікуванні у зв'язку з низькою прихильністю хворих до хіміотерапії, низькі дози препаратів, погане запровадженням рекомендованої DOTS- і DOTS-плюс стратегій, низька якість протитуберкульозних препаратів і тим, що в умовах економічної кризи були порушені рекомендації лікування, коли застосовували один або два препарати замість чотирьох [204, 115]. Причому, первинна медикаментозна резистентність МБТ є результатом неякісного лікування в минулому, вторинна резистентність – на даний момент [205]. Також факторами ризику розвитку мультирезистентного ТБ є вік понад 45 років, перебування в місцях позбавлення волі, повторне лікування, відсутність постійного місця проживання, позалегенева локалізація ТБ, наявність попереднього контакту з хворими на ТБ [206-209]. Хворі з мультирезистентним ТБ, згідно DOTS-стратегії, належать до IV категорії. Встановлено, в IV категорії 63–96 % складають групи хворих “лікування після перерви”, “лікування після невдалого першого або повторного курсу лікування” [210]. Лише у 13 % випадки мультирезистентного ТБ були результатом нещодавньої передачі інфекції, у 9 % випадках встановлений епідеміологічний зв'язок мультирезистентних штамів, що свідчить про низький рівень трансмісії мультирезистентних штамів в Польщі [202]. Монорезистентність до рифампіцину або ізоніазиду МБТ є фактором розвитку мультирезистентності в подальшому [211-213].

Згідно думки експертів ВООЗ щорічний приріст хіміорезистентного ТБ у світі становить 300 тис. нових випадків, причому у 80% випадків виявляється стійкість до 3-х із 4-х протитуберкульозних препаратів. Найчастіше це – стрептоміцин, ізоніазид і рифампіцин [204]. Випадки мультирезистентного ТБ фіксуються головним чином в країнах Східної Європи і Центральної Азії [115].

Поширеність мультирезистентних штамів МБТ коливається від 0 % у деяких країнах Західної Європи до 57 % в Казахстані. У пострадянських країнах в середньому цей показник становить 30 % [204]. В Узбекистані в 2011 році рівень первинної і вторинної мультирезистентності сягав 23 і 62 % [206]. Дослідження медикаментозної резистентності проводяться в усіх країнах світу.

Наприклад, згідно досліджень в Саудівській Аравії резистентність до ізоніазиду або рифампіцину становить 11 і 1 % відповідно [214]. Рівень первинної і набутої мультирезистентності в Індії сягає 15 і 31 % відповідно, в Пакистані - 4 і 32 % відповідно, в Ірані 6 і 18 % відповідно; в Китаї – 3 і 22 % відповідно [207,215-218]. Дослідження L-форми МБТ в Китаї виявило, що 27 % штамів були мультирезистентними [219]. Згідно досліджень в Іспанії нечутливими до ізоніазиду було 7 % штамів МБТ, до рифампіцину – 4 %, мультирезистентність спостерігалась в 2 % культур МБТ [220]. Близькими до результатів щодо резистентності серед дорослих в Іспанії, були отримані дані у дітей – рівень монрезистентності до ізоніазиду і мультирезистентність склали 10 і 3 % відповідно [208]. В Нідерландах в період 1993-2011 рр. рівень резистентних штамів МБТ становив близько 13 %, причому зросла кількість резистентних штамів серед хворих, народжених в Нідерландах, і зменшився відсоток іммігрантів [221]. В Болонї (Північна Італія) мультирезистентність серед іммігрантів сягала 7 %, серед хворих, народжених в Італії – 1 % [61]. Загалом мета-аналіз проведений в Європі за даними ВООЗ за період 1997-2012 рр. показав, що первинна і набута мультирезистентність становила 16 і 45 % відповідно [222]. Протягом 1997-2012 рр. поширеність мультирезистентності знизилась в Естонії, Латвії і Німеччині, водночас зросла в Великобританії, Швеції, Російській Федерації (м. Томськ) [222].

Рівень мультирезистентності в Австралії (1998-2012 рр.) становив 1 %, з яких понад 90% приходилось на хворих, народжених поза меж Австралії [203]. Мультирезистентність МБТ серед хворих на ТБ в Ефіопії (2011-2013 рр.) становила 1 %; резистентність до ізоніазиду, стрептоміцину, рифампіцину і етамбутолу сягала 14, 12, 3 і 0 % відповідно [223]. В іншій африканській країні – Мозамбіку - рівень резистентності МБТ до одного протитуберкульозного препарату становила 58 %; резистентність до кількох препаратів сягала 44 % [224]. Серед дітей з ко-інфекцією ТБ/ВІЛ в Південній Африці мультирезистентність сягала 10 %, резистентність до ізоніазиду – 17 % [225]. Дослідження в Марокко виявили рівень мультирезистентності на рівні 7 %,

більшість з яких становили хворі з повторним лікуванням [226]. В найбільшій південноамериканській країні – Бразилії – рівень первинної мультирезистентності становив 2 %, резистентність до ізоніазиду і рифампіцину становила 7 % і 3 % відповідно [209]. Ще в одній американській країні – Кубі – рівень первинної і набутої мультирезистентності становив 1 і 10 % відповідно (2010-2011 рр.) [227]; на Мартиніку і Франзуській Гвінеї - 2 і 12 % відповідно [228].

Рівень мультирезистентності в Україні є одним з найнижчих серед пострадянських країн – нижчий він тільки у Латвії [9]. Кількість хворих з резистентним ТБ в Україні сягала в 2010 р. 7-25 % хворих у різних регіонах для первинної і 75 % для вторинної резистентності [58]. Це може бути причиною відсутності поліпшення ефективності лікування. Згідно даних ВООЗ, в Україні мультирезистентну форму мають 16 % хворих із новими та 44 % хворих з повторними випадками туберкульозу [10]. Щодо окремих регіонів України, то наприклад у Чернівецькій області за період 2008-2012 рр. зросла питома вага мультирезистентності серед усіх типів резистентності у хворих з новими випадками ТБ – від 5 до 35 %, поширеність мультирезистентності сягнула 20 % [100].

В період 2007-2012 рр. в Україні у хворих на мультирезистентний ТБ найвищий рівень резистентності МБТ був до стрептоміцину — 89 % випадків, на другому місці — до етіонаміду — 52 % [100,187]. До фторхінолонів, капреоміцину, ПАСК медикаментозну резистентність МБТ у хворих на мультирезистентний туберкульоз виявляли із невисокою частотою [187,186]. При повторного лікуванні у хворих з мультирезистентним ТБ значно зростає резистентність до аміноглікозидів [229]. В період 2009-2010 рр. мультирезистентність в Україні зросла на 3,2 %; також зросла поширеність резистентності до 3–4 протитуберкульозних препаратів (HRSE — 44-45 %, HRS — 31-30 %) [210]. Отже, ситуація щодо поширеності хіміорезистентного ТБ в Україні є загрозливою, про її подальше погіршення свідчить профіль резистентності МБТ до протитуберкульозних препаратів [210]. Для успішного

виявлення хворих на хіміорезистентний ТБ потребується проведення тесту медикаментозної резистентності всіх бацилярних хворих до початку лікування [230]. Водночас в період 2009-2010 рр. виявлено зменшення кількості тестів на чутливість МБТ до протитуберкульозних препаратів (15685 в 2010 р. проти 19051 в 2009 р.), що не сприяє виявленню хіміорезистентного ТБ [210].

З 2006 року був введений новий термін різновиду резистентності МБТ — розширена резистентність (*англ.* extensively drug resistance, XDR, PPTB) до протитуберкульозних препаратів, а саме до ізоніазиду та рифампіцину, а також як мінімум до деяких фторхінолонів та одного із 3-х ін'єкційних протитуберкульозних препаратів: капреоміцину, канаміцину, амікацину [231]. Поява МБТ з розширеною резистентністю є результатом неправильного лікування хворих з мультирезистентним ТБ, і потребує препаратів більш токсичних і менш ефективних, ніж при лікуванні мультирезистентного ТБ [114].

З 2008 по 2012 рік в Національному інституті фтизіатрії і пульмонології серед хворих на мультирезистентний ТБ 24 % мали МБТ з розширеною резистентністю, з яких 2 % — з первинною розширеною резистентністю [11]. У хворих на мультирезистентний ТБ частіше діагностували «нові випадки» захворювання порівняно з хворими на PPTB (16 проти 7 %, $P < 0,05$), хоча випадки «повторного лікування» або «хронічного туберкульозу» виявляли майже в однаковій кількості випадків [229]. В Узбекистані і Китаї в 2011 р. розширена резистентність МБТ зустрічалась у 5 % хворих з мультирезистентним ТБ [206,215]. Всі випадки розширеної резистентності в Болоньї (Північна Італія) були зафіксовані серед іммігрантів [61]. Розширена резистентність відзначалась в 38 з 53 країн Європи (72%), при цьому штами МБТ з розширеною резистентністю становили 11% серед мультирезистентних штамів [222]. У хворих з розширеною резистентністю виліковування досягають важче, ніж у хворих з мультирезистентним ТБ - відповідно у 20–30 % випадків проти 60–70 % [11]. Серед хворих на ТБ із розширеною резистентністю найчастіше спостерігається резистентність МБТ до стрептоміцину і канаміцину

— у 99 і 91 % хворих відповідно, на другому місці – до етамбутолу і етіонамдію — у 74 і 72 % хворих відповідно [187,229]. Резистентність МБТ до піразинаміду, ПАСК виявляють у меншій кількості випадків — у 35 і 25 % хворих відповідно. При повторного лікуванні у хворих з РРТБ значно зростає резистентність до піразинаміду та ПАСК [229]. Отже, стрептоміцин втрачає значення для лікування хворих на мультирезистентний ТБ і РРТБ незалежно від форми захворювання [187].

Хворі на мультирезистентний ТБ мають вищу ймовірність значних фінансових втрат відносно хворих з медикаментозно-чутливим ТБ (54 проти 38 %). Отже, ТБ – це не тільки інфекційна, але і соціально-економічна проблема [232]. В США прямі витрати на лікування одного хворого з мультирезистентним ТБ становлять 134 000 доларів США, з розширеною резистентністю – 430 000 доларів США, водночас при лікуванні немультрезистентного ТБ витрати становлять 17 000 доларів США [233].

Високий рівень медикаментозної резистентності до багатьох протитуберкульозних препаратів викликає сумніви щодо їх ефективності і потребує подальшого контрольованого вивчення ефективності цих препаратів. Задля уникнення цих помилок необхідні вчасні і відповідні тренування з постійним постачанням високоякісних ліків, оновлення національної програми і законів, постійним моніторингом поширеності медикаментозної резистентності МБТ та механізмів її розвитку [201].

Резистентність МБТ до ізоніазиду викликається мутаціями в генах *katG* і *inhA*, що кодують каталазу-пероксидазу і *inhA* відповідно [234]. Каталаза-пероксидаза (*katG*) знайдена у еубактерій і найпростіших еукаріотів. Загалом, каталазна активність *katG* є вражаючою і відрізняється за структурою від типових каталаз [234]. Водночас, каталітичний цикл знаходиться в активному місці, яке має виразну подібність до типових пероксидаз (наприклад, цитохром С пероксидаза). Активність *katG* залежить від двох факторів: гема і унікального Met-Тур-Трп ковалентного зв'язку [234]. Яким чином мутація в гені *katG* змінює активність МБТ? В результаті вказаної мутації штами МБТ стають більш

чутливими до окислювального стресу і у подальшому адаптуються шляхом посилення синтезу низки сполук, які обумовлюють збільшення захоплення луг і жирних кислот, що є джерелом вуглецю і енергії, і посилення синтезу сполук, які напряду залучені до зниження окислювального стресу [235]. Також велику роль у виникненні резистентності МБТ до ізоніазиду має мікобактеріальний ДНК-зв'язаний білок-1 (MDP1) - унікальний гістоно-подібний білок, що асоціюється з мікобактеріальним GC-насиченим ДНК [235]. Молекулярне вивчення медикаментозної чутливості МБТ забезпечує швидку діагностику ТБ і визначення медикаментозної чутливості з високою специфічністю [236].

Шляхом секвенування гена *katG* серед МБТ встановлено 14 алелів у резистентних штамів МБТ, водночас лише 3 алеля знайдено у чутливих до ізоніазиду штамів. Так, серед ізоніазид-резистентних штамів застрічались наступні мутації - Arg463Leu (51%), Ser315Thr (29%), Ser315Asn (10%) і решта (22%) [234]. Чутливість і специфічність визначення мутації Ser315Thr для ізоніазид-резистентності становила 29 і 100 % відповідно. Частота мутацій в гені *inhA* серед ізоніазид-резистентних штамів МБТ становила близько 2 % [234]. Отже, ізоніазид-резистентність обумовлена мутаціями в гені *katG*, промоутерному регіоні *mabA-inhA* оперона і гені *inhA* [237]. Встановлено наявність «німої» мутації *mabA(g609a)* у великій кількості ізоніазид-резистентних штамів, у яких були відсутні інші мутації, що обумовлюють резистентність до ізоніазиду [237]. Мутація *mabA(g609a)* призводить до порушення регуляції *inhA* – гена, що кодує мішень для ізоніазиду, перетворюючи близьку до мутації область в альтернативний промоутер для *inhA*. Отже, встановлений ще один механізм незрозумілої ізоніазид-резистентності [237]. Подальший пошук генів-кандидатів для розвитку ізоніазид-резистентності МБТ продовжується. Так, виявлено близько 40 генів, мутації в яких спостерігаються в ізоніазид-резистентних штамів і відсутні у ізоніазид-чутливих штамів [238]. Мутації в гені *ahpC*, за даними досліджень в Мексиці, зустрічаються серед 29 % ізоніазид-чутливих за даними фенотипічних досліджень штамів, що дозволяє розглядати заміну С на Т в положенні -15 гена

ahpC як поліморфізм [239]. Важливо, що виникнення кількох мутацій у одного ізолята МБТ може збільшувати його життєздатність, що може призводити до розвитку мульти- і розширеної резистентності МБТ і має особливе значення для регіонів з високою поширеністю медикаментозної резистентності МБТ [240]. Ще однією можливою мішенню для дії ізоніазиду є альдо-кето редуктаза, що відноситься до великої суперродини НАДФ-залежних оксиредуктаз [241].

Дослідження мультирезистентних штамів МБТ в Польщі виявило, що 92 % мали мутації в гені *katG*, серед яких домінувала заміна Ser315Thr (72 %); 16 і 12 % мали мутацію в промоутерному регіоні *inhA* і обидві мутації *katG* і *inhA* одночасно [242]. Мутації в локусі *oxyR-ahpC* зафіксовані у 10% ізолятів (8 % мали одночасно і мутацію в гені *katG*). Мутації в решті локусів включали *kasA*, *ndh*, *nat* і *mshA*, які були зафіксовані у 24, 8, 10 і 34 % відповідно, при цьому всі вище вказані мутації асоціювались з одночасною мутацією в гені *katG*. Отже, визначення мутацій *katG* 315 і *inhA* -15 виявляє ізоніазид резистентні штами в 84 %; додавання секвенування гена *katG* збільшило цей показник до 96 %, водночас визначення інших локусів не впливало істотно на виявлення резистентних штамів [242]. Дослідження в Камеруні виявило, що серед ізоніазид-резистентних штамів 73 % мали мутацію *katG*315 і/або -15 *inhA* промоутерної зони. Загалом, для виявлення резистентності МБТ до ізоніазиду визначення мутації *katG*315 мало специфічність і чутливість на рівня 100 і 71 % відповідно [242]. Серед ізоніазид-резистентних штамів в Китаї 61 % мали мутації в гені *katG*, серед яких найчастіше зустрічались заміни в кодонах 315 (Ser315Thr - 48% і Ser315Asn - 10%) і 431 (Ala431Val - 3%); близько третини ізоніазид-резистентних штамів не мали мутації в гені *katG* [219]. Дослідження в Росії щодо ізоніазид-резистентності, шляхом визначення мутації в генах *katG*, *inhA*, *ahpC* виявили, що у 27 % ізоніазид-резистентних штамів визначались мутації одночасно в 2-3-х генах, домінуючою була мутація в гені *katG*, яка зустрічалась у 91 % ізоніазид-резистентних штамів [243].

Стосовно механізмів резистентності до рифампіцину з боку МБТ, то найчастіше це пов'язано з мутацією в гені *rpoB*, а саме мутації S531L, S531W,

H526Y, і H526D, а також подвійна мутація D516A-R529Q асоціювались з високою мінімальною концентрацією рифампіцину, що пригнічує рост МБТ [244]. Всі рифампіцин-резистентні ізоляти мали мутації в гені *rpoB* (кодон Ser531Leu – 71 %, His526Asp – 15 % і Asp516Val – 14 %). Найбільш поширена мутація в гені *rpoB* в Марокко була заміна в кодоні 531 (Ser531 Leu) [226]. Найбільш поширеною мутацією в Саудівській Аравії, асоційованою з рифампіцин-резистентністю, була мутація в гені *rpoB* в кодоні 531 (69 %), з ізоніазид резистентністю – в гені *katG* в кодоні 315 (67 %). При цьому, у хворих, які народжені в Саудівській Аравії, переважали мутації в кодонах 516 і 526 гена *rpoB*, серед іммігрантів – мутації в положенні -15 і -8 промотора *inhA* [245]. Зважаючи на можливе помилкове визначення рифампіцину при застосуванні ПЛР, рекомендується проводити підтвердження результатів шляхом секвенування гена *rpoB*, особливо в регіонах з низькою поширеністю резистентності [246].

Секвенування 6 локусів МБТ - *katG*, *inhA*, *oxyR-ahpC* міжгенний регіон (для ізоніазиду), *rpoB* (для рифампіцину), *gyrA* і *gyrB* (для фторхінолонів) виявило чутливість і специфічність на рівні 89 і 100 % - для ізоніазиду відповідно; 94 і 100 % - для рифампіцину відповідно; 90 і 100 % для офлоксацину відповідно [247]. Найбільш поширеними мутаціями у мультирезистентних штамів були *katG315*, *inhA15*, *rpoB531*, -526 і -516, *gyrA94*, -90 і -91 [247,248]. Згідно іншого дослідження, виявлення 4 одиночних нуклеотидних поліморфізмів в генах *katG/inhA* забезпечує 96 % чутливості і 97-100 % специфічності для визначення ізоніазид-резистентності; виявлення 11 одиночних нуклеотидних поліморфізмів в гені *rpoB* має чутливість близько 98 % для визначення рифампіцин-резистентності; виявлення 8 одиночних нуклеотидних поліморфізмів в гені *gyrA* (кодони 88-94) виявляло чутливість на рівні 90 % для визначення моксифлоксацин/офлоксацин-резистентності; виявлення близько 30 одиночних нуклеотидних поліморфізмів в 6 генах виявляє розширену резистентність МБТ з чутливістю 90-98 % і специфічністю – 100 % [249]. Серед 27 стрептоміцин-резистентних штамів 7 ізолятів мали

мутації в генах *rpsL* і *gidB* [242]. Секвенуючий аналіз гена *pncA* і аналіз мутацій в гені *rpoB* МБТ забезпечує чутливість і специфічність визначення піразинамід-резистентності на рівні 97 і 94 % відповідно [250].

При розвитку мультирезистентності МБТ виникає потреба застосовувати препарати II^{го} ряду, але при цьому слід враховувати можливість існування резистентності до близьких за будовою препаратів. Наприклад, близько 95 % штамів, що мають мутацію в генах *inhAP* або *inhA* і є резистентними до ізоніазиду, також є нечутливими до етіонаміду; перехресна резистентність між рифабутином і рифампіцином сягає 90 %; штами, що мають резистентність в генах *gyrA94*, *gyrA90* і є резистентними до левофлоксацину, водночас є малочутливими відносно моксифлоксацину [251]. Наведені дані свідчать про різну географічну поширеність мутацій генів у МБТ, що призводять до медикаментозної резистентності. Тому доцільно відстежувати поширеність таких мутацій в окремих регіонах.

Широке розповсюдження резистентних форм МБТ серед хворих на ТБ обумовлює актуальність своєчасної діагностики медикаментозної резистентності. Стандартне визначення медикаментозної резистентності МБТ відбувається у бактеріологічній лабораторії III^{го} рівня [252]. Звичайний культуральний метод визнання медикаментозної чутливості МБТ потребує багато часу і зусиль лабораторного персоналу. Наприклад, час між забором мокротиння і переглядом лікарем результатів медикаментозної резистентності становить приблизно 114 днів; лише 6% хворих з мутирезистентним ТБ отримують відповідне лікування до моменту отримання результатів тесту медикаментозної чутливості [12]. За допомогою радіометричних вимірювань було обраховано МІС (мінімальна концентрація, що пригнічує) ізоніазиду для МБТ: $\leq 0,1$; 0,5; 2,5 і $> 2,5$ мкг/мл чутливі, помірно чутливі, резистентні і дуже резистентні штами, відповідно [253]. МІС для рифаміцину SV у 10 разів менша за аналогічний показник рифампіцину — 0,03 та 0,3 мкг/мл відповідно [129]. Згідно інших даних, спроби оцінити ступень ізоніазид-резистентності МБТ (тобто резистентність МБТ до різних концентрацій ізоніазиду) є мало

продуктивними, оскільки такі відмінності не впливають на наслідки лікування ізоніазид-монорезистентного ТБ [254].

У зв'язку з цим, необхідно розробляти методи, що забезпечують більш швидкі результати. Одним з таких методів є метод нітрат редуктази - це колориметричний метод, який базується на використанні редокс-індикатора і визначення відновлення азоту. Цей метод привертає багато уваги у зв'язку зі своєю простотою, є достатньо точним, дешевим, легким для клінічних лабораторій, особливо в країнах з низькою фінансовою спроможністю [255]. При порівнянні методу прямого визначення нітрат редуктази з пропорційним методом («золотий стандарт») встановлено, що чутливість першого при визначенні резистентності до рифампіцину, ізоніазиду, стрептоміцину і етамбутолу становила 92, 91, 71 і 100 % відповідно; специфічність – 100, 100, 100 і 80 % відповідно; конкордатність з пропорційним методом – 98, 96, 81 і 96 % відповідно. При цьому метод прямого визначення нітрат редуктази потребував 10 днів, пропорційний метод – 28 днів [256]. Ще одним способом, що забезпечує швидке встановлення медикаментозної резистентності, є метод мікроскопічного спостереження медикаментозної чутливості до протитуберкульозних препаратів I^o ряду [257]. Вказаний метод забезпечує для ізоніазиду чутливість – 100 %, специфічність – 93 %; для рифампіцину – 88 і 96 % відповідно; для стрептоміцину – 88 і 96 % відповідно; для етамбутолу – 100 і 88 % відповідно [257].

Для прискорення на 2 тижні отримання результатів медикаментозної чутливості замість традиційного непрямого методу пропорцій на агарі можливо застосовувати прямий метод пропорцій на агарі (MDAPM). При дослідженні чутливості МБТ до рифампіцину, ізоніазиду, етамбутолу і стрептоміцину метод MDAPM виявляє співпадіння зі стандартним методом в 99, 98, 98 і 97 % відповідно [258].

Рідке середовище, таке як MGIT (індикаторна трубка росту мікобактерії - *Mycobacteria growth indicator tube*) – є поширеним способом визнання медикаментозної чутливості, однак може давати похибки у зв'язку з

бактеріальною контамінацією або міксуванню мікобактеріальних колоній [259]. Модифікація MGIT покращує ефективність стандартного методу MGIT на 65 % і зменшує контамінацію мікобактеріальної культури. На сьогоднішній день метод MGIT 960 пропонується на зміну методу BACTEC 460 [260]. Обидва методи продемонстрували однакові мінімальні пригнічуючі концентрації відносно протитуберкульозних препаратів I^{го} ряду. Метод MGIT 960 використовує надійний флуоресцентний сенсор, що базується на гальмуванні кисню, не вимагає радіоізотопів, є безпечним і відносно легким для роботи з ним [260,261]. За іншими даними, визначення рифампіцин-резистентності за допомогою методу розведеного бульйона виявляє більше резистентних штамів МБТ, ніж метод MGIT, особливо серед штамів з низькою поширеністю рифампіцин-резистентності і повільним ростом МБТ [262]. При порівнянні трьох систем визначення резистентності до ізоніазиду, а саме: система MGIT AST SIRE, система BacT/ALERT 3D MB/BacT SIRE, система ТК anti-TB відносно методу Middlebrook 7H10 середовища встановлено, що всі перевірені системи виявили 100 % чутливість і 98, 96 і 95 % відповідно специфічність; всі три тестові системи забезпечують 100 % специфічність і чутливість мультирезистентності [263].

Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) для визначення чутливості МБТ є більш чутливим, специфічним і швидким, порівняно із звичайним культуральним методом, що дозволяє досягати доброго діагностичного ефекту [264,265]. Додавання ПЛР-методу визначення рифампіцин-резистентності знизило поширеність мультирезистентності з 5,5 до 3,8 %. Подальше додавання третього тесту – молекулярного визначення ізоніазиду – призвело до подальшого зниження поширення мультирезистентності – до 3,6 % [266]. Визначення резистентності МБТ до рифампіцину є надійним маркером мультирезистентності, оскільки більшість рифампіцин-резистентних штамів також є резистентними до ізоніазиду. Одним із методів визначення рифампіцин-резистентності є використання коктейлю з 6 проб і циклу ампліфікації, що обертається [267]. Цей спосіб має чутливість і специфічність

близько 97 і 90 % відповідно, що дозволяє широке використання цього методу для експрес діагностики резистентності до рифампіцину.

Метод спрощеного мікробудування для одночасного визначення резистентності до чотирьох протитуберкульозних препаратів визначає мутації в генах *rpoB*, *katG*, *inhA*, *embB* і *rpsL* [268]. Специфічність, позитивна і негативна здатність передбачення щодо всіх 4-х препаратів становить 97, 85 і 98 % відповідно. Ще один спосіб молекулярної діагностики рифампіцин-резистентності - це GeneXpert MTB/RIF. При порівнянні чутливості і специфічності Xpert MTB/RIF методу і МБТ гніздового ПЛР методу для визначення рифампіцин-резистентності становили 86 проти 69 %; 98 проти 94% відповідно. Середній час, потрібний для Xpert MTB/RIF методу близько доби, для гніздової ПЛР – 4 дні [269]. Методом Xpert MTB/RIF протягом 2011-2013 рр. на 65 машинах проведено 47 973 визначень чутливості до рифампіцину, з яких 16,8 % тестів були позитивними [270].

Метод MTBDRplus line probe assay спрямований на визначення резистентності МБТ до рифампіцину безпосередньо у зразках мокротиння хворих [271]. Вказаний спосіб показав більшу кількість випадків медикаментозної резистентності, відносно культурального методу, (94 проти 80 %), співпадіння методів – 94 %. Інше дослідження виявило 100 % конкордантність методу MTBDRplus щодо визначення мультирезистентного ТБ з методом культурального визначення медикаментозної резистентності [272]. При порівнянні MTBDRplus і системи ВАСТЕС встановлено, що чутливість і специфічність першого методу відносно рифампіцину-резистентності становила 86 і 99 % відповідно; відносно ізоніазид-резистентності – 57 і 100 % відповідно [273]. Згідно інших даних чутливість і специфічність MTBDRplus для визначення рифампіцин-чутливості становила 92 і 97 % відповідно; відносно ізоніазид-чутливості – 71 і 99 % відповідно [274]. Обидва методи - GeneXpert MTB/RIF і MTBDRplus – виявили рифампіцин-резистентність в 95-98 % випадках фенотипічної резистентності [275,276]; специфічність для визначення рифампіцину-резистентності за іншими даними – 98 % [277]. У

багатьох випадках, коли наявність мутацій в гені *rpoB* асоціювалась з фенотипічною чутливістю, було встановлено, що в таких випадках мінімальна інгібуюча концентрація була близькою до показника «резистентність». Це свідчить про можливість перегляду концентрація, що застосовуються для визначення рифампіцин-чутливості [275]. Ще одним способом молекулярного визначення рифампіцин-резистентності є Genedrive, що базується на гібридизації проб, отриманих безпосередньо з мокротиння, які застосовуються для визначення наявності трьох мутацій в гені *rpoB* – в кодонах 516, 526 і 531 [278]. Загальна чутливість способу складала 91 % для визначення мутації в гені *rpoB*; при наявності кількості колоній у зразку $\geq 1,000$ CFU/ml чутливість для виявлення МБТ була 100 %, для визначення мутацій в гені *rpoB* – 86 %; при кількості колоній у зразку ≤ 100 CFU/ml чутливість становила 86 % і 66 % відповідно, при цьому специфічність сягала 100 % для виявлення як МБТ, так і гена *rpoB* [278]. В наступній роботі було порівняно три молекулярних методи визначення рифампіцин-резистентності - Xpert MTB/RIF assay, Sacace MTB Real-TM resistance і Advansure GenoBlot assay [279]. При цьому чутливість щодо визначення рифампіцин-резистентності становила 94, 92 і 84 % відповідно; специфічність – 100 % для всіх трьох методів. При порівнянні молекулярно-генетичного (Genechip) і культурального визначення чутливості МБТ до рифампіцину встановлено неспівпадіння результатів в 2% випадків. Призначення препаратів I^{го} ряду при дискордантності результатів (Genechip-резистентний і культура-позитивний; Genechip-чутливий і культура-резистентний) призводило до невдалого лікування у 56 і у 46 % пацієнтів відповідно; водночас застосування препаратів II^{го} ряду – у 14 і 0 % [280].

Запропоновано ще один експрес-метод визначення медикаментозної резистентності, що базується на ампліфікації фрагмента резистентного гена, який використовує реакційну матрицю з наступним подовження шляхом інкорпорації флуоресцент-мічених нуклеотидів, що можна вимірювати флуоресцентної поляризація [281]. При цьому вивчаються мутації в генах *rpoB*, *rpsL*, *rrs*, *embB*, *katG* і *inhA*. Чутливість і специфічність визначення

резистентності МБТ до рифампіцину становили 84 і 96 % відповідно; до стрептоміцину – 67 і 97 %; до етамбутолу – 68 і 95 %; до ізоніазиду – 74 і 99 % відповідно [281]. Ще один експрес-тест для визначення ізоніазид-резистентності представлений набором TV-Biochip MDR (Росія), який визначає мутації в генах *katG*, *inhA*, *ahpC*. Чутливість системи TV-Biochip MDR становила 88 %, специфічність – 91 % [243]. Мультиплексне дослідження (LINE-TB/MDR), що визначає найбільш поширені мутації в генах *rpoB* і *katG*, а також в промоторній зоні *inhA*, базується на мультиплексній ПЛР, мембранній гібридизації і колориметричному визначенні [282]. При порівнянні з ДНК секвенуванням методу LINE-TB/MDR виявив чутливість і специфічність по 100 % для рифампіцину; 78 % і 91 % відповідно для ізоніазиду.

Піросеквенування є ще одним молекулярно-генетичним способом визначення медикаментозної резистентності. Наприклад, розроблено спосіб швидкої ідентифікації і визначення мутацій МБТ, що асоціюються з розширеною резистентністю і базується на 8 субтестах. У порівнянні з традиційним культуральним визначенням медикаментозної резистентності співпадіння спостерігалось в 94 % для ізоніазиду, 99 % для рифампіцину, 98 % для фторхінолонів (офлоксацин, левофлоксацин, моксифлоксацин), 99 % для амікацину і капреоміцину, 96 % для канаміцину [283]. Інший спосіб піросеквенування, який визначав мутації в генах *rpoB*, *katG*, *rpsL*, *embB*, *gyrA* and *rrs*, при порівнянні з результатами Bactec MGIT 960 показав точність щодо визначення резистентності до рифампіцину, ізоніазиду, етамбутолу, стрептоміцину, амікацину і офлоксацину на рівні 95; 79; 70; 85; 97 і 91 % відповідно [284]. Отже, піросеквенування може використовуватись як молекулярно-діагностичний інструмент для раннього виявлення резистентності штамів МБТ.

Ще одна тестова система Autoimmun Diagnostika GmbH (AID) (Німеччина) розроблена для визначення резистентності до ізоніазиду, рифампіцину, стрептоміцину, амікацину, капреоміцину, фторхінолонів і етамбутолу [285]. В 100% випадків дані запропонованої тестової системи, з

одного боку, і дані, отримані шляхом секвенування і фенотипічні дані, з іншого боку, співпадають. Нещодавно Китайська Адміністрація Їжі та Ліків рекомендувала метод визначення ізоніазид-резистентності - MeltPro TB/INH [286]. Метод, що представляє собою закриту двокольорову трубку, базований на ПЛР в реальному часі, що визначає 30 мутацій в гені *katG* в позиції 315, в промоторній зоні *inhA* (положення -17 to -8), в гені *inhA* в позиції 94 і в промоторі зоні *ahpC* (позиції від -44 до -30 і від -15 до 3) МБТ [255]. Згідно досліджень, точність, відтворюваність запропонованого методу відповідає параметрам, що існують для таких наборів. Конкордантність між MeltPro TB/INH і ДНК-секвенуванням становила близько 99% [286].

Метод олігонуклеотидної побудови - BluePoint MtbDR (Bio Concept Inc., Taichung, Taiwan) базується на визначенні найбільш частих мутацій в генах *rpoB*, *katG* і регуляторного регіону *inhA-r* [287]. При порівнянні нового методу і визнаного тесту GenoType MTBDRplus встановлено, що чутливість відносно рифампіцину становить 98 і 99 % відповідно; відносно ізоніазиду – 88 і 89 % відповідно; відносно мультирезистентності – 85 і 87 % відповідно, що доводить точність запропонованого методу визначення медикаментозної чутливості [287].

При порівнянні наступних методів для визначення медикаментозної чутливості МБТ: MGIT 960 SIRE AST, Gene/Xpert MTB/RIF, GenoType MTBDRplus line probe assay, MycoTB MIC plate і розроблений в лабораторії мікобактеріофаг кількісна ПЛР (кПЛР) встановлено, найбільш швидким методом була кПЛР, метод MGIT потребував найбільшу кількість повторів. При цьому співпадіння щодо чутливості/резистентності до ізоніазиду становило 100 %, для рифампіцину – лише у 77 %. кПЛР і MycoTB MIC plate були єдинами методами, що виявляли чутливість до препаратів II^{го} ряду і виявляли значну кількісну кореляцію для всіх протитуберкульозних препаратів [288]. Наведені дані слід зважено враховувати при виборі методу визначення медикаментозної резистентності.

Ситуацію з розширеною резистентністю МБТ має змінити впровадження молекулярно-генетичного тесту із визначенням резистентності до аміноглікозидів і фторхінолонів (GenoType®MTBDRsl), коли діагноз мульти- і розширеної резистентності будуть підтверджувати за 1–2 доби [11], оскільки очікування результатів стандартного методу визначення чутливості МБТ до препаратів II^{го} ряду збільшує летальність хворих з розширеною резистентністю МБТ принаймні на 30 %. Але для цього метод швидкого визначення чутливості має забезпечити чутливість і специфічність визначення щонайменше на рівні 88 і 96 % [289]. Отже, наведені дані засвідчили про важливість подальшої розробки молекулярно-генетичної діагностики медикаментозної резистентності МБТ, що значно скорочує час отримання результатів і сприяє швидкій корекції фармакотерапії ТБ.

В мокротинні хворих, які були госпіталізовані в стаціонар Національного інституту фтизіатрії і пульмонології України в 2007-2009 рр. окрім типових МБТ були виділені мікст-культури мікобактерій туберкульозного комплексу і нетуберкульозні мікобактерії [290]. Серед останніх більшість становили мікобактерії avium-комплекс – 41,7 %, решта належали до *M. xenopi* і *M. kansasii* – 33,3 і 25,0 % відповідно. Серед нетуберкульозних мікобактерій та мікстових культур мікобактерій домінували мультирезистентні штами – 62,5 і 70,8 % відповідно [290]. Цей факт значно обтяжує стан хворих.

Кількість випадків ТБ у людини, що викликані *Mycobacterium bovis*, є недооціненою і в деяких випадках навіть ігнорується в країнах, що розвиваються. Можливо це пов'язано зі складнощами диференціації ТБ, викликаного *Mycobacterium bovis* і *Mycobacterium tuberculosis* [291]. Наприклад, в Мексиці приблизно в 5 % випадків ТБ було ідентифіковано *Mycobacterium bovis*, при цьому ідентифікація штамів за 8-ю локусами VNTR виявило високу інформативну спроможність [291]. Також доведено, що інфікування штамом *M. bovis* пов'язано зі збільшення ризику розвитку ізоніазид і рифампіцин-резистентності [292]. Штами МБТ, що належать до Східноазійського відгалуження (EAI), відзначаються високим рівнем

фторхінолон-резистентності [292]. Отже, з'ясування генотипу МБТ на початку лікування може бути корисним для проведення коректного лікування.

Однією з родин МБТ є Східно-Азіатська (*Beijing*), значне поширення якої вперше було виявлено в 1995 р. у китайській провінції Beijing [293]. Значне поширення штамів *Beijing* у різних регіонах світу дозволяє припустити, що ця родина має генетичні переваги над іншими лініями МБТ щодо здатності інфікувати людину та спричиняти захворювання. Ця філогенетична лінія відрізняється від інших родин МБТ більшою вірулентністю і здатністю виживати в організмі людини.

Ще однією з особливостей штамів родини *Beijing* є здатність до швидкого формування медикаментозної резистентності [293]. Внаслідок мутацій у штамів родини *Beijing* їх адаптаційні властивості не знижуються, що може бути однією з причин значного поширення цих штамів. Новітні дослідження в Китаї виявили, що серед мультирезистентних штамів 84 % становили штами родини *Beijing*, 59 % - штами сучасної родини *Beijing* [247]. При порівнянні хворих на ТБ різних вікових груп в Китаї – до 15 років; 15-18 років; після 18 років – встановлено домінування штамів родини *Beijing* в усіх вікових групах – 86, 81 і 75 % відповідно [294]. Штами родини *Beijing* частіше виділяються від пацієнтів, що вперше захворіли, ніж від пацієнтів під час повторного лікування (91 проти 70 %). У хворих, інфікованих штамами родини *Beijing* частіше спостерігались випадки резистентності до препаратів першого ряду, включаючи і мультирезистентність, ніж серед хворих з штамами групи *non-Beijing* [294]. Штами родини *Beijing* частіше висівались серед мешканців західної і північної частин Китаю. Також певна географічна гетерогенність штамів спостерігається в Ірані [217].

В Саудівській Аравії переважають штами родини *Beijing* і групи EAI – 57 і 43 % відповідно [245]. В Південній Америці (Французька Гвіана) спостерігаються головним чином штами 5-ти груп: T (30 %), LAM (24 %), Haarlem (22 %), EAI (7 %) і X (7 %) [228,295]. Встановлено, що приналежність штамів МБТ до певних філогенетичних груп асоціюється з різним профілем

медикаментозної резистентності [296]. Так, серед мультирезистентних штамів домінують штами груп X і LAM (відповідно 11 і 42 % серед мультирезистентних штамів) [228,295]. З іншого боку, дослідження в Пакистані із застосування генотипування МБТ за 24 MIRU-VNTR локусами дозволило отримати різні профілі TB-SPRINT, що відзначались мультирезистентністю, але при цьому не вдалося довести зв'язок «генотип-мультирезистентність» [218]. Отже, трансмісія штамів МБТ не є обов'язковою умовою розвитку резистентності у хворих на ТБ [218].

Секвенування цілого генома дозволяє ідентифікувати мультирезистентні штами МБТ, що зустрічаються у кількох хворих. Трансмісія мультирезистентних штамів в групі хворих з повторним лікуванням підкреслює важливість ранньої діагностики і інфекційного контролю [297,298]. Застосування генотипування також може надати допомогу і в клініко-епідеміологічних дослідженнях, коли треба вирішити питання природи рецидиву – або це результатом активації мікобактерії, що вже знаходилась в організмі людини, або це результат інфікування новим штамом.

Наведені в огляді літератури дані свідчать як про здобутки, так і невдачі у лікування ТБ в Україні. Серед здобутків слід відзначити зменшення захворюваності і смертності від ТБ у період 2006-2011 рр. в Україні, розробку нових методів молекулярно-генетичної діагностики медикаментозної резистентності МБТ, поглиблення знань щодо механізмів токсичності протитуберкульозних препаратів. Серед задач, які ще потребують свого вирішення знаходиться з'ясування генетичних факторів хворих на ТБ що впливають на виникнення, перебіг ТБ процесу, фармакокінетику і фармакотоксикодинаміку протитуберкульозних препаратів, виникнення медикаментозної резистентності МБТ. Так, роль ферментів родини цитохром (СYP) 450, наприклад 2E1, 2C9, 2C19, для трансформації рифампіцину, ізоніазиду лише вивчається [126]. Кожна країна потребує скринінгових досліджень щодо генів, які визначають швидкість біотрансформації ліків, відповідно контролюють інактивацію препаратів. Водночас в Україні

проводяться не чисельні фармакогенетичні дослідження [299,300]. Також важливим є з'ясування поширеності такого явища, як субефективну концентрація протитуберкульозних препаратів та його вплив перебіг і наслідки лікування. Важливим є і розробка сучасних молекулярно-генетичних методів визначення медикаментозної резистентності і ідентифікації МБТ. У зв'язку з цим першочерговою задачею клінічної фармакології ТБ постає подальше дослідження впливу генетичних особливостей хворого на туберкульоз на ефективність і безпечність лікування, що дозволить впровадити генотипування як корисний інструмент оптимізації терапії ТБ. Тому дана робота присвячена з'ясуванню комплексного взаємозв'язку між патогеном, організмом людини і дією протитуберкульозних препаратів під час лікування ТБ.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Характеристика ретроспективних і проспективних методів дослідження

Дослідження проводили згідно існуючих біоетичних норм (протокол № 66Б комісії з питань біоетики ОНМедУ від 26.09.2014 р.). Для дослідження поліморфізму генів біотрансформації – *CYP2C9*, *CYP2C19*, *CYP2E1*, *NAT2* – проведено забір крові серед здорових донорів на базі Одеської обласної станції переливання крові (ООСПК) в 2011 р., а також аналіз доступних даних осіб (вік, стать, група крові) (табл. 2.1).

Для вивчення особливостей поліморфізму генів біотрансформації у хворих на ТБ легень, а також вмісту найбільш ефективних протитуберкульозних препаратів – ізоніазиду, рифампіцину, маркерів стану про-/антиоксидантної систем (дієнові кон'югати, каталаза) проводили забір венозної крові на базі Одеського обласного протитуберкульозного диспансеру (ООПТД) на початку стаціонарного лікування в 2012 р. Для дослідження відбирались лише хворі, у яких вперше діагностовано ТБ легень і які не виділяли мультирезистентних штамів МБТ. Рівень ізоніазиду, рифампіцину, дієнових кон'югатів (ДК), каталази вивчали через 2, 4, 6 і 24 год після застосування препаратів у кожного пацієнта. Всі хворі на ТБ легень отримували у складі комплексної терапії рифампіцин і ізоніазид внутрішньо з розрахунку 8-12 і 4-6 мг/кг маси тіла (загалом 450-600 і 300-400 мг) відповідно на добу згідно наказу МОЗ України від 9.06.2006 р. № 384. Відбір учасників дослідження в обох групах проводили методом «поперечного зрізу» без вікових чи статевих обмежень [301]. Критеріями виключення учасників з дослідження в обох групах була наявність верифікованої ВІЛ-інфекції, вірусних гепатитів.

Обсяг і характеристика проведених досліджень

Предмет дослідження	Проведені дослідження
Венозна кров здорових добровольців (n=122)	Визначення генотипу <i>NAT2</i> , <i>CYP2C9</i> , <i>CYP2C19</i> , <i>CYP2E1</i>
Венозна кров хворих на ТБ легень (n=86)	Визначення генотипу <i>NAT2</i> , <i>CYP2C9</i> , <i>CYP2C19</i> , <i>CYP2E1</i> ; вимірювання концентрації ізоніазиду, рифампіцину, ДК, активності каталази
Медичні картки хворих ООПТД (n=86)	Збір особливостей перебігу захворювання, клініко-лабораторних та біохімічних (активність АсАТ, АлАТ, ГГТ тощо) даних
Журнали бактеріологічної лабораторії ООПТД і Одеської обласної клінічної протитуберкульозної лікарні (ООКПТЛ) в 2012 і 2006 рр. (n=158)	Дані про результати визначення медикаментозної резистентності штамів <i>M. tuberculosis</i>
Ізоляти ДНК <i>M. tuberculosis</i> (n=210)	Детекція мутацій за допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) для генів <i>katG</i> , <i>inhA</i> , <i>rpoB</i> ; приналежності до родини <i>Beijing</i> ; MIRU-VNTR типування

Для вивчення рівня поширеності резистентності МБТ було проведено ретроспективне вивчення даних бактеріологічних досліджень резистентності до медикаментозних засобів, що були виконані в бактеріологічних лабораторіях ООКПТЛ і ООПТД в 2006 і 2012 роках відповідно. Всього було проаналізовано данні про 158 культур МБТ, з них 104 культури, що були виділені від хворих, які вперше лікувались з приводу ТБ легень, в 2006 р. і 54 культури, що були

виділені від хворих, які вперше лікувались з приводу ТБ, в 2012 р. Ці культури досліджувались на резистентність до протитуберкульозних препаратів I ряду.

Перспективний метод застосовували для вивчення особливостей перебігу і стану хворих на момент завершення стаціонарного лікування хворих на ТБ легень, а також розповсюдження мутацій в генотипі штамів МБТ, що призводять до медикаментозної резистентності. Перебіг та наслідки стаціонарного лікування вивчали за даними медичних карт хворих після їх виписки зі стаціонару. Також, були проведені молекулярно-генетичні дослідження на матеріалі чистих культур МБТ, ізолятів ДНК, отриманих з культур хворих на різні форми туберкульозу легенів.

Починаючи з лютого 2002 р. на території України набув чинності Наказ Міністерства охорони здоров'я №45 від 6.02.2002 р. [302]. Згідно з цим Наказом планується поступовий перехід до тестування медикаментозної чутливості виділених штамів мікобактерій за допомогою методу пропорцій з використанням хімічно чистих субстанцій лікарських препаратів, що співпадає з вимогами міжнародних стандартів.

Зважаючи на важливе значення показників первинної медикаментозної резистентності, ми вивчали окремо цей показник серед хворих, які лікувались з приводу туберкульозу легень вперше і протягом початкових 4-их тижнів лікування. Вивчали медикаментозну резистентність штамів МБТ до препаратів першого ряду - ізоніазиду, рифампіцину, стрептоміцину і етамбутолу за даними журналів бактеріологічних лабораторії ООПТД і ООКПТЛ.

Нами був проведений ретельний аналіз і порівняння даних лабораторної (бактеріологічної) служби з медичними картками після виписки хворих на ТБ легень. Показники медикаментозної резистентності штамів МБТ, поширеності генних мутацій, що пов'язані з медикаментозною резистентністю, порівнювались з показниками попередніх років.

Для збору анкетних, епідеміологічних даних і відомостей щодо особливостей захворювання на кожного хворого була заповнена анкета, до якої увійшли:

а) анкетні дані – прізвище, ім'я, по-батькові, вік, стать тощо;

б) особливості стану хворого на початку лікування – форма туберкульозу (інфільтративний, дисемінований, локалізований), наявність/відсутність деструкції легеневої тканини, фаза туберкульозного процесу (інфільтрація, розпад, дисемінація), категорія хворих на ТБ (I, II, III, IV), наявність/відсутність бактеріовиділення (за даними мікроскопії мокроти, посіву), дані щодо медикаментозної чутливості *M.tuberculosis*;

в) особливості стану хворого при завершенні лікування – форма ТБ легень (інфільтративний, дисемінований, локалізований), наявність/відсутність деструкції, припинення деструкції легеневої тканини, фаза туберкульозного процесу (дисемінація, рубцювання, розсмоктування), категорія хворого на ТБ (I, II, III, IV), наявність/відсутність бактеріовиділення (за даними мікроскопії мокроти, посіву), припинення бактеріовиділення (кількість і швидкість), дані щодо медикаментозної чутливості МБТ, тривалість стаціонарного лікування;

г) лабораторні дані хворих на початку і при завершенні стаціонарного лікування (загальний аналіз крові – кількість еритроцитів, лейкоцитів, лейкоцитарна формула, рівень гемоглобіну і швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ); біохімічне дослідження крові – загальний білірубін, активність аланінамінотрансферази (АлАТ), аспартатамінотрансферази (АсАТ), гамма-глутамілтрансферази (ГГТ), тимолова проба.

2.2. Молекулярно-генетичні методи, використані для генотипування хворих і здорових добровольців

Виділення ДНК з лейкоцитів проводять в бактеріологічній лабораторії з використанням набору реагентів АмплиСенс «ДНК сорб-В» згідно інструкції наданою фірмою – виробником. Генотип ацетилювання визначався шляхом алель-специфічної ампліфікації *NAT2* алелів з використанням полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). ПЛР проводили з використанням ампліфікатора «Терцик» (РФ), праймери і ендонуклеази були придбані у науково-виробничій

фірмі «Сіместа-ВААЛ» (Україна). Були використані специфічні праймери для дикого (wt) і мутантного алелів M1, M2 і M3. Праймер “M1 wt” (CTGATTTGGTCCAG) є комплементарним до гена *NAT2* в положенні 481-494, праймер “M1 mut” (CTGATTTGGTCCAA) розпізнає мутацію C481T в M1; праймер “M2 wt” (TTTACGCTTGAACCTCG) є комплементарним до гена *NAT2* в положенні 574-590 і “M2 mut” (TTTACGCTTGAACCTCA) розпізнає мутацію G590A в M2; праймер “M3 wt” (AATAGTAAGGGATC) є комплементарним до гена *NAT2* в положенні 857-870 і “M3 mut” (857-870, AATAGTAAGGGATT) розпізнає мутацію G857A для M3 [303]. Таким чином, було досліджено поліморфізм гена *NAT2*: C>T 481 (*NAT2*5A*), G>A 590 (*NAT2*6A*), G>A 857 (*NAT2*7A/B*). Загальний праймер, використаний з праймерами M1 wt, M1 mut, M3wt і M3mut, є «праймер 1» (-74 до -58, AATTAGTACACGAGGA), для реакцій з праймерами M2 wt і M2 mut – «праймер 2» (1119-1138, TCTAGCATGAATCACTCTGC).

Реакційна суміш (кінцевий об'єм 50 мкл) для визначення генотипу *NAT2* містила 10мМ (трис-НСІ при рН 8,3; 50 мМ КСІ, 0,01% желатин, 0,2 мМ кожного dNTP, кожного праймера 0,5 мкМ, 1,25 Од. Таq ДНК полімерази, 300-600 нг геномної ДНК, 1,5 мМ MgCl₂ (M1 wt, M1 mut), 1,25 мМ MgCl₂ (M2 wt, M2 mut) або 1,75 мМ MgCl₂ (M3 wt, M3 mut). Реакція була виконана на ампліфікаторі за наступними умовами: 30 циклів 94°C – 1 хв, 48°C – 90 сек (для M1) / 55°C (для M2) / 35°C (для M3), 72°C – 3 хв. з фінальною екстензією 72°C – 7 хв. 10 мкл кожного зразка в 1,5% агарозному гелі з доданням 1% бромистого етідію з подальшою візуалізацією під ультрафіолетовим світлом.

Генотип *CYP450 2C9* визначали за допомогою ПЛР та ендонуклеазного аналізу за методом Sullivan-Klose T.H. et al. (1996) [304]. Автори пропонують використовувати три праймери. Для ПЛР-ампліфікації *CYP2C9*2* і *CYP2C9*3* дві пари відповідних специфічних праймерів – для першої алелі (прямий праймер TACAААТАСААТGAAAАТАТСАТG і зворотній праймер СТААСААССАGАСТСАТААТG), для другої алелі (прямий праймер ААТААТААТАТGСАСGAGGTCCAGAGATGС і зворотній праймер

GATACTATGAATTTGGGACTTC). ПЛР продукти *CYP2C1*2* і *CYP2C9*3* були піддані рестрикції за допомогою ферментів (рестриктаз) *AvaII* і *NsiI* відповідно. Оскільки місце рестрикції відсутнє в мутантних алелях, ПЛР продукти уникали рестрикції відповідними ферментами, що свідчило про наявність алеля *CYP2C9*2* при застосуванні *AvaII* або алеля *CYP2C9*3* при застосуванні *NsiI*.

Реакційна суміш (кінцевий об'єм 25 мкл) для визначення генотипу *CYP2C9* містила 1,2 мМ $MgCl_2$, 1 мкл ПЛР буферу, 200 мкМ dNTP, 60 пМ оберненого і прямого праймерів, 2,5 Од. ДНК полімерази, 100 нг геномного зразка. Реакція була виконана на ампліфікаторі за наступними умовами: початкова денатурація 94°C – 5 хв; 35 циклів 94°C – 1 хв, 60°C – 90 сек, 72°C – 30 сек.

Далі кожний ДНК ампліфікат (8 мкл) був предметом для рестрикційного ферментного аналізу з 5 Од. *SmaI* і *BamHI*. Після інкубації протягом ночі при 37°C, нуклеотидні фрагменти визначались в 1,5% агарозному гелі з додаванням 1% бромистого етідію з подальшою візуалізацією під ультрафіолетовим світлом.

Генотип *CYP450 2C19* визначали за допомогою полімеразно ланцюгової реакції (ПЛР) та ендонуклеазного аналізу за методом Goldstein J.A., Blaisdell J., (1996) [305]. Для ПЛР-ампліфікації *CYP2C19*2* і *CYP2C19*3* дві пари відповідних специфічних праймерів – для першого алеля (прямий праймер 5'-CAGAGCTTGGCATAATTGTATC'-3 і зворотний праймер 5'-GТАААСАСАСААСТАGТСААТG'-3), для другого алеля (прямий праймер 5'-АААТТGТТТССААТСАТТТАGСТ'-3) і зворотний праймер 5'-АСТТCAGGGCTTGGTCAАТА'-3). ПЛР продукти *CYP2C19*2* і *CYP2C19*3* були піддані рестрикції за допомогою ферментів (рестриктаз) *SmaI* і *BamHI* відповідно. Оскільки місце рестрикції відсутнє в мутантних алелях, ПЛР продукти уникали рестрикції відповідними ферментами, що свідчило про наявність алеля *CYP2C19*2* при застосуванні *SmaI* або алеля *CYP2C19*3* при застосуванні *BamHI*. Після інкубації з ендонуклеазами, нуклеотидні фрагменти

визначались в 1,5% агарозному гелі з доданням 1% бромистого етідію з подальшою візуалізацією під ультра фіолетовим світлом.

Генотип *CYP450 2E1* (5^{ий} фланкуючий регіон) вивчали за допомогою ПЛР та ендонуклеазного аналізу за методом Shunji Kato et al., (1992) [306]. Автори пропонують використовувати два праймери (0,8 мкМ) від локусу -1370 до -1349 (5'-CCAGTCGAGTCTACAT) і -999 до -978 (5'-TTCATTCTGTCTTCTAACTGG) з буфером (10 мМ трис-НСl, 50 мМ КСl, 2 мМ MgCl₂, рН 8,3), з 2'-дезоксинуклеотид-3'-трифосфатами (1,875 мМ) і Таq полімеразою, в результаті чого утворюється фрагмент з 412 п.н. Далі, ДНК продукт (15 мкл) піддавався дії рестрикційного ферменту *RsaI* (5 Од.) в буфері (90 мМ MgCl₂, 1 мМ дитіотреїтол при 37°C протягом 18 год.). Після інкубації нуклеотидні фрагменти визначались в 1,5% агарозному гелі з додаванням 1% бромистого етідію з подальшою візуалізацією під ультрафіолетовим світлом.

Генотип *CYP450 2E1* (6^{ий} інтрон) досліджували за ПЛР та ендонуклеазного аналізу за методом Dong-Xin Lin et al., (1998) [307]. Автори пропонують використовувати два праймери 5'-ССТТСТТGGTTCAGGAGAGG-3' і 5'-AGACСТССАСАТТGACTAGC-3', об'єм ампліфакційної суміші становить 50 мкл, що включає по 1 мкл кожного праймера, 0,2 мМ 2'-дезоксинуклеотид-3'-трифосфатами, 2,5 мМ MgCl₂ і Таq полімеразою (1,5 Од/50 мкл). Реакція була виконана на ампліфікаторі за наступними умовами: 35 циклів 94°C – 30 сек., 64°C – 30 сек, 72°C – 2 хв., в результаті чого утворюється фрагмент з 686 п.н. Далі, ДНК продукт (15 мкл) піддавався дії рестрикційного ферменту *DraI* (10 Од.) при 37°C протягом 4 год. Після інкубації нуклеотидні фрагменти визначались в 1,5% агарозному гелі з доданням 1% бромистого етідію з подальшою візуалізацією під ультрафіолетовим світлом.

2.3. Методи вимірювання концентрації протитуберкульозних препаратів в крові хворих

Визначення *вмісту активного ізоніазиду* в сироватці крові проводили наступним чином. До 2 мл сироватки крові додають 1 мл води і 1 мл 30%

трихлороцтової кислоти (ТХУ), ретельно перемішуючи скляною паличкою і залишають в холодильнику на 15 хв. Потім центрифугують пробу при 3000 об/хв. протягом 15 хв. 2 мл абсолютно прозорого центрифугата (відповідає 1 мл сироватки крові) вносять в мірну пробірку, підлужнюють за фенол-фталеїном 10% розчином їдкою натрію, додаючи його краплями, потім підкислюють 1 N розчином сірчаної кислоти до зникнення малинового забарвлення [308]. Надлишок сірчаної кислоти в пробі має бути не більше 1 краплі. Об'єм проби доводять водою до 4 мл, після чого додають 2 мл ванадієвокислого амонію і ретельно перемішують. Інтенсивність отриманого забарвлення вимірюють через 60 сек. на спектрофотометрі СФ-4 при 400 нм. Оптичним контролем слугують проби, в яких сироватка крові замінена водою. За величиною оптичної щільності проби, що аналізується, розраховується концентрація активного ізоніазиду в 1 мл сироватки крові, використовуючи попередньо складений калібровальний графік.

Калібровальну криву будують зі стандартного розчину кристалічного ізоніазиду в присутності ТХУ кислоти. Робочі розчини ізоніазиду з концентрацією 40 мкг/мл і 10 мкг/мл зручно готувати з основного розчину препарату, що містить 1000 мг/мл. До складу калібровальних стандартних проб вносять необхідну кількість робочого розчину ізоніазиду (що відповідає 2,5; 5,0; 7,5; 10,0; 15,0 і 20,0 мкг ізоніазиду), додають 0,5 мл 30 % ТХУ кислоти і стільки ж води, потім підлужнюють за фенол-фталеїном їдким натрієм і проводять зворотне титрування сірчаною кислотою. Загальний об'єм кожної проби доводять водою до 4,0 мл і, після додавання по 2 мл ванадієвокислого амонію, вимірюють величину оптичної щільності, як це описано при роботі з сироваткою крові.

Для визначення вмісту активного рифампіцину в сироватці крові проводили наступне. На початку вимірювання 4 мл венозної крові центрифугують 30 хв. при 3000 обертів/хв. Далі по 2 мл отриманої плазми переносять до пробірок з притертими пробками і до кожної проби додають 4 краплі 0,1 N HCl, щоб отримати рН плазми 6,7 [309]. Встановлено, що при рН

6,7 відбувається максимальна екстракція рифампіцину з плазми крові. До підкислених проб доливають 5 мл хлороформу і екстрагують протягом 5 хв. Для проведення кінцевої оцінки вмісту рифампіцину, його з розчину в хлороформі переводять в лужну фазу, в якій вимірюють оптичну щільність препарату. Для цього верхній шар плазми видаляють, доливають до нього 5 мл 0,1 N КОН і проводять екстракцію з хлороформу в КОН протягом 5 хв. Лужний шар переносять в чисті пробірки і порівнюють при довжині хвилі 470 нм з контрольною пробою, що не містить препарат, на спектрофотометрі «СФ-46». Калібровальну криву будують за допомогою стандартних розчинів рифампіцину в сироватці крові в концентраціях 1, 5, 10, 15, 20 и 50 мкг/мл.

Однак використання зазначеної методики не є достатньо інформативним через неповну екстракцію рифампіцину, яка обумовлена режимом екстрагування. Тому під час роботи було запропоновано і експериментально підтверджено ефективність наступних заходів. Зокрема, додатково перед першим етапом екстракції до плазми крові додають 2 мл дистильованої води і 4 краплі 0,1 N розчину соляної кислоти (HCl), ретельно струшують пробірки протягом кількох хвилин після додавання 5 мл хлороформу, дослідну пробірку після додавання 5 мл 0,1 N розчину гідроксиду калію (КОН) центрифугують протягом 10 хв за швидкості 3000 об/хв після додавання КОН. Використання в якості біологічного матеріалу сироватки крові замість плазми значно спрощує отримання та зберігання біологічного матеріалу. Додавання на початку дослідження до дослідної сироватки дистильованої води і ретельне струшування після додавання хлороформу дозволяють досягти кращого розділення 2-х шарів – піни і шару білка, що зазнав коагуляції разом із рідкою частиною сироватки. Введення до режиму центрифугування після додавання КОН сприяє кращому розділенню на осад, в якому саме і міститься рифампіцин, і прозорий розчин, де рифампіцин відсутній. Представлений удосконалений спосіб екстракції рифампіцину було закріплено патентом України № 88002 від 25.02.2014 р.

Обчислювали такі фармакокінетичні показники як $T_{1/2}$ (half-life - період напіввиведення), AUC (area under curve – площа під кривою), MRT (mean residence time – середній час утримання)*. $T_{1/2} = 0,693/k_{el}$, де k_{el} (константу елімінації) обчислювали як тангенс кута нахилу напівлогарифмічної кривої, що відображає фазу кінетики ізоніазиду, до вісі абсцис [310]. Для обчислення AUC використовували метод трапецій в межах однокамерної моделі; MRT вираховували як частку $AUMC/AUC$.

2.4. Методи, використані для оцінки стану про- і антиоксидантної систем

Визначення *вмісту дієнових кон'югатів* в сироватці крові проводили наступним чином. Під час перекисного окиснення на стадії утворення вільних радикалів в молекулах поліненасичених вищих жирних кислот виникає система пов'язаних подвійних зв'язків, що супроводжується появою нового максимуму в спектрі поглинання – $\alpha_{max}=233$ нм; $\epsilon=2,2*10^{-5}$ м⁻¹ см⁻¹ [311]. Для вимірювання вмісту ДК в плазмі крові на початку готують органічну суміш гептан-ізопропіловий спирт, у співвідношенні 1:1, в об'ємі з розрахунку кількості дослідних проб. Дослідна проба: 5 мл суміші + 2 мл сироватки (розведення 1:10) – в високих пробірках з притертими пробками, струшуємо 2 хв. Залишаємо постояти 5 хв. на столі. Відбираємо 2 мл гептанової фази + 1 мл етанолу. Оптичну щільність проб вимірюють на спектрофотометрі при 233 нм в кварцевих кюветах. Як контроль використовували 3 мл гептану.

Розрахунок:

$$A = \frac{\Delta E * p}{2,2 * 10^{-5} * c} \quad / \text{ Моль/л } / \quad , \text{ де } p - \text{ розведення; } c - \text{ концентрація сироватки}$$

Вимірювання *активності каталази* в сироватці крові проводили наступним методом. Принцип методу ґрунтується на здатності молібдату амонію при взаємодії с перекисом водню утворювати забарвлений в жовтий

колір комплекс. На початку до 2 мл 0,03% розчину перекису водню додаємо 0,5 мл води і 0,1 мл сироватки. Отриману суміш поміщаємо в термостат при температурі 37°C на 5 хв. [312,313]. Після цього зупиняли реакцію додаванням 4 мл 4% розчину молібдату амонію. Контроль на забарвлення проводили наступним чином. До 2 мл 0,03% розчину перекису водню додаємо 0,5 мл (12 мМоль) азиду натрію (інгібітор каталази), 4мл 4% молібдату амонію і 0,1 мл сироватки крові. Контроль на реактиви включає 2,6 мл дистильованої води і 4 мл 4% розчину молібдату амонію. Інтенсивність забарвлення вимірюємо на спектрофотометрі при довжині хвилі 410 нм. Активність каталази визначаємо за різницею між оптичною щільністю дослідної і контрольної проб, що є результатом дії каталази і виражали в мкаталах на мг білка.

Розрахунок:

$$A = \frac{\Delta E * 1000}{22,2 * 0,1 * 300} \quad / \text{ мкат/л } / \text{ де}$$

$$\Delta E = E_{\text{забарвлення}} - E_{\text{дослід}};$$

$$22,2 * 1000 \text{ мм}^{-1} - \text{коєфіцієнт мілімолярної екстинції перекису водню}$$

2.5. Молекулярно-генетичні і бактеріологічні методи, вивчення медикаментозної резистентності і ідентифікації мікобактерій туберкульозу

Бактеріологічний метод дозволяє виявити в біологічному матеріалі (мокротиння, рідина суглобу тощо) МБТ при наявності більше, ніж 100 мікобактерій в 1 мл. Виділення бактеріологічним методом мікобактерій свідчать про їх високу життєздатність. Більшість посівів дає ріст мікобактерій протягом одного-двох місяців, тому інкубували посіви до двох з половиною місяців. Ще такий же термін займало наступне вивчення медикаментозної резистентності методом посіву. Визначення чутливості/резистентності збудника туберкульозу проводили з використанням методу абсолютних концентрацій на щільному живильному середовищі. Концентрації

протитуберкульозних препаратів складали (мкг/мл): ізоніазид – 0,2; рифампіцин – 40,0; етамбутол – 2,0; стрептоміцин – 4,0. При визначенні результатів використовували критерії, наведені у відповідних розділах Наказу № 45 [302].

Чутливими до медикаментозного препарату вважаються ті мікобактерії туберкульозу, на які препарат в концентрації, яка досягається в осередку інфекції, чинить бактеріостатичну або бактерицидну дію, незалежно від розташування мікобактерій - внутрішньо- чи позаклітинного. Чутливість МБТ до медикаментозних препаратів відповідає мінімальній концентрації препарату, яка пригнічує ріст мікобактерій при стандартних умовах дослідження. Розподіл мікобактерій туберкульозу на чутливі та стійкі проводили на основі встановлених критеріїв лабораторних досліджень з використанням «критичних» концентрацій препаратів (критерії резистентності) [314].

Сьогодні одним із найбільш високо специфічних, достовірних, швидкісних методів діагностики інфекційних захворювань є генодіагностика методом ПЛР. Цей метод є високо ефективним при діагностиці туберкульозу різних форм і локалізацій, а також мікобактеріозів людини.

Також в літературі з'явилися дані щодо визначення медикаментозної чутливості мікобактерій до різних антибактеріальних препаратів за допомогою мультіплексної алель-специфічної ПЛР (МАС-ПЛР). В літературі надана методика визначення мутантних послідовностей в генах *katG*, *inhA* і *rpoB* [315,316], виникнення яких спричиняє медикаментозну резистентність до ізоніазиду та рифампіцину. Головними перевагами цього метода є значно більша чутливість і швидкість отримання результатів, що відіграє вирішальну роль для призначення адекватної фармакотерапії.

Для вивчення резистентності штамів *M. tuberculosis* за допомогою МАС-ПЛР нами були обрані зразки 210 культур, що були виділені від пацієнтів ООКПТЛ і ООПТД, які були на лікуванні протягом в 2006 і 2012 рр. відповідно. Виділення ДНК проводилось в бактеріологічній лабораторії ООПТД за наступною методикою [317].

Розливали в потрібну кількість епіндорфів по 200 мкл води. Петлею переносили колонію мікобактерій із середовища у відповідний епіндорф, суспендували вміст. Додавали в кожен епіндорф рівний (200 мкл) обсяг хлороформу, суспендували на вортексі протягом 30 сек. Поміщали епіндорфи в мікротермостат і інкубували при температурі 80°C протягом 20 хв. Негайно після цього поміщали епіндорфи в морозильник на 5 хвилин. Витягували з морозильника, центрифугували при 10000 об/хв протягом 5 хв. Після цього піпеткою переносили супернатант до чистих заздалегідь промаркованих епіндорфів. Після центрифугування в кожній пробірці утворюються 3 шари: хлороформ на дні, білий шар білка та прозорий ДНК-екстракт зверху. Переносили екстракт в іншу чисту пробірку, не торкаючись білкового шару. Зберігали при температурі -18°C.

Визначення *медикаментозної резистентності до ізоніазиду* проводили за допомогою МАС-ПЛР [316]. Методика спрямована на визначення мутантних послідовностей в кодоні 315 гена *katG*. Автори пропонують використовувати три праймери. Внутрішній зворотний праймер *katg5R* (5'-ATACGACCTCGATGCCGC) розташовується так, що його 3'-кінець приєднується до другого нуклеотиду (G) кодона 315 дикого типу алелі (AGC). У випадку відсутності мутації ампліфікується фрагмент з молекулярною вагою 292 п.н. за допомогою зовнішнього прямого праймеру *katg0F* (5'-GCAGATGGGGCTGATCTACG) та внутрішнього зворотного праймеру *katg5R*. Якщо мутація (AGC→ACC) має місце – внутрішній праймер *katg5R* не приєднується і фрагмент з молекулярною вагою 292 п.н. не ампліфікується. Замість цього два зовнішні праймера - *katg0F* та *katg4R* (5'-AACGGGTCCGGGATGGTG) фланкують весь регіон гена *katG*, що досліджується. У цьому випадку ампліфікується фрагмент з молекулярною вагою 435 п.н. Таким чином, фрагмент 435 п.н. ампліфікується тільки у штамів з *katG*-мутаціями та є обраним як індикатор медикаментозної резистентності до ізоніазиду [316].

Реакційна суміш (кінцевий об'єм 22 мкл) для визначення мутантної послідовності в кодоні 315 гена *katG* містила 1,5 мМ MgCl₂, 5 Од.

рекомбінантної *Taq* ДНК полімерази, 200 мкМ кожного дезоксинуклеотиду трифосфата, 30 пмоль кожного з праймерів *katg0F* та *katg5R* і 40 пмоль праймера *katg4R*; 1,14 мкл очищеного ДНК-зразка. Для підвищення інформативності та покращення якості зображення нами було запропоновано в реакційну суміш ввести додаткові компоненти, а саме буфер для полімеразно-ланцюгової реакції червоний – 10 мкл та вода для полімеразно-ланцюгової реакції – до 25 мкл, а також збільшити вміст хлориду магнію та рекомбінантної *Taq* ДНК полімерази до 2 мкл та 0,8 мкл – відповідно. Запропонована модифікація була представлена у нововведенні, інформаційному листі і методичній рекомендації. Реакція була виконана на ампліфікаторів за наступними умовами: початкова денатурація 96°C – 3 хв; 5 циклів 95°C – 1 хв, 62°C – 40 сек, 72°C – 30 сек; 20 циклів 94°C – 1 хв, 60°C – 40 сек, 72°C – 30 сек; фінальна елонгація 72°C – 3 хв.

Детекція результатів проводилась в 1,5% агарозному гелі з доданням 1% бромистого етідія з подальшою візуалізацією під ультрафіолетовим світлом. У разі ампліфікації специфічного фрагменту з диким типом алелі кодона 315 гена *katG* були наявними фрагменти з молекулярною вагою 292 п.н., у випадку присутності мутації – фрагменти з молекулярною вагою 435 п.н.

Вказаний метод має істотний недолік, оскільки ДНК-ізолят отримують з культурального середовища, який потребує щонайменше 1 місяця для росту на поживному середовищі. Для скорочення часу було запропоновано досліджувати зразки збудника туберкульозу безпосередньо з мокротиння хворого на туберкульоз з попереднім застосуванням тест-системи «ДНК-сорб-В» («АмплиСенс МБТ-Eph»).

Для цього мокротиння об'ємом не менш ніж 500 мкл збирали у одноразові ємкості, додавали «Муколізін» у співвідношенні 1:5. Суміш залишали на 20-30 хв, періодично струшуючи. Після цього відбирали 100 мкл матеріалу та поміщали у маркіровані 1,5 мл пробірки типу «Еппендорф». У кожену пробірку вносили по 10 мкл внутрішнього контролю *Mycobacterium tuberculosis complex*, по 300 мкл лізіруючого розчину. У одну пробірку вносили 100 мкл негативного контролю (негативний контроль). В іншу пробірку

вносили 90 мкл негативного контролю та 10 мкл позитивного контролю ДНК *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra (позитивний контроль).

Усі проби старанно перемішували на вортексі та центрифугували для видалення капель з кришок пробірок. Усі пробірки прогрівали 5 хв при 65⁰С. У кожную пробірку додавали 25 мкл сорбенту універсального. Перемішували на вортексі та залишали у штативі на 2 хв. Ще раз перемішували та залишали на 5 хв. Проби центрифугували при 5 тис. об/хв протягом 30 с. Видаляли надосадну рідину, додавали по 300 мкл розчину для відмивання 1, перемішували на вортексі до повного ресуспендування сорбенту універсального, знову центрифугували при 5 тис. об/хв протягом 30 с і видаляли надосадну рідину. Додавали по 500 мкл розчину для відмивання 2, перемішували на вортексі до повного ресуспендування сорбенту універсального. Центрифугували при 10 тис. об/хв протягом 30 с. Видаляли надосадну рідину.

Поміщали пробірки з відкритими кришками до термостату на 5-10 хв при 65⁰С, додавали по 50 мкл ТЕ-буферу для елюції ДНК. Перемішували на вортексі. Поміщали в термостат на 5 хв при 65⁰С, періодично струшуючи на вортексі. Центрифугували при 16 тис. об/хв протягом 1 хв. Надосадна рідина містила очищену ДНК і була готова для постановки ПЛР. Запропонований метод виділення ДНК-ізолята безпосередньо з мокроти було зафіксовано у патенті України №56690 від 25.01.2011.

Виявлення мутацій в генах katG і inhA. Метод використовує спеціальні праймери для виявлення мутацій AGC → ACC і *inhA*^{C-15T}. Зворотній праймер R315mut (TCCATACGACCTCGATGCCAG) розташовується таким чином, що 3'-ОН зв'язувався з заміненними основами, наприклад GC-на-CT [318]. Таким чином, при наявності мутації AGC → ACC в гені *katG* ампліфікується фрагмент з 296 п.н. за участю прямого праймера *katg0F* (GCAGATGGGGCTGATCTACG). З іншого боку зворотній праймер *inhARmut* (AGTCACCCCGACAACSTATTA) розміщується таким чином, що його кінцева група 3'-ОН зв'язується з двома зміненими основами: -15 C-на-T заміна (*inhA*^{C-15T}) і -14 G-на-A заміна на 5' закінченні, що вважається місцем зв'язування рибосоми в промоутері *mabA-inhA* оперона. В разі мутації *inhA*^{C-15T}

ампліфікується фрагмент в 146 п.н. за участю прямого праймера *tabAF* (CGAAGTGTGCTGAGTCACACCG). Таким чином, резистентні штами з цими двома мутаціями утворюють 296 п.н. і/або 146 п.н. При відсутності мутації в результаті неспівпадіння на 3'-кінці обернені праймери (R315mut і *inhARmut*) праймери *MTUBf* (TCGGACGCGTATGCGATATC) і *MTUBr* (ACATACAGTTTCGGACTTGCG) утворюють фрагмент в 1020 п.н. Цей фрагмент виступає індивідуальним позитивним контролем і повинен бути присутнім в кожному зразку. Відсутність продукту ампліфікації в 1020 п.н. свідчить про те, що ПЛР не відбулась і результат не враховується.

ПЛР-суміш складається з 10 мМ трис HCl (pH 9), 50 мМ KCl, 1,5 мМ MgCl₂, 200 мкМ кожного дезоксинуклеозиду трифосфату, 2,5 Од. *Taq* ДНК полімерази, реакційний буфер з загальним об'ємом суміші 25 мкл. Концентрація кожного була 200 мМ для *katG0F* і 400 мМ для R315mut (для визначення мутації AGC→ACC), 400 мМ для кожного з праймерів *tabAF* і *inhARmut* (для визначення мутації *inhA*^{C-15T}) і по 400 мМ для кожного з праймерів *MTUBf* і *MTUBr*. Реакція була виконана на ампліфікаторів за наступними умовами: початкова денатурація 95°C – 5 хв; 30 циклів 95°C – 1 хв, 68°C – 1 хв, 72°C – 45 сек. Заключний цикл закінчувався екстензією 72°C протягом 10 хв.

Детекція результатів проводилась в 1,5% агарозному гелі з доданням 1% бромистого етідія з подальшою візуалізацією під ультрафіолетовим світлом. У разі ампліфікації специфічного фрагменту з мутацією в кодоні 315 гена *katG* (AGC→ACC) був наявний фрагмент з молекулярною вагою 296 п.н., і/або при наявності мутації *inhA*^{C-15T} – 146 п.н., у випадку відсутності мутацій – лише фрагмент з молекулярною вагою 1020 п.н.

Визначення *медикаментозної резистентності до рифампіцину* також проводили за допомогою МАС-ПЛР [315]. Методика спрямована на визначення мутантних послідовностей в кодонах 516, 526, 531 гена *groB*. Автори пропонують використовувати внутрішні прямі праймери R516B (5'-GCTGAGCCAATTCATGGA), R526B (5'-GTTCGGGGTTGACCCA) та R531B (5'-ACAAGCGCCGACTGTC), 3'-кінець яких спрямований на другий нуклеотид

відповідного кодону у випадку алелі дикого типу. У випадку відсутності мутацій в кодонах 516, 526, 531 гена *rpoB*, ампліфікується алель-специфічний фрагмент дикого типу з молекулярною вагою 214 п.н., 181 п.н., та 167 п.н. відповідно за допомогою зворотного праймера RIR (5'-TGACCCGCGCGTACAC) та одного з внутрішніх прямих праймерів. Якщо мутація має місце внутрішній праймер не приєднується і специфічний фрагмент не ампліфікується.

Реакційна суміш (кінцевий об'єм 25 мкл) для визначення мутантної послідовності в кодоні 516 гену *rpoB* містила 1,5 мМ MgCl₂, 200 мкМ кожного дезоксинуклеотиду трифосфата, 5 Од. рекомбінантної Taq ДНК полімерази, 10 пмоль праймера RIR та 15 пмоль праймера R516B, 1,14 мкл очищеного ДНК-зразка.

Реакційна суміш (кінцевий об'єм 27 мкл) для визначення мутантної послідовності в кодоні 526 гену *rpoB* містила 3 мМ MgCl₂, 200 мкМ кожного дезоксинуклеотиду трифосфата, 5 Од. рекомбінантної Taq ДНК полімерази, 20 пмоль праймера RIR та 30 пмоль праймера R526B, 1,87 мкл очищеного ДНК-зразка.

Реакційна суміш (кінцевий об'єм 25 мкл) для визначення мутантної послідовності в кодоні 531 гену *rpoB* містила 1,5 мМ MgCl₂, 200 мкМ кожного дезоксинуклеотиду трифосфата, 5 Од. рекомбінантної Taq ДНК полімерази, 20 пмоль праймера RIR та 35 пмоль праймера R531B, 1,27 мкл очищеного ДНК-зразка. Реакція була виконана на термоциклері „Терцик” „ДНК-технологія” за умовами, як і у випадку ідентифікації мутантній послідовності в гені *katG*.

Детекція результатів проводилась в 1,5% агарозному гелі з доданням 1% бромистого етідія з подальшою візуалізацією під ультрафіолетовим світлом. У разі ампліфікації специфічного фрагменту з диким типом алелі кодонів 516, 526 та 531 гена *rpoB* були присутні паттерни з молекулярною вагою 214 п.н., 181 п.н., та 167 п.н. відповідно.

Для визначення питання про належність певного штаму *M. tuberculosis* до родини *Beijing* також використовували ПЛР [319]. Методика спрямована на виявлення інсерційного фрагменту IS6110 в меж генному регіоні *dnaA-dnaN*.

Відомо, що присутність цього фрагменту в регіоні *dnaA-dnaN* – є характерною рисою родини Beijing. При цьому використовують прямий праймер Af (5'-CGCATCCGTCAGCGCTCCAA) та зворотній праймер Ar (5'-GCCAACTCTTGTCTAGCCGC).

При ампліфікації інсерційного фрагменту IS6110 в регіоні *dnaA-dnaN* очищений ДНК-зразок (2,5 мкл) додавали до ПЛР-суміші (кінцевий об'єм 20 мкл), що містила: 1 мкМ кожного з праймерів Af та Ar; 1,5 мМ MgCl₂, 5 Од. рекомбінантної Taq ДНК полімерази, та 200 мкМ кожного дезоксинуклеотиду трифосфата Реакція була виконана на ампліфікаторів за наступними умовами: початкова денатурація 94°C – 4 хв; 30 циклів 94°C – 30 сек, 60°C – 30 сек, 72°C – 2 хв; фінальна елонгація 72°C – 7 хв.

Детекція результатів проводилась в 1,5% агарозному гелі з доданням 1% бромистого етідія з подальшою візуалізацією під ультрафіолетовим світлом. У разі приналежності штамів *M. tuberculosis* до родини Beijing був ампліфікований фрагмент з молекулярною вагою 2000 п.н. У випадку відсутності інсерційної послідовності IS6110 в регіоні *dnaA-dnaN* – фрагмент з молекулярною вагою 537 п.н.

Ідентифікацію збудника туберкульозу проводили за допомогою MIRU-VNTR-типування. Метод MIRU-типування (*Mycobacterium interspersed repetitive units*) базується на ампліфікації специфічних ділянок, які обов'язково присутні в геномі мікобактерій, але не несуть генетичної інформації. Ці ділянки мають розмір 50-200 п.н. та мають вигляд елементів, що повторюються та є розсіяними в 41 межгенному регіоні геному мікобактерій туберкульозного комплексу. Дванадцять з цих елементів відображають поліморфізм числа копій MIRU серед ізолятів *M.tuberculosis*, які не є спорідненими. В залежності від кількості повторів цього елемента можна відрізнити один штам МБТ від іншого та згрупувати штами по родинам та групам. Критерієм генетичної спорідненості чи неспорідненості штамів є кількість повторів в відповідних локусах. Штами зазначають цифровим кодом, кожна цифра якого відповідає кількості повторів в відповідних локусах. Усі штами, що мають однакові коди формують кластери. Також використовують системи, засновані на поліморфізмі

п'яти мінісателітних локусів ETR A – ETR F (ETR – точний тандемний повтор) [320]. Для наших досліджень ми обрали локуси MIRU10, 26, 31, 39, 40 та ETR A, які є більш поліморфними.

Для кожного локусу застосовували свою пару праймерів, при цьому розмір фрагменту залежить від наявності та кількості повторів однакових ДНК-последовностей [321].

Для ампліфікації локусу MIRU10 використовували праймери MIRU10f (5'-ACCGTCTTATCGGACTGCACTATCAA) та MIRU10r (5'-CACSTTGGTGATCAGCTACCTCGAT).

Для ампліфікації локусу MIRU26 використовували праймери MIRU26f (5'-GCGGATAGGTCTACCGTTCGAAATC) та MIRU26r (5'-TCCGGGTCATACAGCATGATCA).

Для ампліфікації локусу MIRU31 використовували праймери MIRU31f (5'-CGTCGAAGAGAGCCTCATCAATCAT) та MIRU31r (5'-ACAAGCGCCGACTGTC).

Для ампліфікації локусу MIRU39 використовували праймери MIRU39f (5'-CGGTCAAGTTCAGCACSTTCTACATC) та MIRU39r (5'-STCGGTGTTCCSTTGAAGGTGGTTT).

Для ампліфікації локусу MIRU40 використовували праймери MIRU40f (5'-GATTCCAACAAGACGCAGATCAAGA) та MIRU40r (5'-TCAGGTCTTTCTCTCACGCTCTCG).

Для ампліфікації локусу ETR A – праймери ETR Af (5'-CGAAGCCTGGGGTGCCCGCGATTT) та ETR Ar (5'-AAATCGGTCCCATCACSTTCTTAT).

Розрахунок кількості повторів в кожному локусі проводився згідно з табл. 2.2 в залежності від молекулярної ваги отриманого фрагменту. Ампліфікацію кожного локусу проводили окремо у відповідному епіндорфі. Детекція результатів проводилась в 1,5% агарозному гелі з доданням 1% бромистого етідія з подальшою візуалізацією під ультра фіолетовим світлом.

При ампліфікації кожного з локусів очищений ДНК-зразок (1 мкл) додавали до ПЛР-суміші (кінцевий об'єм 23 мкл), що містила: 2 мкМоль

відповідного праймера, 1,5 мМ MgCl₂, 5 Од. рекомбінантної Taq ДНК полімерази, та 200 мкМ кожного дезоксинуклеотиду трифосфата.

Таблиця 2.2

Розрахунок кількості повторів при ампліфікації локусів MIRU

Кількість повторів	MIRU10	MIRU26	MIRU31	MIRU39	MIRU40	ETR A
	п.н.	п.н.	п.н.	п.н.	п.н.	п.н.
0	219	244	106	194	229	195
1	272	295	159	243	280	270
2	325	344	212	292	331	346
3	378	393	265	341	382	422
4	431	442	318	390	433	499
5	484	491	371	439	484	570
6	537	540	424	488	535	645
7	590	589	477	537	586	720
8	643	638	530	586	637	795
9	696	677	583	635	688	870
10			636			

Ампліфікація проводилась за наступним температурним режимом: 3 хв – 95⁰С; 30 циклів – 30 сек 95⁰С, 30 сек – 60⁰С та 1 хв при 72⁰С; 5 хв – 72⁰С. Продукт ампліфікації аналізувався шляхом електрофорезу в 1,5% агарозному гелі.

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програмного пакета Microsoft Excel з використанням χ^2 критерію [301].

За матеріалами даного розділу були опубліковані такі роботи:

1. Антоненко П. Б. Склад реактивної суміші для діагностики резистентності до ізоніазиду збудника туберкульозу / В. Й. Кресюн, Ю. І. Бажора, В. В. Годован, К. О. Антоненко, П. Б. Антоненко : інформ. лист

МОЗ України / Одеський нац. мед. університет. – К., 2009. – 3 л. – Вип. із пробл. – (Фармакологія).

2. Антоненко П. Б. Спосіб визначення вмісту лікарської сполуки рифампіцину у сироватці крові під час хіміотерапії туберкульозу / В. Й. Кресюн, В. В. Годован, П. Б. Антоненко, К. О. Антоненко : інформ. лист МОЗ України / Одеський нац. мед. університет. – К., 2014. – 3 л. – Вип. із пробл. – (Клінічна фармакологія та клінічна фармація).

3. Антоненко П. Б. Спосіб експрес-діагностики резистентності *M. tuberculosis* до ізоніазиду у хворих на туберкульоз : метод. рекомендації МОЗ України / уклад. В. Й. Кресюн, Ю. І. Фещенко, Ю. І. Бажора, В. В. Годован, П. Б. Антоненко, К. О. Антоненко, М. М. Чеснокова. – К., 2010. – 19 с.

4. Пат. 56690 Україна, МПК (2011.01) А61К 31/15, А61К 31/455, А61К 39/04 Спосіб експрес-діагностики резистентності мікобактерій до ізоніазиду / Антоненко П. Б., Кресюн В. Й., Бажора Ю. І., Антоненко К. О. ; заявник і патентовласник Одес. держ. мед. ун-т. – № u201007857 ; заявл. 23.06.2010 ; опубл. 25.01.2011, Бюл. № 2/2011. – 4 с.

5. Пат. 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., Щербаков С. В. ; заявник і патентовласник Одес. нац. мед. ун-т. – № u201311707 ; заявл. 04.10.2013 ; опубл. 25.02.2014, Бюл. № 4/2014. – 4 с.

РОЗДІЛ 3

ВИЗНАЧЕННЯ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ *CYP2C9*, *CYP2C19*, *CYP2E1*, *NAT2* СЕРЕД ЗДОРОВИХ ДОБРОВОЛЬЦІВ І ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ ЛЕГЕНЬ3.1. Вивчення поліморфізму генотипів *CYP2C9*, *CYP2C19* серед здорових добровольців

Відповідно до генотипу *CYP2C19* зі 122 здорових донорів 79,5 % індивідів були носіями гомозиготного дикого типу гена *CYP2C19**1/*1 (табл. 3.1). Також 18,9 і 0,8 % добровольців були носіями гетерозиготних генів *CYP2C19**1/*2 і *CYP2C19**1/*3 відповідно. Спостерігався лише один носій гомозиготного мутаного гена - *CYP2C19**2/*2 (0,8%), водночас комбінації генів *CYP2C19**2/*3 або *CYP2C19**3/*3 не спостерігались (табл. 3.1). Загалом, з досліджених 122 пар генів *CYP2C19*, 89,3 % складав алель *CYP2C19**1, 10,2 % складав алель *CYP2C19**2 і лише 0,4 % - алель *CYP2C19**3.

Таблиця 3.1

Генотип і алелі гена *CYP2C19* серед здорових добровольців (кількість)

Генотип <i>CYP2C19</i> (n=122)					
*1/*1	*1/*2	*1/*3	*2/*2	*2/*3	*3/*3
97	23	1	1	0	0
Алель (n=226)					
*1		*2		*3	
196		15		15	

Згідно формули Харді-Вайнберга (Hardy-Weinberg), що відображає розподіл генотипів і фенотипів в популяції за певних умов, було розраховано очікувану поширеність генотипів *CYP2C19* [322]. Отримані результати істотно не відрізнялись від розрахованих за формулою (табл. 3.2).

Таблиця 3.2

Поширеність генотипів *CYP2C19* серед здорових добровольців (%) - фактична і розрахована за формулою Харді-Вайнберга

Результати	Генотип <i>CYP2C19</i> (n=122)					
	*1/*1	*1/*2	*1/*3	*2/*2	*2/*3	*3/*3
Фактичні	79,5	18,9	0,8	0,8	0	0
Розраховані	79,8	18,3	0,7	1,0	0,1	0

На рис. 3.1 зображено результати електрофорезу гена *CYP2C19*. Літерою **М** позначено маркери молекулярної ваги, які дозволяють визначити молекулярну вагу фрагментів, що ампліфікуються.

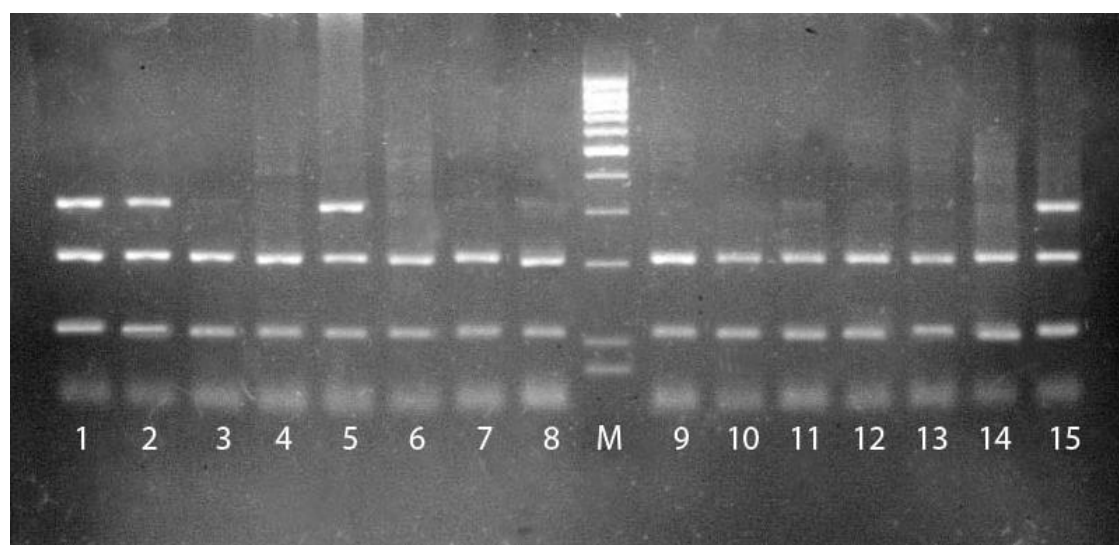


Рис. 3.1. Електрофореграма визначення поліморфізму гена *CYP2C19* (*SmaI*) (пояснення у тексті).

За умов рестрикції за допомогою ферменту *SmaI* (наявні алелі *CYP2C19*1* або *CYP2C19*3*) або ферменту *VatHI* (наявні алелі *CYP2C19*1* або *CYP2C19*2*) відбувалось розділення ДНК-фрагментів в 321 п.н. на 2 фрагменти – 212 і 109 п.н., а також ДНК-фрагмент 271 п.н. на 2 фрагменти – 175 і 96 п.н., відповідно. Наприклад, на доріжках 1,2,5 і 15 ампліфікувалися фрагмент, що, згідно маркерів молекулярної ваги, складаються з 109, 212 і 321 п.н. Отже,

це фореграма осіб, які мали одну алель, що зазнала рестрикції (алель *1 або *3), і одну алель, що не зазнала рестрикції (алель *2). На інших доріжках ампліфікувались фрагменти 109 і 212 п.н. Отже, ці зразки не містять алелей, які зазнали рестрикції, тобто алель *2 відсутній, натомість є алелі *1 і/або *3. Для з'ясування наявності алеля *3 проводили рестрикцію за допомогою ендонуклеази *VamHI*.

Серед носіїв гомозиготного дикого типу гена *CYP2C19*1/*1* більшість, а саме 87,6 % склали чоловіки. Так само серед носіїв гетерозиготного типу гена (*CYP2C19*1/*2* або *CYP2C19*1/*3*) 87,0 і 100 % відповідно склали чоловіки. Єдиний донор, який був носієм комбінації *CYP2C19*2/*2* був також чоловіком. Таким чином, вірогідної різниці серед носіїв різних генотипів *CYP2C19* за гендерною ознакою не спостерігалось ($P < 0,05$).

З 97 індивідів, які були носіями гомозиготного дикого типу гена *CYP2C19*1/*1* згідно до системи крові АВО переважали носії А(II) групи крові - 35,1 %, рідше зустрічались носії О(I) групи крові – в 34,0 % індивідів, і В(III) групи крові – в 23,7 % добровольців, решта або 7,2 % індивідів мали АВ(IV) групу кров (рис. 3.2).

Майже так само розподілились носії генотипу *CYP2C19*1/*2*, з яких 34,8 % мали В(III) групу крові, 30,4 % - О(I) групу крові, 30,4 % - А(II) групу крові, решта або 8,7 % індивідів - АВ(IV) групу крові. Донори, які мали комбінації *CYP2C19*1/*3* або *2/*2 мали О(I) і А(II) групу крові, відповідно. Отже, носії гомозиготних і гетерозиготних генотипів однаково часто спостерігались у пацієнтів з різними групами крові за системою АВО.

Серед 97 носіїв гомозиготного дикого типу гена *CYP2C19*1/*1* домінували здорові добровольці віком від 21 до 30 років і від 31 до 40 років – 34,0 і 32,0 % відповідно, рідше спостерігали донорів віком 41-50 років, до 20 років або після 51 року – 12,4; 11,3 і 10,3 % відповідно (рис. 3.3). Носії гетерозиготних генів *CYP2C19*1/*2* дещо частіше належали до вікових категорій 21-30 років, 31-40 років і 41-50 років – 39,1; 30,4 і 17,4 % осіб відповідно, водночас не було жодного індивіда віком понад 50 років.

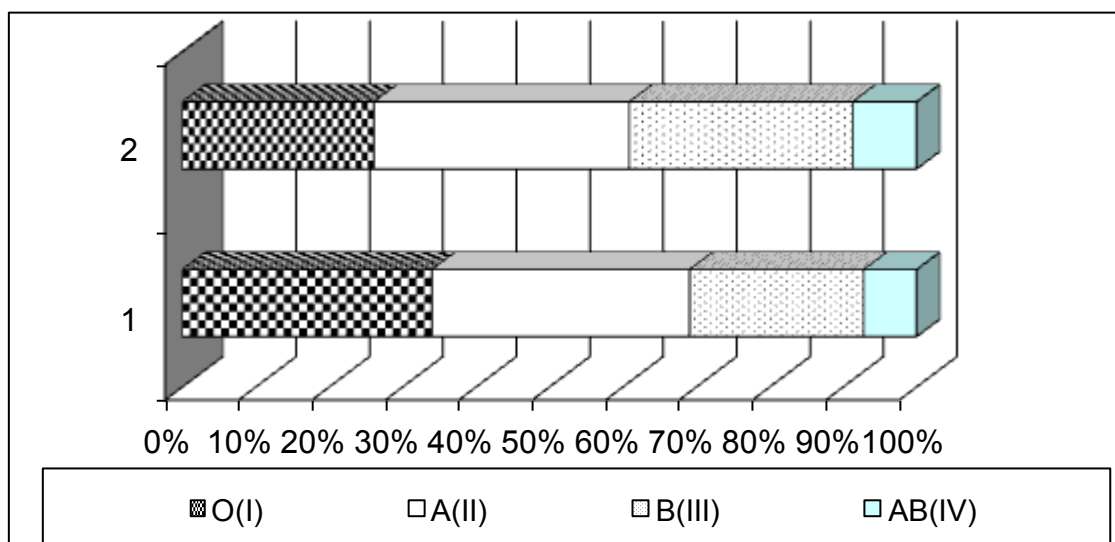


Рис. 3.2. Приналежність носіїв генотипів *CYP2C19**1/*1 (1) і *1/*2 (2) до різних груп крові згідно системи АВО (вісь ордината).

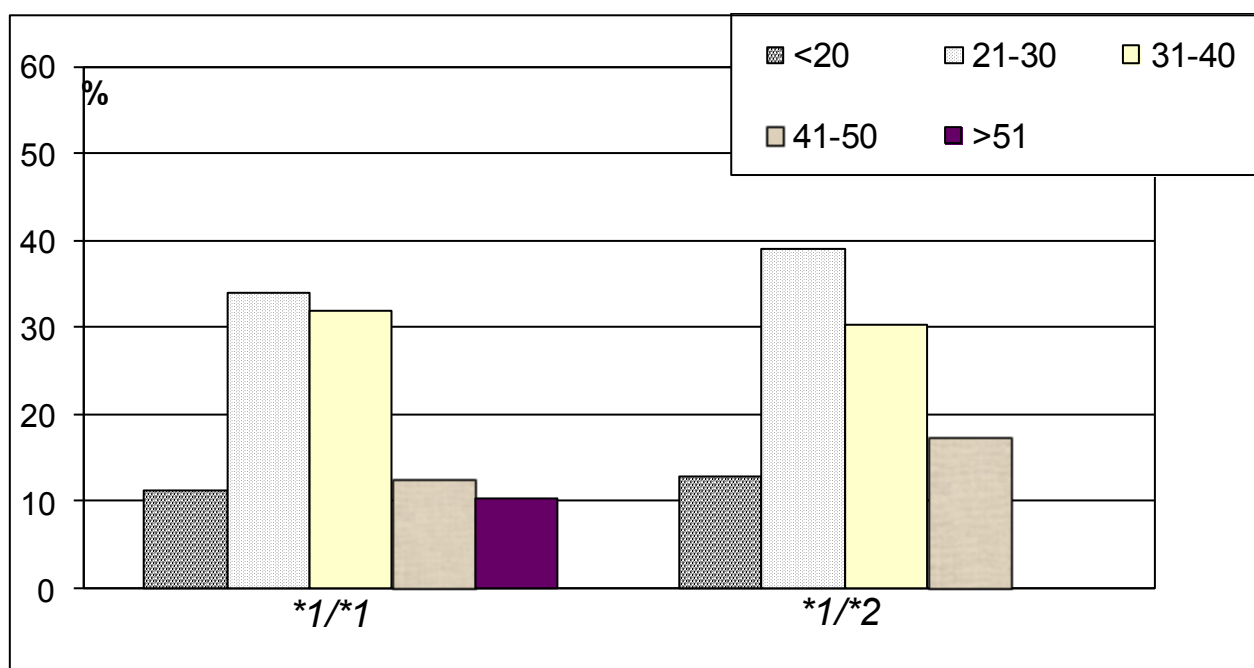


Рис. 3.3. Поширення генетичного поліморфізму *CYP2C19* серед здорових добровольців серед різних вікових груп (вісь абсциса, роки).

Здорові добровольці, які мали комбінації *CYP2C19**1/*3 або *2/*2 були віком від 31 до 40 років. Однак, різниця між носіями різних генотипів *CYP2C19* була не вірогідною.

Відносно *CYP2C19*, проведений аналіз засвідчив, що лише один з індивідів мав обидва поліморфних алеля (*CYP2C19**2/*2), тобто лише одна

особа (0,8 %) може бути віднесена до «повільних метаболізаторів», водночас 26 індивідів (19,7 %) були носіями одного поліморфного алеля. Жодних суттєвих відмінностей у віці, статті, групі крові серед носіїв різних генотипів і алелів *CYP2C19* не спостерігалось.

Відповідно до генотипу *CYP2C9* зі 122 здорових добровольців 76,2 % індивідів були носіями гомозиготного дикого типу гена *CYP2C9**1/*1. Також по 10,7 % добровольців були носіями гетерозиготних генів *CYP2C9**1/*2 і *CYP2C9**1/*3. Носіями гомозиготного мутантного гена - *CYP2C9**2/*2 або *CYP2C9**3/*3 було по 0,8 %, гетерозиготний мутантний ген *CYP2C9**2/*3 спостерігали також у 0,8 % індивідів (табл. 3.3).

Таблиця 3.3

Генотип і алелі гена *CYP2C9* серед здорових добровольців (кількість)

Генотип <i>CYP2C9</i> (n=122)					
*1/*1	*1/*2	*1/*3	*2/*2	*2/*3	*3/*3
93	13	13	1	1	1
Алель <i>CYP2C9</i> (n=244)					
*1		*2		*3	
212		16		16	

Загалом, з досліджених 226 алелів *CYP2C9*, 86,9 % складав алель *CYP2C9**1, по 6,6% складали алелі *CYP2C9**2 і *CYP2C9**3. Згідно формули Харді-Вайнберга (Hardy-Weinberg), що відображає розподіл генотипів і фенотипів в популяції за певних умов, було розраховано очікувана поширеність генотипів. Отримані результати істотно не відрізнялись від розрахованих за формулою (табл. 3.4).

На рис. 3.4 зображено результати електрофорезу гена *CYP2C9*. Літерою **М** позначено маркери молекулярної ваги, які дозволяють визначити молекулярну вагу фрагментів, що ампліфікуються.

Поширеність генотипів *CYP2C9* серед здорових добровольців - фактична і розрахована за формулою Харді-Вайнберга (%)

Результати	Генотип <i>CYP2C9</i> (n=122)					
	*1/*1	*1/*2	*1/*3	*2/*2	*2/*3	*3/*3
Фактичні	76,2	10,7	10,7	0,8	0,8	0,8
Розраховані	75,5	11,4	11,4	0,4	0,9	0,4

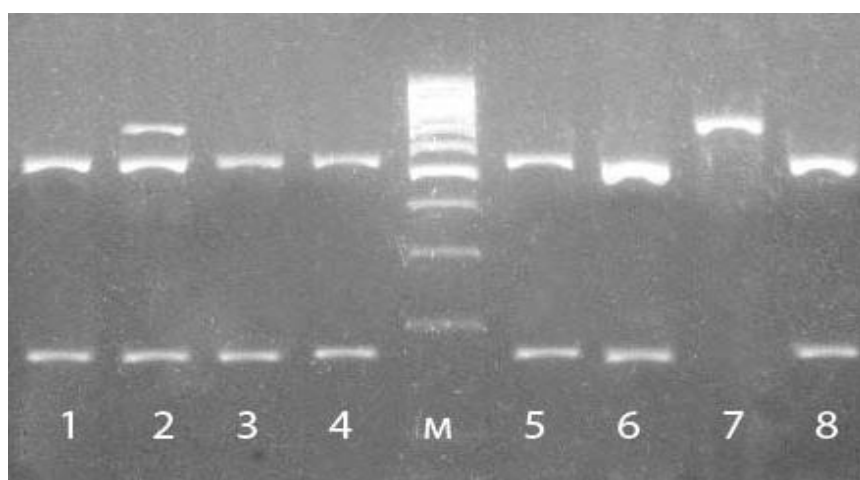


Рис. 3.4. Електрофореграма визначення поліморфізму гена *CYP2C9* (*AvaII*).

За умов рестрикції за допомогою ферменту *AvaII* (наявні алелі *CYP2C9*1* або *CYP2C9*3*) або ферменту *NsiI* (наявні алелі *CYP2C9*1* або *CYP2C9*2*) відбувалось розділення ДНК-фрагментів в 691 п.н. на 2 фрагменти – 527 і 164 п.н., а також ДНК-фрагмент 141 п.н. на 2 фрагменти – 112 і 29 п.н., відповідно. Наприклад, на доріжці 2 ампліфікувалися фрагменти, що, згідно маркерів молекулярної ваги, складаються з 164, 527 і 691 п.н. Отже, це фореграма осіб, які мали один алель, що зазнав рестрикції (алель *1 або *3), і один алель, що не зазнав рестрикції (алель *2). На доріжці 7 нема слідів рестрикції, отже присутня лише алель *2 (генотип *2/*2). На інших доріжках – 1,3,4,5,6,8 - ампліфікувалися фрагменти 164 і 527 п.н. Отже, ці зразки містять алелі, які

зазнали рестрикції, тобто алель *2 відсутній, натомість є алелі *1 і/або *3. Для з'ясування наявності алеля *3 проводять рестрикцію за допомогою ендонуклеази *NsiI*.

Згідно з літературними даними, пацієнти з генотипом *CYP2C9**1/*2, *1/*3, *2/*2, *2/*3, *3/*3 потребують зниження дози варфарину на 19,6; 33,7; 36,0; 56,7 і 78,1 % відповідно відносно генотипу *CYP2C9**1/*1 [323]. Отже, генотипи *CYP2C9**2/*2, *2/*3, *3/*3 відзначались найбільшим зниженням ферментної активності, тому умовно носіїв вище згаданих генотипів можна віднести до «повільних метаболізаторів».

Серед носіїв гомозиготного дикого гена *CYP2C9**1/*1 більшість, а саме 87,2% склали чоловіки. Так само серед носіїв гетерозиготного типу немутованого гена - *CYP2C9**1/*2 або *CYP2C9**1/*3 - 83,3 і 100 % склали чоловіки. Серед індивідів, які були попередньо віднесені до «повільних метаболізаторів», 100 % склали чоловіки. Водночас вказана різниця була не вірогідна ($P > 0,05$). Тобто, як серед чоловіків, так і серед жінок домінували носії генотипу *CYP2C9**1/*1 (рис. 3.5).

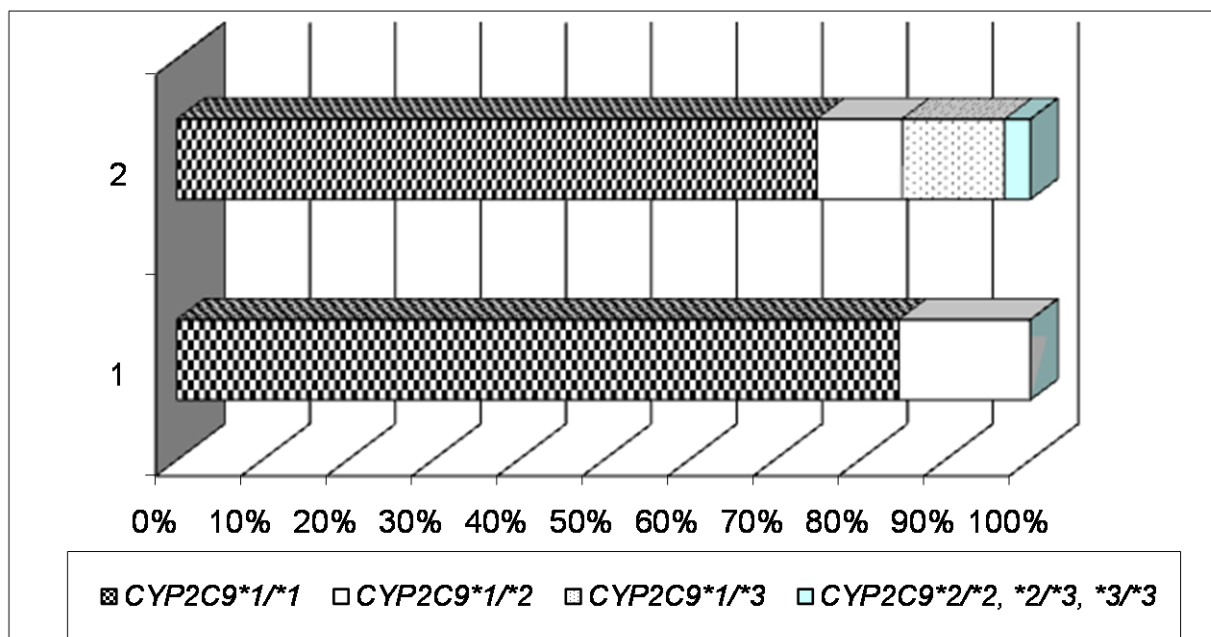


Рис. 3.5. Поширення генетичного поліморфізму гена *CYP2C9* серед здорових добровольців чоловічої (1) або жіночої статі (2).

Серед 93 індивідів, які були носіями гомозиготного дикого типу гена *CYP2C9*1/*1* згідно до системи АВО переважали носії А(II) групи крові - 37,2 %, рідше зустрічались носії О(I) групи крові – в 31,4 %, В(III) групи крові – в 23,3 %, решта або 8,0 % індивіди мали АВ(IV) групи крові (рис. 3.6).

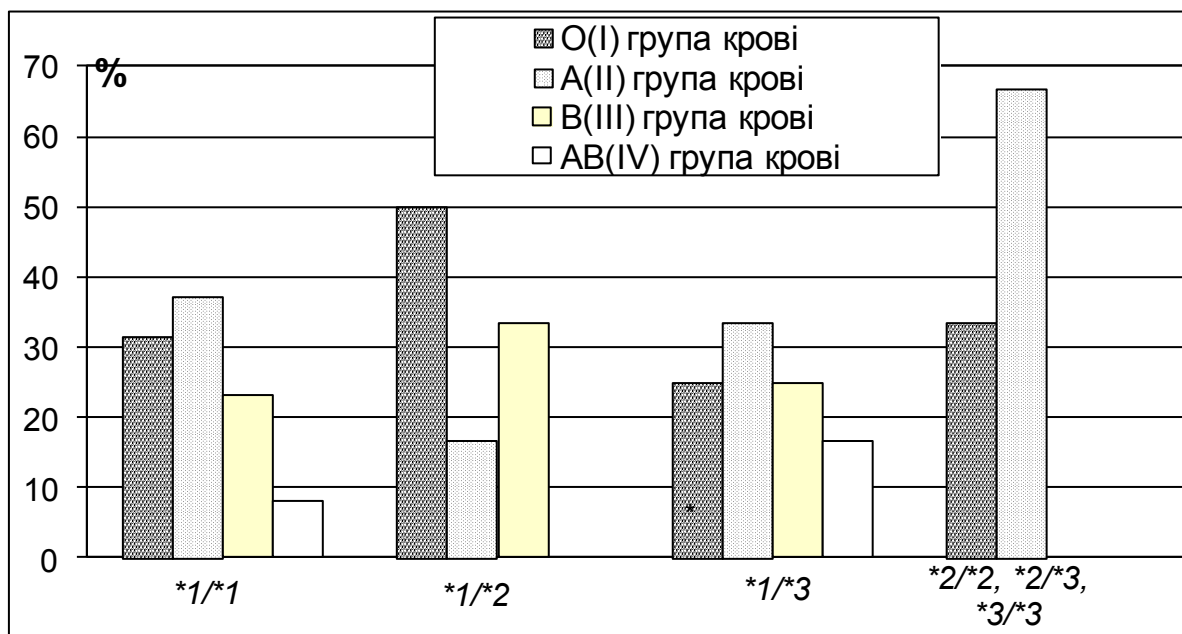


Рис. 3.6. Приналежність до різних груп крові за системою АВО носіїв генотипів *CYP2C9* (%).

Серед носіїв гетерозиготних генів *CYP2C9*1/*2* переважали добровольці з О(I) і В(III) групами крові – 50 і 33,3 % відповідно. Порівну по 25 % добровольців з генотипом *CYP2C9*1/*3* мали О(I) і В(III) групи крові, 1/3 індивідів мали А(II) групи крові. Нарешті, серед повільних метаболізаторів більшість або 66,7 % індивідів мали А(II) групи крові, решта – О(I) групи крові. Водночас наведені відмінності між групами носіїв різних генотипів *CYP2C9* не були вірогідними ($P > 0,05$).

Серед 86 носіїв гомозиготного дикого типу гена *CYP2C9*1/*1* домінували здорові добровольці віком від 21 до 30 років і від 31 до 40 років – 32,6 і 30,2 % донорів відповідно, рідше спостерігали осіб віком до 20 років, 41-50 років, або старше 51 року – 15,1; 14,0 і 8,1 % відповідно.

Носії гетерозиготних генів *CYP2C9*1/*2* представляли вікові категорії 21-30 і 31-40 років у 50 і 33,3 % відповідно. Індивіди з генотипом *CYP2C9*1/*3* також у більшості випадків належали до вікових категорій 31-40 і 21-30 років – у 50 і 20 % відповідно. Вище згадані «повільні метаболізатори» у більшості випадків – у 66,7 % - були від 21 до 30 років, решта – 33,3 % - були від 31 до 40 років. Однак, вікова різниця між носіями різних генотипів *CYP2C9* була не вірогідною.

Таким чином, відповідно до генотипу *CYP2C9* зі 122 здорових добровольців 76,2 % індивідів були носіями гомозиготного дикого типу гена *CYP2C9*1/*1*, порівну по 10,7 % досліджених були носіями гетерозиготних генів *CYP2C9*1/*2* і *CYP2C9*1/*3* відповідно. Згідно результатів генотипування лише 2,4 % індивідів належали до носіїв мутантних генів - *CYP2C9*2/*2*, **2/*3*, **3/*3*. Вірогідність результатів була підтверджена формулою Харди-Вайнберга. Жодних суттєвих відмінностей у віці, статті, групі крові серед носіїв різних генотипів і алелів *CYP2C9* не спостерігалось, хоча треба відзначити, що більшість пацієнтів, які мали генотип «повільних метаболізаторів», мали А(II) групу крові, були віком від 21 до 30 років і належали до чоловічої статі

3.2. Дослідження поширеності різних генотипів *CYP2E1*, *NAT2* у здорових добровольців

Відповідно до генотипу *CYP2E1* зі 122 донорів пацієнтів 119 (97,5 %) не мали мутацій в '5-фланкуючому регіоні (генотип *c1/c1*), решта – 2 (2,5 %) були носіями одного мутованого алеля (генотип *c1/c2*). Стосовно інтрона 6 більшість хворих, а саме 82,0 % не мали мутацій у цій ділянці (генотип **DD*), 17,2 % мали одну мутовану алель (генотип **CD*) і 0,8% мали обидві мутовані алелі (генотип **CC*) (табл. 3.5). Всі хворі, які мали мутацію в '5-фланкуючому регіоні, також мали мутацію в 6^{му} інтроні. У подальшому для зручності ми виділили окремо

групу хворих, які не мали мутацій в 6^{му} інтроні (генотип **DD*), і групу хворих, які мали мутації у вказаному локусі (генотипи **CD*, **CC*).

Таблиця 3.5

Генотип і алелі гена *CYP2E1*6* серед здорових добровольців (кількість)

Генотип CYP2E1 (n=122)		
<i>*DD</i>	<i>*CD</i>	<i>*CC</i>
100	21	1
Алель (n=244)		
<i>*D</i>	<i>*C</i>	
221	23	

Загалом, з досліджених 122 пар генів *CYP2E1*, 90,6 % складав алель *CYP2E1*D*, 9,4 % - алель *CYP2E1*C*. Згідно формули Харді-Вайнберга (Hardy-Weinberg), що відображає розподіл генотипів і фенотипів в популяції за певних умов, було розраховано очікувана поширеність генотипів *CYP2E1*. Отримані результати істотно не відрізнялись від розрахованих за формулою (табл. 3.6).

Таблиця 3.6

Поширеність генотипів *CYP2E1* серед здорових донорів (%) - фактична і розрахована за формулою Харді-Вайнберга

Результати	Генотип (n=112)		
	<i>*DD</i>	<i>*CD</i>	<i>*CC</i>
Фактичні	82,0	17,2	0,8
Розраховані	82,0	17,1	0,9

На рис. 3.7 представлено результати електрофорезу гена *CYP2E1* (6^{ий} інтрон). Літерою **М** позначено маркери молекулярної ваги, які дозволяють визначити молекулярну вагу фрагментів, що ампліфікуються. За умов рестрикції за допомогою ферменту *DraI* (наявний дикий алель) відбувалось

розділення ДНК-фрагментів в 686 п.н. на 2 фрагменти – 335 і 351 п.н., що свідчить про наявність дикого алеля *D, при відсутності рестрикції – алеля *C. Наприклад, на доріжках 10,14-16 ампліфікувалися фрагменти, що, згідно маркерів молекулярної ваги, складаються з 335, 351 і 686 п.н.

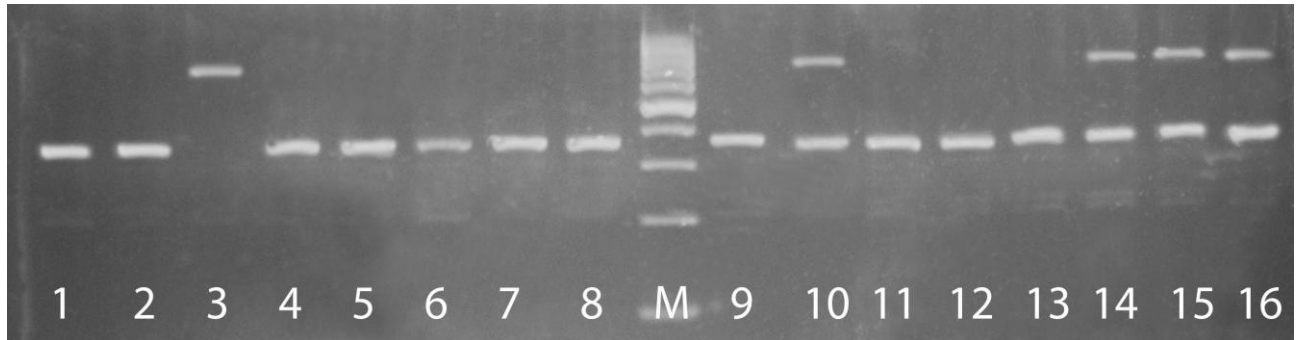


Рис. 3.7. Електрофореграма визначення поліморфізму гена *CYP2E1* (*DraI*) (пояснення в тексті).

Отже, це фореграма осіб, які мали один алель, що зазнав рестрикції (алель *D), і один алель, що не зазнав рестрикції (алель *C). На доріжці 3 нема слідів рестрикції, отже присутній лише алель *C (генотип *CC). На інших доріжках – 1,2,4-9,11-13 - ампліфікувалися фрагменти 335 і 351 п.н. Отже, ці зразки містять алелі, які зазнали рестрикції, тобто алель *C відсутня, натомість є алель *D.

Серед здорових добровольців як чоловічої, так і жіночої статі носії генотипу *DD складала більшість, а саме 83,9 і 70,0 % відповідно. Решта – 16,1 і 30,0 % - складала носії генотипів *CD і *CC. Таким чином, вірогідної різниці серед носіїв різних генотипів *CYP2E1* за гендерною ознакою не спостерігалось ($P < 0,05$).

Зі 100 індивідів, які були носіями гомозиготного дикого типу гена *CYP2E1* *DD згідно до системи АВО переважали носії А(II) групи крові - 35,9 %, рідше зустрічались носії О(I) групи крові – в 32,6 % індивідів, і В(III) групи крові – в 25,0 % добровольців, решта або 6,5 % індивідів мали АВ(IV) групу кров (рис. 3.8). Майже так само розподілились носії генотипів

*CYP2E1*CD* і **CC*, з яких по 30,0 % мали А(II) і 0(I) групи крові, чверть мали В(III) групу крові, решта або 15,0 % індивідів мали АВ(IV) групу крові. Отже, носії гомозиготних і гетерозиготних генотипів однаково часто спостерігались серед осіб з різниці групами крові за системою АВО.

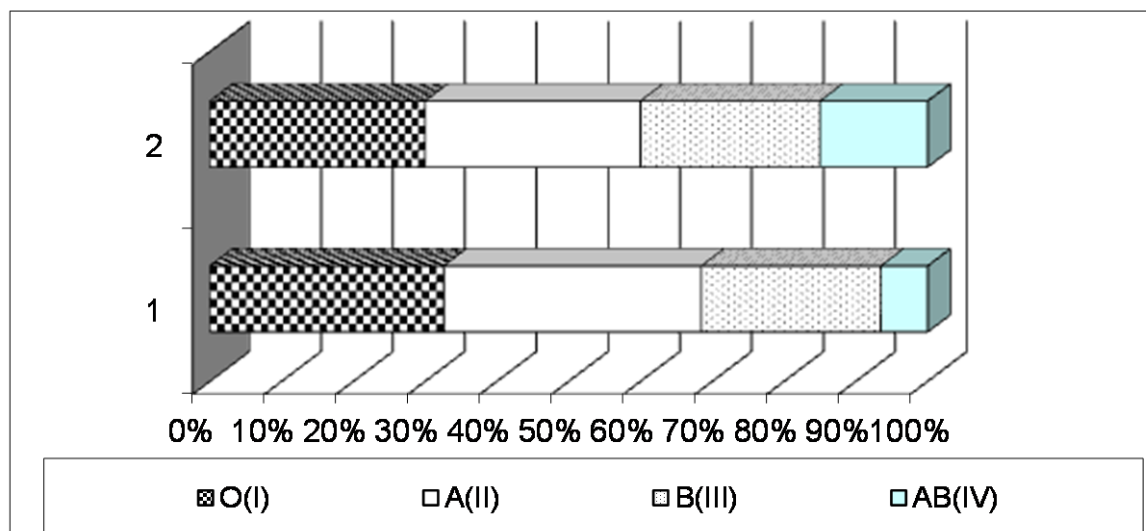


Рис. 3.8. Приналежність носіїв генотипів *CYP2E1*DD* (1) і **CD, *CC* (2) до різних груп крові згідно системи АВО (вісь ордината).

Серед 100 носіїв гомозиготного дикого типу гена *CYP2E1*DD* домінували донори віком від 31 до 40 років і від 21 до 30 років – 34,8 і 31,5 % донорів відповідно, рідше спостерігали осіб віком 41-50 років, до 20 років або старших за 51 рік – 13,0; 10,9 і 9,8 % здорових добровольців відповідно (рис. 3.9). Носії генів *CYP2E1*CD* і **CC* найчастіше були віком від 21 до 30 років, рідше належали до вікових категорій 31-40 років, до 20 років років і 41-50 років – 25,0; 15,0 і 15,0 % донорів відповідно. Однак, вікова різниця між носіями різних генотипів *CYP2E1* була не вірогідною.

Відносно поліморфізму генотипу *CYP2E1*, проведений аналіз засвідчив, що більшість або 82,0 % не мали мутованих алелів, тобто можуть бути віднесеним до «швидких метаболізаторів», водночас 21 індивід (17,2%) були носіями одного поліморфного алеля і можуть бути віднесені до «помірних метаболізаторів», і 1 особа (0,8%) – «до повільних метаболізаторів» [306].

Жодних суттєвих відмінностей у віці, статті, групі крові серед носіїв різних генотипів і алелів *CYP2E1* не спостерігалось.

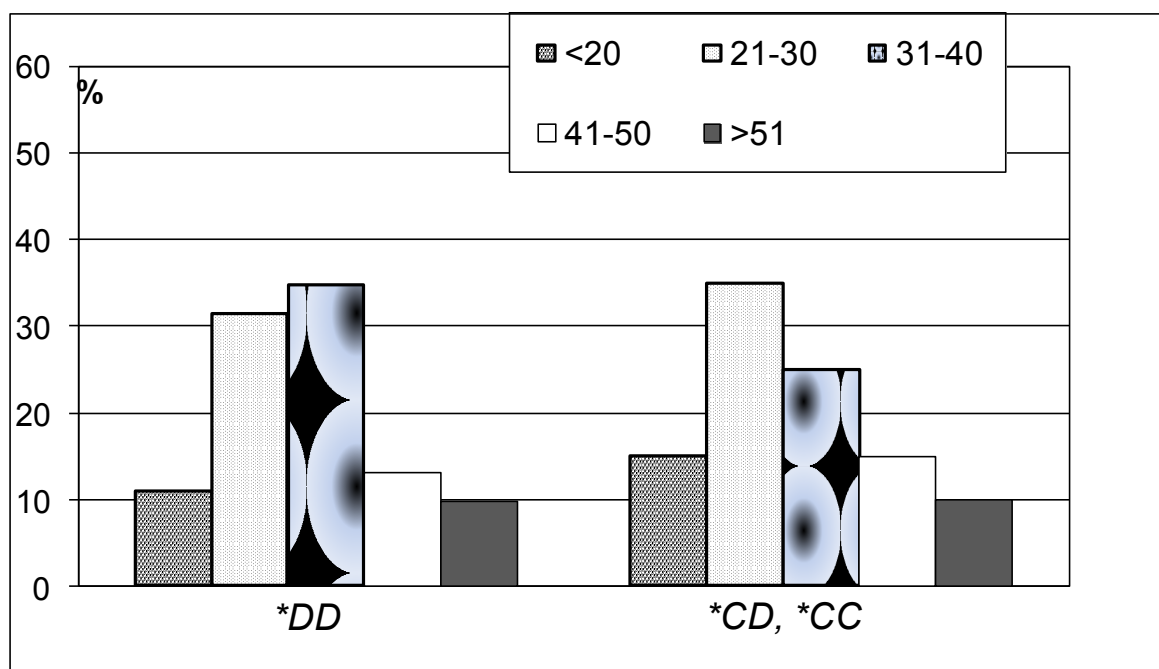


Рис. 3.9. Поширення генетичного поліморфізму *CYP2E1* серед здорових добровольців в різних вікових групах (вісь абсциса, роки).

Отримані дані, щодо поліморфізму генів *CYP 2C9*, *2C19*, *2E1* мають значення для детоксикації багатьох ксенобіотиків, включаючи протитуберкульозні препарати, що в свою чергу обумовлює ефективність та небажані ефекти цих препаратів. Це буде предметом наших подальших досліджень.

Відповідно до генотипу *NAT2*5A* 36,9 % індивідів були носіями гомозиготного дикого типу гена, 45,1 % були носіями гетерозиготних генів і 18,0 % були носіями гомозиготного мутаного гена (табл. 3.7). Дослідження генотипу *NAT2*6A* виявило, що 47,5 % індивідів мали гомозиготний дикий тип гена, 36,1 % індивідів мали гетерозиготні гени і 16,0 % мали гомозиготний мутантний ген. Всі 122 досліджених зразки мали гомозиготний дикий тип гена *NAT2*7A/B*.

Особини-гомозиготи з диким типом щодо всіх досліджених генів *NAT2* визначались як швидкі ацетилятори (ША), особи, які були гетерозиготами хоча

б за одним з генів, визначались як помірні ацетилятори (ІА) і особи, які були гомозиготами хоча б за одним мутантним геном або гетерозиготами за двома генами, визначались як повільні ацетилятори (ІА). Таким чином, серед 122 здорових донорів 10 (8,2%) індивідів були ІА, 46 (37,7%) становили особи ІА і 66 (54,1%) осіб було носіями ІА генотипу (табл. 3.8).

Таблиця 3.7

Генотип і частота алелей гена *NAT2* серед здорових добровольців (кількість)

Поліморфізм	Генотип/гаплотип	Здорові добровольці (n=122)
<i>NAT2*5A</i> (C481T)	<i>CC</i>	45
	<i>CT</i>	55
	<i>TT</i>	22
<i>NAT2*5A</i> (C481T)	<i>C</i>	145
	<i>T</i>	99
<i>NAT2*6A</i> (G590A)	<i>GG</i>	58
	<i>GA</i>	44
	<i>AA</i>	20
<i>NAT2*6A</i> (G590A)	<i>G</i>	160
	<i>A</i>	84
<i>NAT2*7A/B</i> (G857A)	<i>GG</i>	122
	<i>GA</i>	0
	<i>AA</i>	0
<i>NAT2*7A/B</i> (G857A)	<i>G</i>	244
	<i>A</i>	0

На рис. 3.10 зображено результати електрофорезу гена *NAT2* (виявлення дикої алелі M1). Літерою **M** позначено маркери молекулярної ваги, які дозволяють визначити молекулярну масу фрагментів, що ампліфікуються. За умов ампліфікації утворювався ДНК-фрагментів в 568 п.н., що свідчить про

наявність дикої алелі M1, при відсутності рестрикції – відсутність алелі M1. Наприклад, на доріжках 1,2,4,5,7-10 ампліфікувалися фрагмент в 568 п.н., що свідчить про наявність дикої алелі M1 (можливий генотип дикий/дикий або дикий/мутантний), на доріжках 3,6 ампліфікація не відбулась (генотип мутантний/мутантний).

Таблиця 3.8

Генний розподіл згідно поєднаного поліморфізму *NAT2*5A* і *NAT2*6A*

Генотипний поліморфізм		Кількість індивідів, n=122 (%)
<i>NAT2*5A</i>	<i>NAT2*6A</i>	
<i>CC</i>	<i>GG</i>	10 (8,2)
<i>CC</i>	<i>GA</i>	17 (13,9)
<i>CC</i>	<i>AA</i>	18 (14,8)
<i>CT</i>	<i>GG</i>	29 (23,8)
<i>CT</i>	<i>GA</i>	24 (19,7)
<i>CT</i>	<i>AA</i>	2 (1,6)
<i>TT</i>	<i>GG</i>	19 (15,6)
<i>TT</i>	<i>GA</i>	3 (2,5)
<i>TT</i>	<i>AA</i>	0 (0)

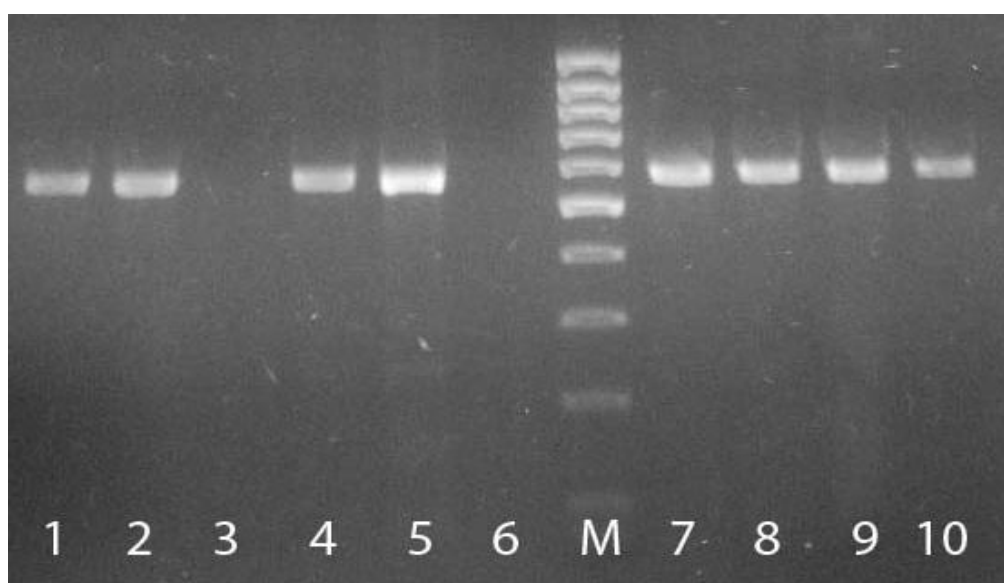
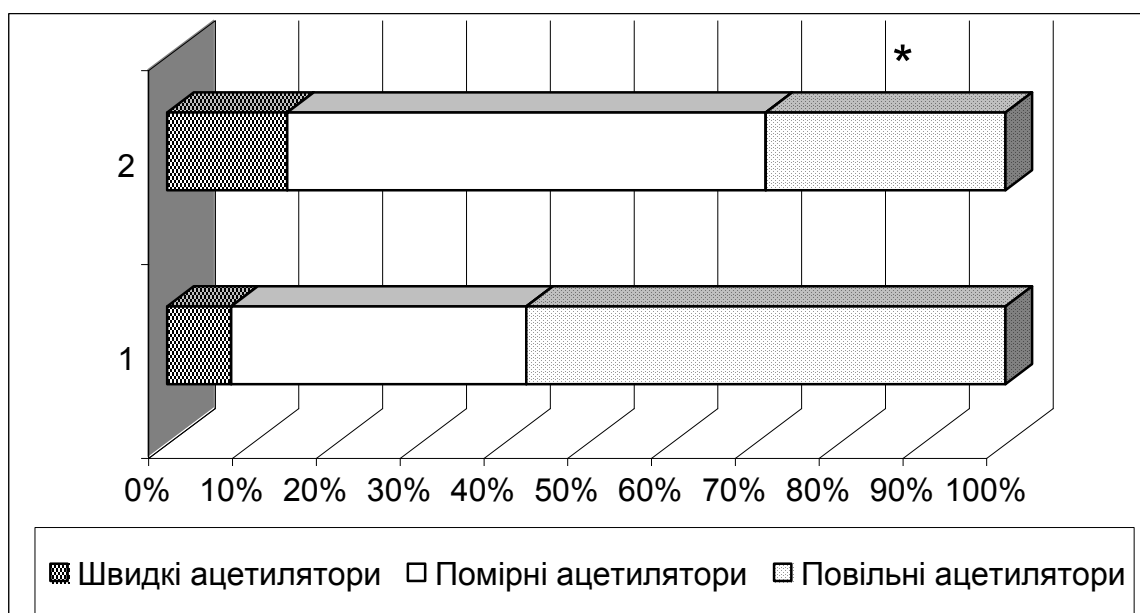


Рис. 3.10. Електрофореграма визначення поліморфізму гена *NAT2* (дикий алель *M1*) (пояснення в тексті).

Відповідно до М. Blum et al., (1991) [303] гомозиготи і гетерозиготи з швидким ацетилюванням в печінці з генотипами *NAT2*5A* (*CC*, *CT*) і *NAT2*6A* (**GG*, **GA*) виявляли високу активність ферменту NAT2 на прикладі сульфаметазину, а також виявляли NAT2-специфічну білкову смужку на прикладі Western blot. За умов низької активності ацетилювання в печінці, що асоціювались з генотипами *NAT2*5A* (*TT*), *NAT2*6A* (*AA*) або комбінації *NAT2*5A* (*CT*) плюс *NAT2*6A* (*GA*), ферментна активність NAT2 була значно менша і NAT2 білкова смужка ледве визначалась або була повністю відсутня. Спираючись на дані [303] 56 індивідів або 45,9 % належали до «швидких ацетиляторів», водночас решта – 66 індивідів або 54,1% належали до «повільних ацетиляторів» (табл. 3.8).

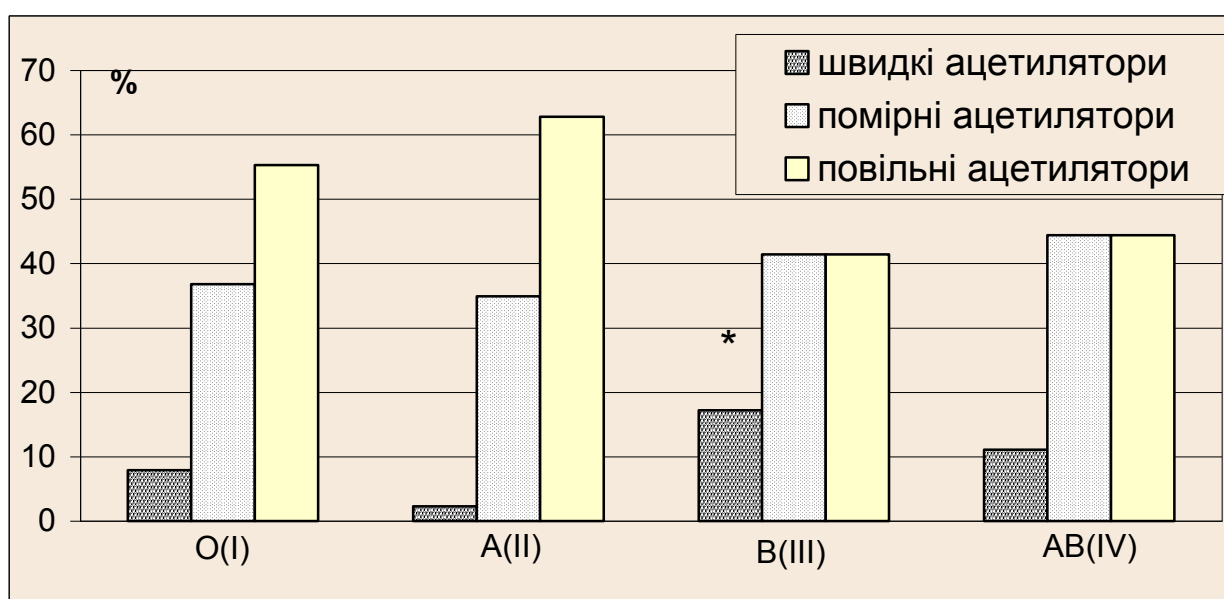
Більшість донорів жіночої статі (57,1 %) мали помірний тип ацетилювання, решта - 14,3 і 28,6 % були швидкими і повільними ацетиляторами відповідно. Серед представників чоловічої статі більшість (57,1 %) складала ПА, решта - 7,6 і 36,2 % були ША і ІА відповідно (рис. 3.11). Таким чином, чоловіки в двічі частіше, ніж жінки, мали повільний генотип ацетилювання ($P < 0,05$).



* - $P < 0,05$ (відносно чоловіків)

Рис. 3.11. Генетичний поліморфізм *NAT2* серед здорових добровольців чоловічої (1) або жіночої статі (2).

Зі 122 індивідів 31,9 % мали O(I) групу крові, згідно до системи ABO, 36,1 % - A(II) групу крові, 24,4 % - B(III) групу крові, решта або 7,6 % індивідів мали AB(IV) групу крові. Серед здорових добровольців з B(III) і AB(IV) групами крові менше половини – 41,4 і 44,4 % відповідно – належали до ПА, водночас серед осіб з O(I) і A(II) групами крові більше половини – 55,3 і 62,8 % відповідно – складала ПА (рис. 3.12). Серед осіб з B(III) групою крові ША в 7,5 рази частіше зустрічались, ніж серед осіб з A(II) групою крові (17,2 проти 2,3 %) ($P < 0,05$).



* - $P < 0,05$ (відносно A(II) групи крові)

Рис. 3.12. Поширення генетичного поліморфізму *NAT2* серед здорових добровольців з різними групами крові згідно системи ABO (вісь абсциса).

Серед 122 донорів 11,8 % осіб були молодші від 20 років, 34,5 % - від 21 до 30 років, 31,9 % осіб - від 31 до 40 років, 13,4 % осіб - від 41 до 50 років, решта – 8,4% осіб були старші за 50 років (рис. 3.13). Відповідно до *NAT2* поліморфізму вірогідних відмінностей серед різних вікових груп відзначено не було. Водночас спостерігалась певна тенденція до зниження відсотка «повільних ацетиляторів» зі збільшенням віку - починаючи від 57,2 % серед осіб до 20 років і до 40,0 % серед осіб, старших за 50 років (виключення складав віковий відрізок 41-50 років).

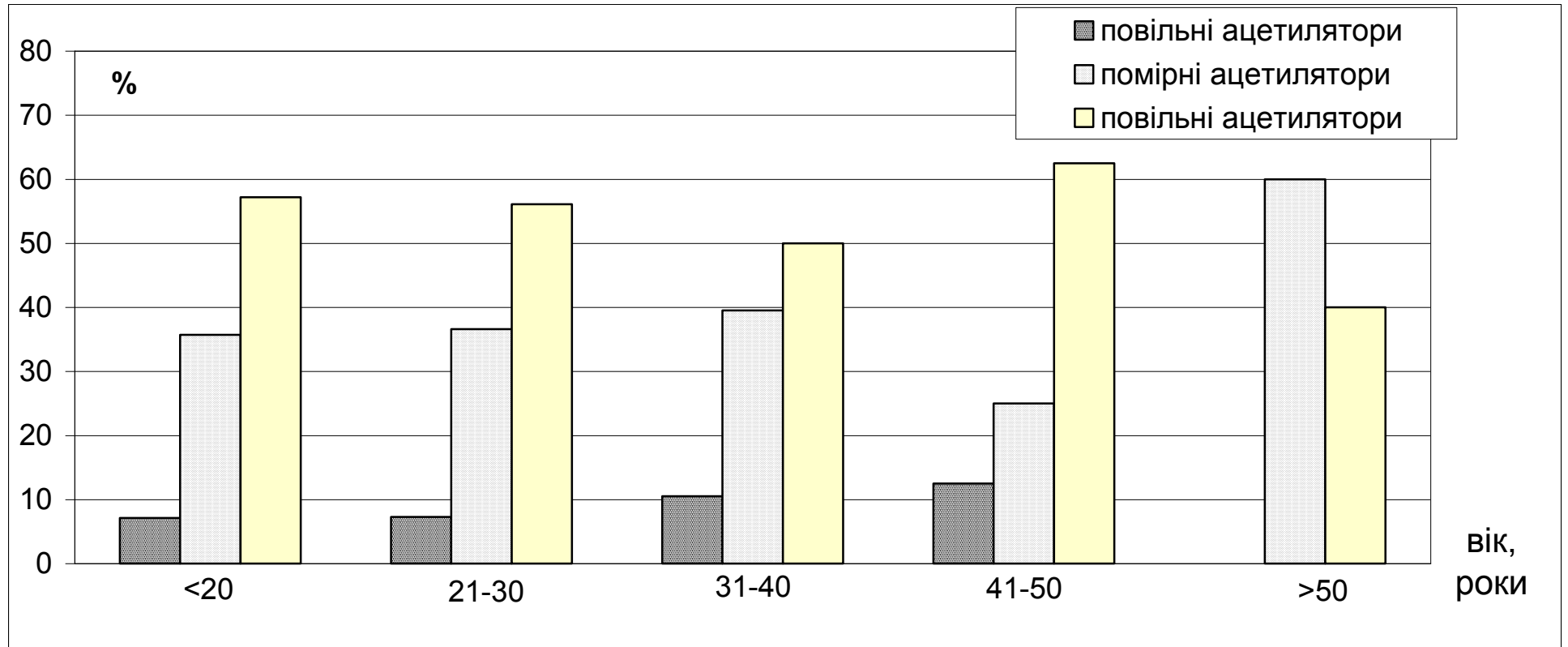


Рис. 3.13. Поширення генетичного поліморфізму *NAT2* серед здорових добровольців в різних вікових групах (вісь абсциса)

Отже, серед здорових добровольців згідно генотипу *NAT2* 8,2 % індивідів були «швидкими ацетиляторами», 37,7 % - «помірні ацетилятори» і 54,1 % - «повільними ацетиляторами». Чоловіки в два рази частіше, ніж жінки, належали до ПА (57,1 проти 28,6 %, $P < 0,05$). Серед індивідів з В(III) групою крові в 7,5 рази частіше зустрічались ША, ніж серед людей з А(II) групою крові (17,2 проти 2,3 %, $P < 0,05$). Згідно поліморфізму *NAT2* вірогідної різниці між різними віковими групами не було.

3.3. Особливості поліморфізму генотипів *CYP2C9*, *CYP2C19* у хворих на туберкульоз легень

Відповідно до генотипу *CYP2C19* з 86 хворих на ТБ легень 69,8 % індивідів були носіями гомозиготного дикого типу гена *CYP2C19**1/*1 (табл. 3.9;3.10). Також 26,7 % хворих були носіями гетерозиготного гена *CYP2C19**1/*2.

Таблиця 3.9

Генотип і алелі гена *CYP2C19* серед хворих на туберкульоз легень (кількість)

Генотип <i>CYP2C19</i> (n=86)					
*1/*1	*1/*2	*1/*3	*2/*2	*2/*3	*3/*3
60	23	0	3	0	0
Алель <i>CYP2C19</i> (n=172)					
*1		*2		*3	
143		29		0	

Носіями гомозиготного мутантного гена *CYP2C19**2/*2 було 3,5 %, водночас хворих з гомозиготним мутантним геном *CYP2C19**3/*3 або гетерозиготним мутантним геном *CYP2C19**2/*3 не було зафіксовано. Серед

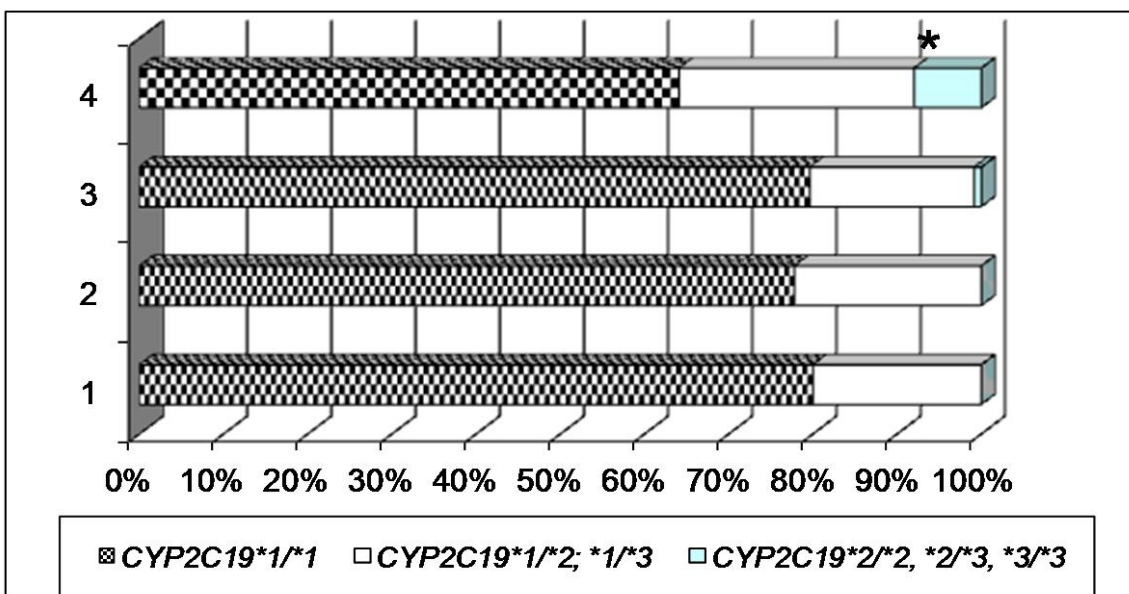
здорових добровольців дещо частіше зустрічались носії гомозиготного дикого типу гена *CYP2C19**1/*1 – 79,5 %, водночас рідше зустрічались носії варіантного генотипу *CYP2C19**2/*2 – 0,8 проти 3,5 % у хворих на туберкульоз.

Таблиця 3.10

Поширеність генотипів *CYP2C19* серед хворих на туберкульоз легень і здорових добровольців (%)

Результати	Генотип <i>CYP2C19</i>					
	*1/*1	*1/*2	*1/*3	*2/*2	*2/*3	*3/*3
Хворі на ТБ легень, n=86	69,8	26,7	0	3,5	0	0
Здорові донори, n=122	79,5	18,9	0,8	0,8	0	0

Водночас при порівнянні поширеності генотипу *CYP2C19* з урахуванням гендерних відмінностей відзначалась більша поширеність генотипу *CYP2C19**1/*1 серед здорових добровольців, особливо жіночої статті, а також більша поширеність генотипів, що відповідають за повільний тип метаболізму серед хворих на ТБ легень, особливо чоловічої статті (рис. 3.14).



* - $P < 0,05$ (відносно відповідної контрольної групи)

Рис. 3.14. Генетичний поліморфізм гена *CYP2C19* серед здорових донорів жіночої (1) або чоловічої статі (3) та хворих на ТБ легень жіночої (2) або чоловічої статі (4).

Серед хворих на ТБ легень чоловічої статі частіше спостерігались носії генотипу *CYP2C19*2/*2*, що асоціюється з повільним метаболізмом, ніж серед здорових донорів чоловічої статі ($P < 0,05$). У 8,2 % хворих на туберкульоз чоловічої статі було зафіксовано генотип *CYP2C19*2/*2*, водночас серед жінок генотип повільного метаболізму взагалі не було виявлено.

Загалом, з досліджених 172 алелів *CYP2C19*, 83,1 % складав дикий або немутований алель *CYP2C9*1*, в 16,9 % зустрічався варіантний алель *CYP2C19*2*. Водночас, серед здорових добровольців 89,3 % складав дикий алель *CYP2C19*1*, по 10,2 і 0,4 % становили мутовані алелі *CYP2C19*2* і *CYP2C19*3*. Важливо, що серед здорових донорів чоловічої статі в 1,2 разу частіше зустрічався дикий алель *1 і в 2,3 разу рідше мутований алель *2, ніж серед хворих на ТБ легень тієї ж статі ($P < 0,05$) (табл. 3.11).

Таблиця 3.11

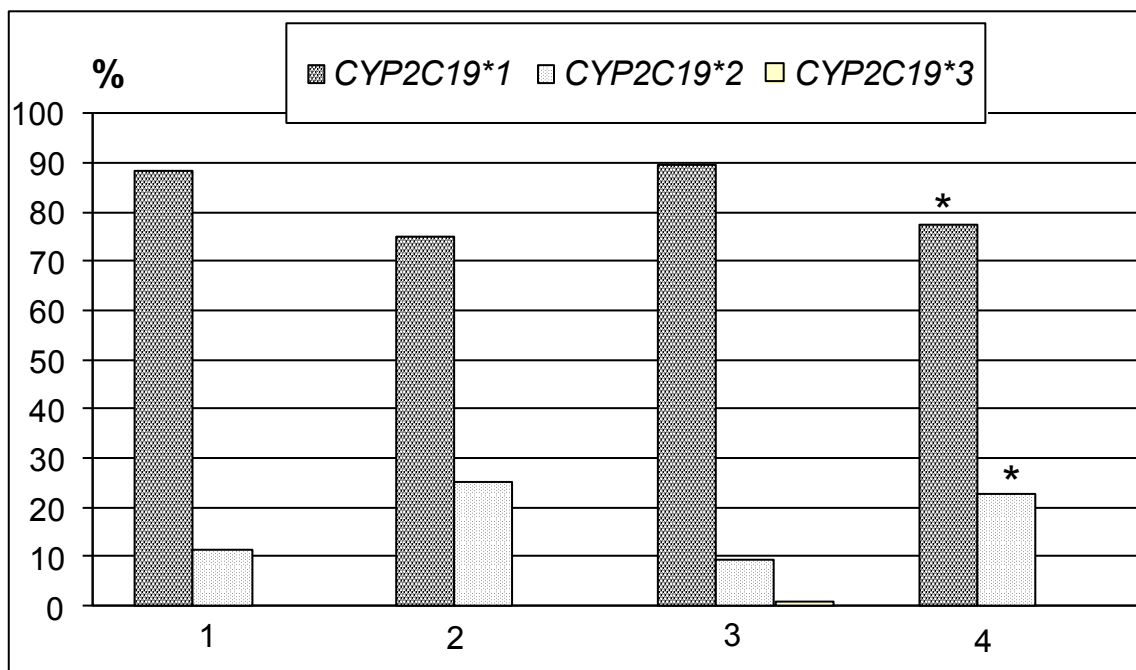
Поширеність алелів *CYP2C19* серед хворих на туберкульоз легень і здорових добровольців (%)

Результати	Генотип <i>CYP2C19</i>		
	*1	*2	*3
Хворі на туберкульоз, n=172			
Чоловіки	76,8*	23,2*	0
Жінки	88,9	11,1	0
Здорові донори, n=244			
Чоловіки	89,3	10,3	0,5
Жінки	90,0	10,0	0

Примітка. * - $P < 0,05$ (відносно відповідної групи здорових донорів).

Серед хворих на туберкульоз різних вікових кількості носії генотипу *CYP2C19*1/*1* коливалась від 54,5 % (понад 50 років) до 90,0 % (41-50 років). В контрольній групі поширеність вище вказаного генотипу коливалась від 75,0 % (41-50 років) до 100 % (понад 50 років). Тобто, в найбільшій віковій групі

здорових добровольців відзначалась найбільша кількість носіїв генотипу *CYP2C19*1/*1*, що відповідає за швидкий метаболізм, водночас у хворих на ТБ легень відзначали зворотній процес – найменша кількість носіїв генотипу *CYP2C19*1/*1* серед найбільш вікової групи (100 проти 54,5 %, $P<0,05$). Та сама закономірність відзначалась відносно поширеності немутованого алеля *CYP2C19*1*, який серед здорових добровольців досягла найбільшої поширеності у найстаршій віковій групі, водночас у відповідній віковій групі хворих на ТБ легень він зустрічався, навпаки, найрідше - 100 проти 68,2 % ($P<0,05$). При розподілі здорових добровольців і хворих на ТБ легень згідно віку на категорії до і після 30 років було відзначено наступне (рис. 3.15). Серед здорових донорів поширеність дикої алелі складала 89,3% (<30 років) і 89,4% (>30 років), серед хворих на туберкульоз – 82,6 і 82,8% відповідно.



* - $P<0,05$ (відносно відповідної групи здорових добровольців)

Рис. 3.15. Поширеність алелів гена *CYP2C19* серед здорових добровольців (1,3) і хворих на туберкульоз легень (2,4) чоловічої статі в різних вікових групах – до 30 років (1,2) і після 30 років (3,4).

Проведений аналіз засвідчив, що у хворих на ТБ легень дещо частіше зустрічались носії мутантних алелів і рідше – носії дикого алеля, ніж серед

здорових добровольців. «Швидкі метаболізатори» частіше спостерігались серед жінок, ніж серед чоловіків, особливо у хворих на туберкульоз. Мутантний алель *CYP2C19*2* зустрічався у пацієнтів чоловічої статі в 2,3 разу частіше, ніж серед здорових добровольців тієї ж статі. Також серед хворих на туберкульоз відзначали більшу поширеність носіїв мутантного алеля *CYP2C19*2* зі збільшенням віку, у порівнянні з контрольною групою. Отже, можна зробити висновок, що приналежність до чоловічої статі, наявність туберкульозної інфекції і старший вік є факторами, що пов'язані з більшою поширеністю мутантного алеля гена *CYP2C19*. Тому у цих категорій можна очікувати уповільнення метаболізму різних ксенобіотиків і збільшення їх токсичності. Зважаючи на малу кількість хворих на ТБ легень з генотипом **2/*2* – усього 3 особи, що не забезпечує достатньої достовірності, було вирішено виключити хворих з цим генотипом з подальших досліджень.

Відповідно до генотипу *CYP2C9* зі 86 хворих на ТБ легень 67,4 % індивідів були носіями гомозиготного дикого типу гена *CYP2C9*1/*1* (табл. 3.12).

Таблиця 3.12

Генотип і алелі гена *CYP2C9* серед хворих на туберкульоз легень (кількість)

Генотип <i>CYP2C9</i> (n=86)					
<i>*1/*1</i>	<i>*1/*2</i>	<i>*1/*3</i>	<i>*2/*2</i>	<i>*2/*3</i>	<i>*3/*3</i>
58	19	3	0	3	3
Алель (n=172)					
<i>CYP2C9*1</i>		<i>CYP2C9*2</i>		<i>CYP2C9*3</i>	
138		22		12	

Також 22,1 і 3,5 % хворих на ТБ легень були носіями гетерозиготних генів *CYP2C9*1/*2* і *CYP2C9*1/*3*. Носіями гомозиготного мутантного гена *CYP2C9*3/*3* було 3,5 %, гетерозиготний мутантний ген *CYP2C9*2/*3*

спостерігали також у 3,5 % індивідів (табл. 3.13). Хворих з гомозиготним мутантним геном *CYP2C9**2/*2 не було зафіксовано.

Серед здорових добровольців дещо частіше зустрічались носії гомозиготного дикого типу гена *CYP2C9**1/*1 – 76,2 %, ніж серед хворих на ТБ легень, водночас рідше зустрічались носії варіантних генотипів - *CYP2C9**2/*2, *CYP2C9**2/*3 або *CYP2C9**3/*3 – 2,4 проти 7,0 % у хворих на ТБ легень.

Таблиця 3.13

Поширеність генотипів *CYP2C9* серед здорових добровольців і хворих на туберкульоз легень (%)

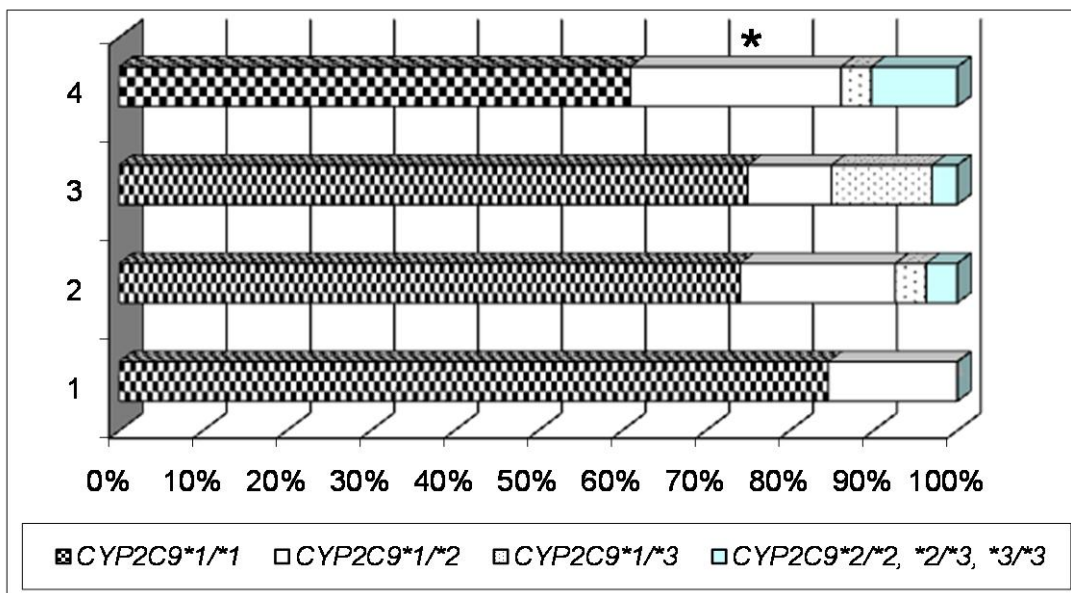
Результати	Генотип <i>CYP2C9</i>					
	*1/*1	*1/*2	*1/*3	*2/*2	*2/*3	*3/*3
Здорові добровольці	76,2	10,7	10,7	0,8	0,8	0,8
Хворі на ТБ легень	67,4	22,1	3,5	0	3,5	3,5

Загалом, з досліджених 172 алелів *CYP2C9* у хворих на ТБ легень, 80,2 % складав алель *CYP2C9**1, по 12,8 і 7,0 % складали алелі *CYP2C9**2 і *CYP2C9**3, відповідно. Водночас, серед здорових донорів 86,7 % були носіями дикого алеля *CYP2C9**1, по 6,6 % - мутованих алелів *CYP2C9**2 і *CYP2C9**3.

Серед чоловіків хворих на ТБ легень носії гомозиготного типу дикого гена *CYP2C9**1/*1 складали більшість, а саме 60,7 %. Носії гетерозиготного типу немутованого гену - *CYP2C9**1/*2 або *CYP2C9**1/*3 становили 25,0 і 3,6 %. Носіями генотипів, що відповідали за повільний тип метаболізму, було 10,2 % чоловіків. Серед жінок також переважали носії гомозиготного типу дикого гена *CYP2C9**1/*1 – 74,1 %; близько 18,5 і 3,7 % складали носії гетерозиготного типу немутованого гена - *CYP2C9**1/*2 або *CYP2C9**1/*3 відповідно. Нарешті, 3,7% жінок були носіями генотипів, що відповідали за повільний тип метаболізму. Вірогідної гендерної різниці щодо поширеності генотипу *CYP2C9* серед хворих

на ТБ легень не було відзначено, водночас спостерігалась тенденція до більшої поширеності генотипів швидкого метаболізму серед жінок, ніж у чоловіків.

При порівнянні поширеності генотипу *CYP2C9* серед здорових добровольців і хворих на ТБ легень відзначалось дещо більша частка носіїв генотипів, що відповідали за повільний тип метаболізму, серед хворих на ТБ (2,4 проти 7,0 %). Водночас при порівнянні поширеності генотипу *CYP2C9* з урахуванням гендерних відмінностей відзначалось більша поширеність генотипу *CYP2C9*1/*1* серед здорових добровольців, особливо жіночої статті, а також більша поширеність генотипів, що відповідають за повільний тип метаболізму серед хворих на ТБ легень, особливо чоловічої статті ($p > 0,05$) (рис. 3.16).



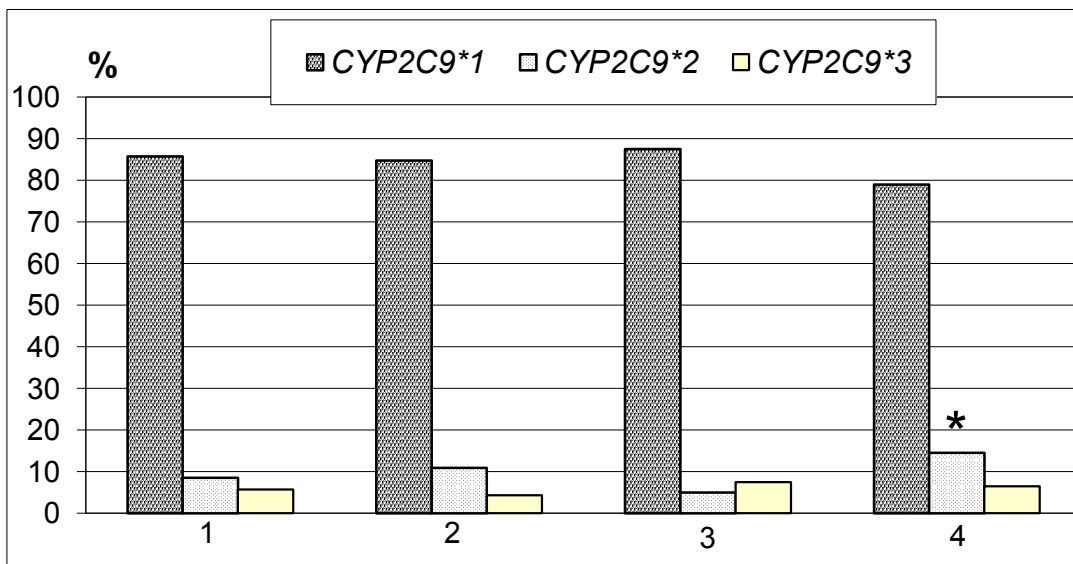
* - $P < 0,05$ (відносно відповідної групи здорових добровольців)

Рис. 3.16. Генетичний поліморфізм гена *CYP2C9* серед здорових донорів жіночої (1) або чоловічої статі (3) та хворих на ТБ легень жіночої (2) або чоловічої статі (4).

Серед хворих на ТБ легень чоловічої статті в 2,5 рази частіше зустрічався алель *CYP2C9*2* і спостерігався генотип *CYP2C9*1/*2*, ніж серед чоловіків контрольної групи ($P < 0,05$). Загалом мутантні алелі *CYP2C9*2* і *CYP2C9*3*

зустрічались у хворих на туберкульоз чоловічої статі в 1,8 разу частіше, ніж серед здорових добровольців тієї ж статі ($P < 0,05$). Також вище зазначені мутантні алелі спостерігались дещо частіше серед жінок, які хворіли на ТБ легень, ніж у здорових жінок (14,8 проти 7,7 %, $P > 0,05$).

Серед пацієнтів різних вікових груп кількість носії генотипу *CYP2C9*1/*1* коливалась від 60,0 % (41-50 років) до 75,0 % (21-30 років). В групі здорових добровольців поширеність вище вказаного генотипу коливалась від 70,3 % (31-40 років) до 92,9 % (до 20 років). У хворих на ТБ легень поширеність генотипів, що відповідають за повільний тип метаболізму, була найбільшою у віковій категорії 31-40 років – 27,3 проти 2,7 % у контрольній групі ($P < 0,05$). Серед хворих на туберкульоз після 30 років була дещо більша кількість носіїв мутантних алелів *CYP2C9*2* і *CYP2C9*3*, ніж серед хворих віком до 30 років (21,0 проти 15,2 %, $P > 0,05$) (рис. 3.17). Водночас в контрольній групі це співвідношення складало навпаки - 12,5 проти 14,2 %). Хворі на ТБ віком понад 30 років майже в 3 рази частіше мали мутантний алель *CYP2C9*2*, ніж особи контрольної групи ($P < 0,05$).



* - $P < 0,05$ (відносно відповідної контрольної групи)

Рис. 3.17. Поширеність алелів гена *CYP2C9* серед здорових (1,3) і хворих на ТБ легень (2,4) в різних вікових групах – до 30 років (1,2) і після 30 років (3,4).

Проведений аналіз засвідчив, що у хворих на ТБ легень дещо частіше зустрічались носії мутантних алелів і рідше – носії дикого алеля, ніж серед здорових добровольців. «Швидкі метаболізатори» частіше спостерігались серед жінок, ніж серед чоловіків, причому як здорових, так і хворих на ТБ легень.

Мутантні алелі *CYP2C9*2* і *CYP2C9*3* зустрічались у хворих на туберкульоз чоловічої статі в 1,8 разу частіше, ніж серед здорових добровольців тієї ж статі ($P < 0,05$). Також відзначалось певне зростання кількості носіїв дикого алеля *CYP2C9*1* серед здорових добровольців зі збільшенням віку. Водночас серед хворих на ТБ легень відзначали збільшення кількості носіїв мутантного алеля *CYP2C9*2* зі збільшенням віку, у порівнянні з контрольною групою. Отже, можна зробити висновок, що приналежність до чоловічої статі, наявність туберкульозної інфекції і старший вік є факторами, що пов'язані з більшою поширеністю мутантних алелів гена *CYP2C9*. Тому у цих категорій можна очікувати уповільнення метаболізму різних ксенобіотиків і збільшення їх токсичності. Також можливо, що зазнаючи впливу найбільш ефективних протитуберкульозних препаратів (ізоніазид, рифампіцин), поліморфізм *CYP2C9*, у свою чергу, може визначати концентрацію і дію вище вказаних протитуберкульозних препаратів.

Таким чином, серед хворих на ТБ легень 80,2 % складав дикий алель *CYP2C9*1*, по 12,8 і 7,0 % складали мутантні алелі *CYP2C9*2* і *CYP2C9*3* відповідно, що асоціюються з уповільненням метаболізму ксенобіотиків. Мутантні алелі *CYP2C9*2* і *CYP2C9*3* зустрічались у хворих на туберкульоз чоловічої статі в 1,8 разу частіше, ніж серед здорових добровольців тієї ж статі. Хворі на ТБ легень віком понад 30 років майже в 3 рази частіше мали мутантний алель *CYP2C9*2*, ніж особи контрольної групи.

3.4. Варіативність генотипів *CYP2E1*, *NAT2* серед хворих на туберкульоз легень

Відповідно до генотипу *CYP2E1* з 86 пацієнтів 84 (97,7%) не мали мутацій в '5-фланкуючому регіоні (генотип *c1/c1*), решта – 2 (2,3%) мали один

мутований алель (генотип *c1/c2*). Стосовно інтрона 6 більшість хворих, а саме 77 (89,5 %) не мали мутацій у цій ділянці (генотип **DD*), 8 хворих (9,3 %) мали один мутований алель (генотип **CD*), 1 хворих (1,2%) мав обидві мутовані алелі (генотип **CC*) (табл. 3.14; 3.15).

Таблиця 3.14

Генотип і алелі гена *CYP2E1* серед хворих на туберкульоз легень (кількість)

Генотип (n=86)		
<i>*DD</i>	<i>*CD</i>	<i>*CC</i>
77	8	1
Алель (n=172)		
<i>CYP2E1*D</i>		<i>CYP2E1*C</i>
162		10

Таблиця 3.15

Поширеність генотипів *CYP2E1* серед здорових добровольців і хворих на туберкульоз легень (%)

Результати	Генотип <i>CYP2E1</i>		
	<i>*DD</i>	<i>*CD</i>	<i>*CC</i>
Здорові добровольці (n=122)	82,0	17,2	0,8
Хворі на ТБ легень (n=86)	89,0	9,8	1,2

Обидва хворих, які мали мутацію в 5-фланкуючому регіоні, також мали мутацію в 6^{му} інтроні. У подальшому для зручності ми виділили окремо групу хворих, які не мали мутацій в 6^{му} інтроні (генотип **DD*), і групу хворих, які мали мутації у вказаному локусі (генотипи **CD*, **CC*) (табл. 3.14).

Серед здорових добровольців дещо частіше зустрічались носії гетерозиготного типу гена *CYP2E1*CD* – 17,2 %, водночас рідше зустрічались носії генотипу - *CYP2E1*DD* – 82,0 %, ніж у хворих на ТБ легень. Також у

здорових донорів були відсутні носії генотипу *CC. При порівнянні поширеності генотипу *CYP2E1* серед здорових добровольців і хворих на ТБ легень відзначалась дещо менша частка носіїв генотипів, що відповідали за помірний тип метаболізму, серед хворих на туберкульоз (9,8 проти 17,2 %).

Загалом, з досліджених 172 алелів *CYP2E1*, 94,2% складав алель *D, і 5,8 % склав алель *C. Серед здорових добровольців 90,6 % складав алель *D і 9,4 % - алель *C. Отже, істотних відмінностей у поліморфізмі *CYP2E1* між хворими на ТБ легень і здоровими донорами не було зафіксовано.

Серед хворих на туберкульоз як чоловічої, так і жіночої статі більшість, а саме 89,0 % складали носії гомозиготного типу дикого гена *CYP2E1**DD (рис. 3.18).

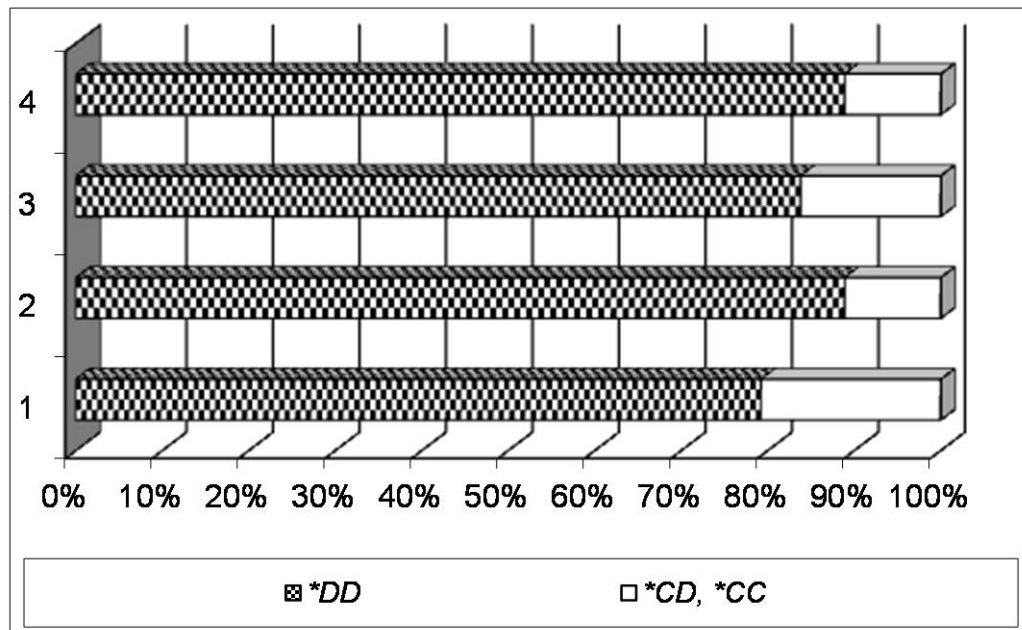
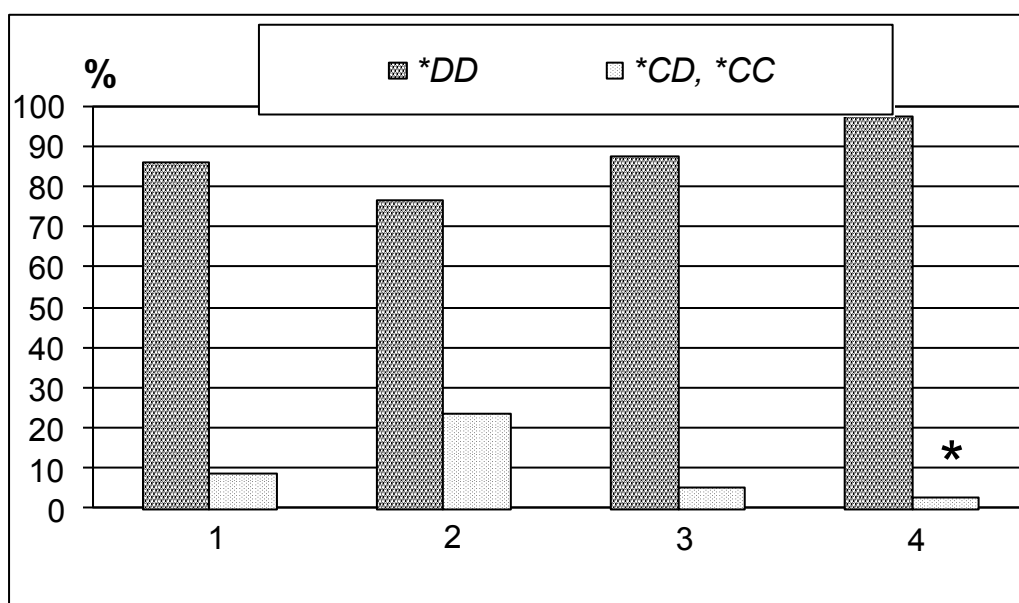


Рис. 3.18. Генетичний поліморфізм гена *CYP2E1* серед здорових добровольців жіночої (1) або чоловічої статі (3) та хворих на ТБ легень жіночої (2) або чоловічої статі (4).

Носії мутантних алелів з генотипами *CD і *CC склали 11,0 % незалежно від статі. Серед здорових добровольців як чоловічої, так і жіночої статі носії генотипу *DD склали більшість, а саме 83,9 і 80,0 % відповідно. Решта – 16,1 і 20,0 % - склали носії генотипу *CD. Таким чином, вірогідної різниці між хворими на ТБ легень і здоровими добровольцями щодо

поліморфізму *CYP2E1* за гендерною ознакою не спостерігалось ($P < 0,05$). Водночас, відзначалась більша поширеність генотипів, що відповідають за повільний тип метаболізму (генотип **CD*), серед здорових донорів жіночої статті ($P > 0,05$). Серед здорових добровольців найчастіше мутована алель **C* зустрічалась у представників жіночої статті - 15,4 % і дещо менше у чоловічої статті - 8,1 %. Серед хворих на ТБ легень чоловічої і жіночої статті мутований алель **C* зустрічався у 6,7 і 5,6 % відповідно. У решті випадків здорові донори і хворі на ТБ легень були носіями дикого алеля **D*.

При дослідженні поширеності різних генотипів *CYP2E1* з урахуванням вікових відмінностей було встановлено наступне. Серед хворих на ТБ легень з генотипом **DD* найбільша кількість – 38,4 % - спостерігалась у віці 21-30 років, найнижча – 8,2 % - у віці до 20 років (рис.3.19).



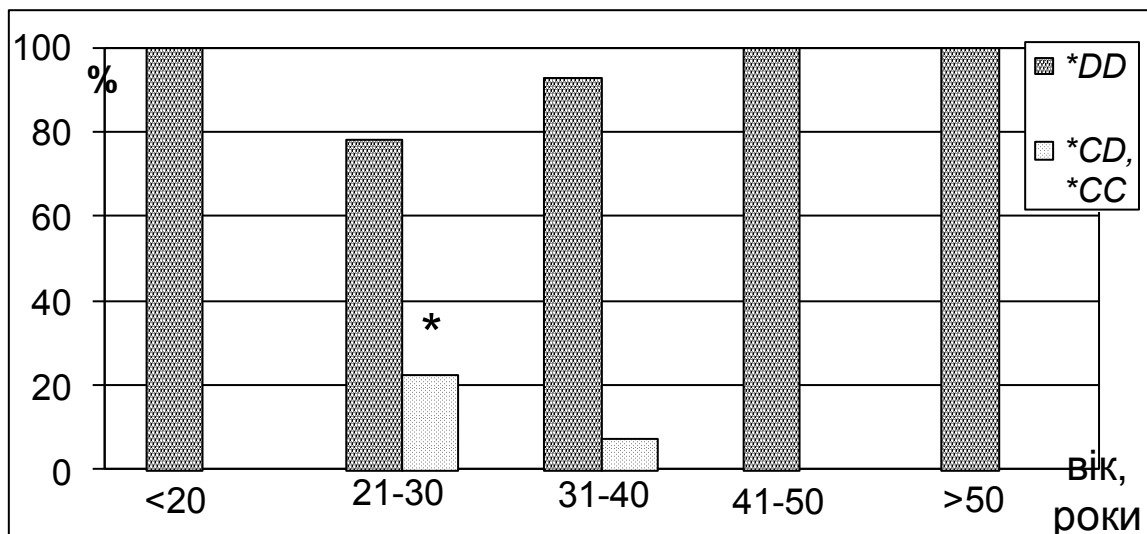
* - $P < 0,05$ (відносно відповідної групи хворих до 30 років)

Рис. 3.19. Поширеність алелів гена *CYP2E1* серед здорових (1,3) і хворих на туберкульоз легень (2,4) в різних вікових групах – до 30 років (1,2) і після 30 років (3,4).

До інших вікових груп належало близько 16-19 % хворих. В групі хворих з генотипами **CD* і **CC* значна більшість, а саме 88,9% становили пацієнти віком 21-30 років, решта - 11,1 % - пацієнти 31-40 років. Тобто, хворі на ТБ легень з генотипами **CD* і **CC* в 2,3 разу частіше належали до вікової

групи 21-30 років, ніж носії генотипу **DD*. ($P < 0,05$; $\chi^2 = 8,31$). При розподілі хворих на дві групи – до 30 років і після 30 років було встановлено, в першій віковій групі хворі з генотипами **CD* і **CC* склали 23,5 %, в другій – 2,5 %. Тобто пацієнти з вище вказаним генотипом майже в 9,4 разу частіше мали вік до 30 років, ніж після 30 років ($P < 0,05$; $\chi^2 = 5,74$). При вивченні групи хворих з генотипом **DD* встановлено, що більшість пацієнтів жіночої статі були віком до 30 років (62,5 %), водночас більшість чоловіків були віком понад 30 років (67,5 %). Отже, хворі на ТБ легень з генотипом **DD* чоловічої статі в 1,8 разу частіше належали до вікової групи понад 30 років, ніж хворі жіночої статі ($P < 0,05$; $\chi^2 = 6,44$).

Серед хворих на ТБ легень віком до 30 років була більша кількість носіїв мутантного алеля **C*, ніж серед хворих віком понад 30 років (11,0 проти 1,3 %, $P < 0,05$; $\chi^2 = 6,61$) (рис. 3.20).



* - $P < 0,05$ (відносно хворих з генотипом **DD*)

Рис. 3.20. Поширення генетичного поліморфізму *CYP2E1* серед хворих на туберкульоз в різних вікових групах (вісь абсциса).

Водночас в контрольній групі це співвідношення складало 10,2 проти 7,9 %. Отже, як серед здорових донорів, так і серед хворих на ТБ після 30 років спостерігається певне зменшення поширеності мутантного алеля **C*, причому у

хворих після 30 років мутантний алель спостерігався в 6,3 разу рідше, ніж у здорових донорів тієї ж вікової групи ($P < 0,05$; $\chi^2 = 4,33$).

Проведений аналіз засвідчив, що у здорових добровольців дещо частіше зустрічались носії мутантних алелів і генотипу гетерозигот, рідше – носії дикого алеля і генотипу **DD*, ніж серед хворих на ТБ легень. «Повільні метаболізатори» частіше спостерігались серед здорових жінок, ніж серед чоловіків тієї ж групи. Також відзначалось певне зростання кількості носіїв генотипу *CYP2E1*DD* серед хворих на ТБ легень і здорових добровольців зі збільшенням віку. Зокрема, пацієнти з генотипами **CD* і **CC* майже в 9,4 разу частіше мали вік до 30 років, ніж після 30 років. Серед здорових донорів відмінностей у поліморфізмі *CYP2E1* серед різних вікових груп не відзначалось.

Отже, можна зробити висновок, що у хворих на ТБ легень і віком понад 30 років є більш поширений генотип **DD*, що може асоціюватись з більшою гепатотоксичністю протитуберкульозних препаратів у цієї категорії хворих.

Відносно варіативності генотипу *NAT-2* серед хворих на ТБ легень було встановлено наступне. Відповідно до генотипу *NAT2*5A* 23,3 % хворих на ТБ легень були носіями гомозиготного дикого типу гена, 60,5 % були носіями гетерозиготних генів і 16,3 % були носіями гомозиготного мутанного гена (табл. 3.16). Дослідження генотипу *NAT2*6A* виявило, що 40,7 % індивідів мали гомозиготний дикий тип гена, 52,3 % індивідів мали гетерозиготний ген і 7,0 % мали гомозиготний мутантний ген. Всі 86 досліджених зразків мали гомозиготний дикий тип гена *NAT2*7A/B*. При порівнянні результатів генотипування хворих на ТБ легень і здорових добровольців треба відзначити, що в першій групі дещо рідше спостерігались носії гомозиготного дикого типу гена, ніж в контрольній, що має асоціюватись з більш повільним процесом метаболізму лікарських препаратів ($P > 0,05$).

Серед 86 хворих на ТБ легень 3 (3,5 %) індивіди були «швидкими ацетиляторями» (ША), 30 (34,9 %) становили особи – «помірні ацетилятори» (ІА) і 53 (61,6 %) осіб було носіями генотипу «повільних ацетиляторів» (ПА)

(табл. 3.17). Серед здорових добровольців до ША належало 8,2 %, до ІА і ПА – 37,7 і 54,1 % відповідно.

Таблиця 3.16

Генотип і частота алелів гена *NAT2* серед хворих на туберкульоз легень і здорових добровольців (кількість)

Поліморфізм	Геноти/гапло тип	Хворі на туберкульоз легень, n=86 (%)	Здорові донори, n=122 (%)
<i>NAT2</i> *5A (C481T)	<i>CC</i>	20 (23,3)	45 (36,9)
	<i>CT</i>	52 (60,5)	55 (45,1)
	<i>TT</i>	14 (16,3)	22 (18,0)
<i>NAT2</i> *5A (C481T)	<i>C</i>	92 (53,5)	145 (59,4)
	<i>T</i>	80 (46,5)	99 (40,6)
<i>NAT2</i> *6A (G590A)	<i>GG</i>	35 (40,7)	58 (47,5)
	<i>GA</i>	45 (52,3)*	44 (36,1)
	<i>AA</i>	6 (7,0)	20 (16,4)
<i>NAT2</i> *6A (G590A)	<i>G</i>	115 (66,9)	160 (65,5)
	<i>A</i>	57 (33,1)	84 (34,5)
<i>NAT2</i> *7A/B (G857A)	<i>GG</i>	86 (100)	122 (100)
	<i>GA</i>	0	0
	<i>AA</i>	0	0
<i>NAT2</i> *7A/B (G857A)	<i>G</i>	172 (100)	244 (100)
	<i>A</i>	0	0

Примітка. * - $P < 0,05$ (відносно здорових добровольців).

Спираючись на літературні дані [303] 33 хворих або 38,4 % належали до ША, водночас решта – 53 індивіди або 61,6 % належали до ПА (табл. 3.17). Водночас серед здорових донорів до ША належало 45,7%, до ПА – 54,1%. Більшість донорів жіночої статі (56,6 %) мали генотип ІА, решта - 14,5 і 28,9 % були носіями генотипів ША і ПА (рис. 3.21). Серед хворих на ТБ легень жіночої

статі більшість або 66,7 % належали до ПА, решта – 3,7 і 29,6 % належали до ША і ІА відповідно.

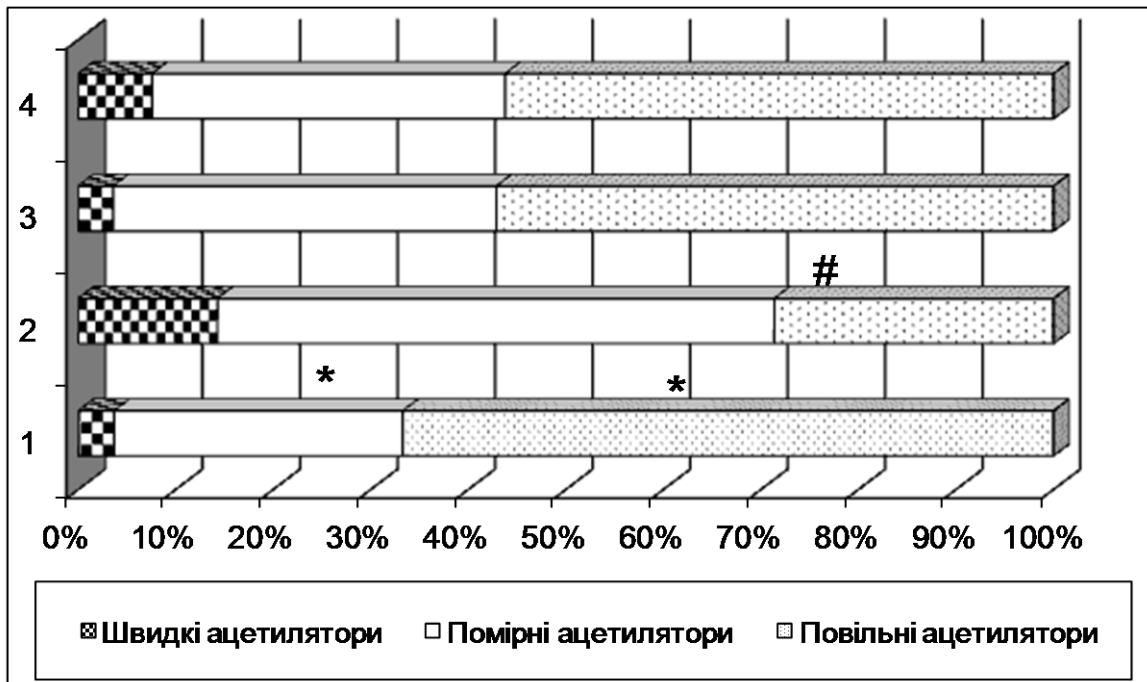
Таблиця 3.17

Генотипний розподіл згідно поєднаного поліморфізму *NAT2*5A*, *NAT2*6A*

Генотипний поліморфізм		Кількість індивідів (%)	
<i>NAT2*5A</i>	<i>NAT2*6A</i>	Хворі на туберкульоз, n=86	Здорові донори, n=122
<i>CC</i>	<i>GG</i>	3 (3,5)	10 (8,2)
<i>CC</i>	<i>GA</i>	11 (12,8)	17 (13,9)
<i>CC</i>	<i>AA</i>	6 (7,0)	18 (14,8)
<i>CT</i>	<i>GG</i>	19 (22,1)	29 (23,8)
<i>CT</i>	<i>GA</i>	33 (38,4)*	24 (19,7)
<i>CT</i>	<i>AA</i>	0 (0)	2 (1,6)
<i>TT</i>	<i>GG</i>	13 (15,1)	19 (15,6)
<i>TT</i>	<i>GA</i>	1 (1,2)	3 (2,5)
<i>TT</i>	<i>AA</i>	0	0 (0)

Примітка. * - $P < 0,05$ (відносно здорових донорів).

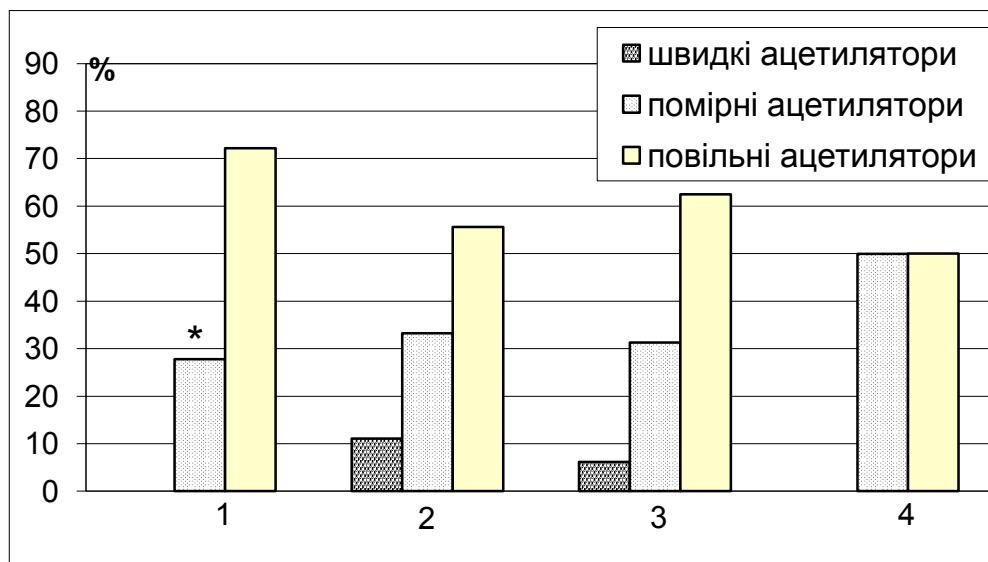
Отже, серед жінок хворих на туберкульоз в 2,3 разу частіше спостерігався генотип, що відповідає за повільний тип ацетилювання і в 1,9 разу рідше спостерігався генотип помірному типу ацетилювання, ніж серед здорових добровольців тієї ж статі ($P < 0,05$). Серед хворих на ТБ легень чоловічої статі більшість або 57,1 % становили ПА, більше третини або 39,3 % склали ІА і решта або 3,6 % - ША. Серед здорових донорів тієї ж статі ПА також склали більшість або 56,2 %, решта - 7,6 і 36,2 % були ША і ІА відповідно (рис. 3.22).



* - $P < 0,05$ (відносно відповідної групи здорових донорів)

- $P < 0,05$ (відносно групи здорових донорів чоловічої статі)

Рис. 3.21. Генетичний поліморфізм *NAT2* серед хворих на туберкульоз легень жіночої (1) або чоловічої статі (3) та здорових донорів жіночої (2) або чоловічої статі (4).



* - $P < 0,05$ (відносно відповідної групи здорових добровольців)

Рис. 3.22. Генетичний поліморфізм *NAT2* серед хворих на ТБ легень жіночої (1,2) і чоловічої статі (3,4) в різних вікових групах – до 30 років (1,3) і після 30 років (2,4).

Отже, значних відмінностей між хворими на ТБ легень і здоровими добровольцями чоловічої статі не було, хоча відзначалось дещо більша поширеність ША в групі здорових донорів, ніж серед хворих на туберкульоз.

Цікаво відзначити, у хворих на ТБ легень особи з генотипом ПА зустрічались дещо частіше серед жінок, ніж серед чоловіків ($P>0,05$). Водночас, серед здорових донорів жіночої статі повільні ацетилятори зустрічались майже вдвічі частіше, ніж серед індивідів чоловічої статі ($P<0,05$).

При дослідженні поширеності різних генотипів з урахуванням вікових відмінностей було встановлено наступне. Серед хворих на туберкульоз легень найбільша кількість ПА – 72,7 % - спостерігалась у віці 31-40 років, найнижча – 50,0 % - у віці 31-40 років. При розподілі пацієнтів на дві групи – до 30 років і після 30 років було встановлено, в першій віковій групі ПА склали 67,6 %, в другій – 52,4 %. Причому зменшення відсотка зі збільшенням спостерігали як серед жінок – 72,2 % (до 30 років) і 55,6 % (після 30 років), так і серед чоловіків – 62,5 % (до 30 років) і 50,0 % (після 30 років) (рис. 3.22). Кількість ПА серед жінок віком до 30 років хворих на ТБ легень, була в 3,2 разу вищою, ніж серед відповідної категорії здорових добровольців ($P<0,05$). Серед здорових донорів зі збільшенням віку також спостерігалась певна тенденція до зменшення відсотка ПА – від 57,1 % (до 20 років) до 40,0 % (понад 50 років) (рис. 3.13).

Отже, серед хворих на ТБ легень відсоток ПА був дещо вищим, ніж серед здорових донорів, і складав 61,6 проти 54,1 %. При цьому ця тенденція спостерігалась як серед чоловіків, так і жінок. Згідно літературних даних, стать не впливала на активність ферменту NAT2 [324]. Водночас, згідно отриманих в даній роботі результатів, серед здорових донорів жіночої статі рідше спостерігали генотипи ПА, ніж серед представників чоловічої статі. В той же час, серед хворих на ТБ легень саме у жінок частіше зустрічали генотип ПА, ніж у чоловіків ($P>0,05$). Можливо це буде впливати на вміст протитуберкульозного препарату ізоніазиду в плазмі хворих і ефективність протитуберкульозних препаратів. Відсутність вірогідності можливо пов'язана з малою виборкою хворих на туберкульоз, у яких було проведено генотипування.

Також заслуговує на увагу тенденція до зниження відсотка ПА у хворих на ТБ легень, причому як чоловіків, так і жінок зі збільшенням віку. Частково ця тенденція спостерігалась і у здорових донорів. Можливо, що у більш літніх людей (70 років і старше) має місце подальше зниження відсотка ПА, що буде відбивати певне значення поліморфізму *NAT2* для ефективності протитуберкульозної терапії.

Таким чином, серед хворих на ТБ легень згідно *NAT2* генотипу 3,5 % індивідів були ША, 34,9 % становили ІА і 61,6 % індивідів були ПА. Серед здорових донорів вказані категорії складала 8,2; 37,7 і 54,1 % відповідно. Кількість жінок, які хворіли на ТБ легень і мали генотип ПА, складала 66,7 %, що було в 2,3 разу вище, ніж серед здорових донорів тієї ж статі. Зі збільшенням віку спостерігалась певна тенденція до зменшення частки ПА серед хворих на ТБ легень.

За матеріалами даного розділу були опубліковані такі роботи:

1. Антоненко П. Б. Поліморфізм генотипу цитохрому-450 2С9 в Одеському регіоні / П. Б. Антоненко, В. Й. Кресюн // Актуальні проблеми сучасної медицини : Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2011. – Т. 11, вип. 4 (36). – Ч. II. – С. 51–55. (Медична наука-2011 : Всеукраїнська наук.-практ. конф., 29–30 листопада 2011 р., Полтава : матеріали).
2. Антоненко П. Б. Поліморфізм гена цитохрому-450 2С19 на Південному Заході України / В. Й. Кресюн, П. Б. Антоненко // Запорозький медичинський журнал. – 2011. – Т. 13, № 6. – С. 36-38.
3. Антоненко П. Б. Поліморфізм генотипу N-ацетилтрансферази 2 в Одеському регіоні / П. Б. Антоненко, В. Й. Кресюн // Журн. НАМН України. – 2011. – Т. 17, № 4. – С. 398–401.
4. Антоненко П. Б. Поліморфізм генотипу N-ацетилтрансферази 2 серед хворих на туберкульоз / П. Б. Антоненко, В. Й. Кресюн // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2013. – Т. 17, № 1. – С. 51–55.

5. Антоненко П. Б. Особливості поліморфізму гена цитохрому-450 2C19 серед хворих на туберкульоз / В. Й. Кресюн, П. Б. Антоненко // Вісник наукових досліджень. – 2013. – № 2. – С. 32–35.

6. Антоненко П. Б. Генотип цитохрому-450 2C9 у хворих на туберкульоз / В. Й. Кресюн, В. В. Філюк, П. Б. Антоненко, К. К. Рогач, Ю. М. Даниленко, Г. В. Мозолевич // Медичні перспективи. – 2013. – № 2. – С. 61–66.

7. Антоненко П. Б. Генотипічне визначення резистентності збудника туберкульозу до рифампіцину / П. Б. Антоненко, В. Й. Кресюн, К. О. Антоненко // Безпечність ліків і фактори ризику небажаних ефектів фармакотерапії : наук.-практ. конф., 21–22 жовтня 2010 р., Тернопіль : матеріали. – Тернопіль, 2010. – С. 28–29.

8. Антоненко П. Б. Поліморфізм генотипа N-ацетилтрансферази 2 в Юго-западном районі України / П. Б. Антоненко, В. И. Кресюн // Интегративный поход к проблемам туберкулеза и ВИЧ-инфекции : II Междунар. науч.-практ. конф., 12–13 мая 2011 г., Гомель, Беларусь : материалы. – Гомель, 2011. – С. 12–13.

9. Антоненко П. Б. Поліморфізм генотипу N-ацетилтрансферази 2 в Одеському регіоні / П. Б. Антоненко, В. Й. Кресюн // Фундаментальні проблеми внутрішньої медицини – від молекули до практичного одужання : VI Південноукраїнська наук.-практ. конф., 6 квітня 2011 р., Одеса : тези доп. – Одеса, 2011. – С. 23–24.

10. Антоненко П. Б. Поліморфізм генотипу N-ацетилтрансферази 2 у Південно-західному регіоні України / П. Б. Антоненко // Українські медичні вісті. – 2011. – Т. 9. – С. 317 (XI З'їзд Всеукраїнського лікарського товариства (ВУЛТ), 28–30 вересня 2011 р., Харків : матеріали.).

11. Антоненко П. Б. Поліморфізм N-ацетилтрансферази 2 в Одеському регіоні / П. Б. Антоненко // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2011. – № 5 (24). – С. 15–16 (IV Національний з'їзд фармакологів України, 10–12 жовтня 2011 р., Київ : тези доп.).

12. Поліморфізм гена цитохрома-450 2C19 в Юго-западном регионе Украины / П. Б. Антоненко, В. И. Кресюн, В. В. Годован, К. О. Антоненко //

Buletinul academiei de stiinte a moldovei stiinte medicale. – 2011. – N 4 (32). – P. 130–131 (Conferința internațională de pneumologie INSPIR, Iasi-Chisinau, Moldova, 14–16 Octombrie 2011 : materiale).

13. Антоненко П. Б. Поліморфізм генотипу цитохрому-450 2С9 в Одеському регіоні / П. Б. Антоненко // Медична хімія. – 2011. – Т. 13, № 4 (49). – С. 198 (Біохімічні основи патогенезу ураження внутрішніх органів різної етіології та способи їх фармакорекції : наук.-практ. конф., 3–4 листопада 2011 р., Тернопіль : матеріали).

14. Антоненко П. Б. Поліморфізм гена цитохрому-450 2С19 в Одеському регіоні / П. Б. Антоненко, В. Й. Кресюн // Біофізичні стандарти та інформаційні технології в медицині : ювілейна конф., присвячена 10-річчю співпраці Одеського національного медичного університету та міжнародного Казахсько-турецького університету ім. Х. А. Ясауї, грудень 2011 р. : матеріали. – Одеса, 2011. – С. 6-7.

15. Антоненко П. Б. Поширення поліморфізму генотипів цитохрому-450 2С9 і 2С19 в Одеському регіоні / П. Б. Антоненко, В. Й. Кресюн, К. О. Антоненко // Вісник морської медицини. – 2011. – № 4 (54). – С. 111 (Актуальні питання професійної патології : наук.-практ. конф., 1–2 грудня 2011 р., Одеса : тези).

16. Антоненко П. Б. Поліморфізм гена цитохрому-450 2С19 у хворих на туберкульоз / П. Б. Антоненко // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – 2013. – Додаток № 1. – С. 10–11 (Медико-соціальні проблеми туберкульозу в Україні: наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 18–19 березня 2013 р., Київ : тези).

17. Антоненко П. Б. Поліморфізм генотипу цитохрому-450 2С9 у хворих на туберкульоз / В. Й. Кресюн, В. В. Філюк, П. Б. Антоненко, К. К. Рогач, Ю. М. Даниленко, Г. В. Мозолевич // Клінічна фармація: 20 років в Україні : Національний конгрес, 21–22 березня 2013 р., Харків : матеріали. – Х., 2013. – С. 137–138.

РОЗДІЛ 4

ЗНАЧЕННЯ ПОЛІМОРФІЗМУ ПРОЦЕСІВ БІОТРАНСФОРМАЦІЇ ДЛЯ
КОНЦЕНТРАЦІЇ ІЗОНІАЗИДУ ТА РИФАМПІЦИНУ

4.1. Концентрація рифампіцину і ізоніазиду у хворих на туберкульоз з різними генотипами *CYP2C19*, *CYP2C9*

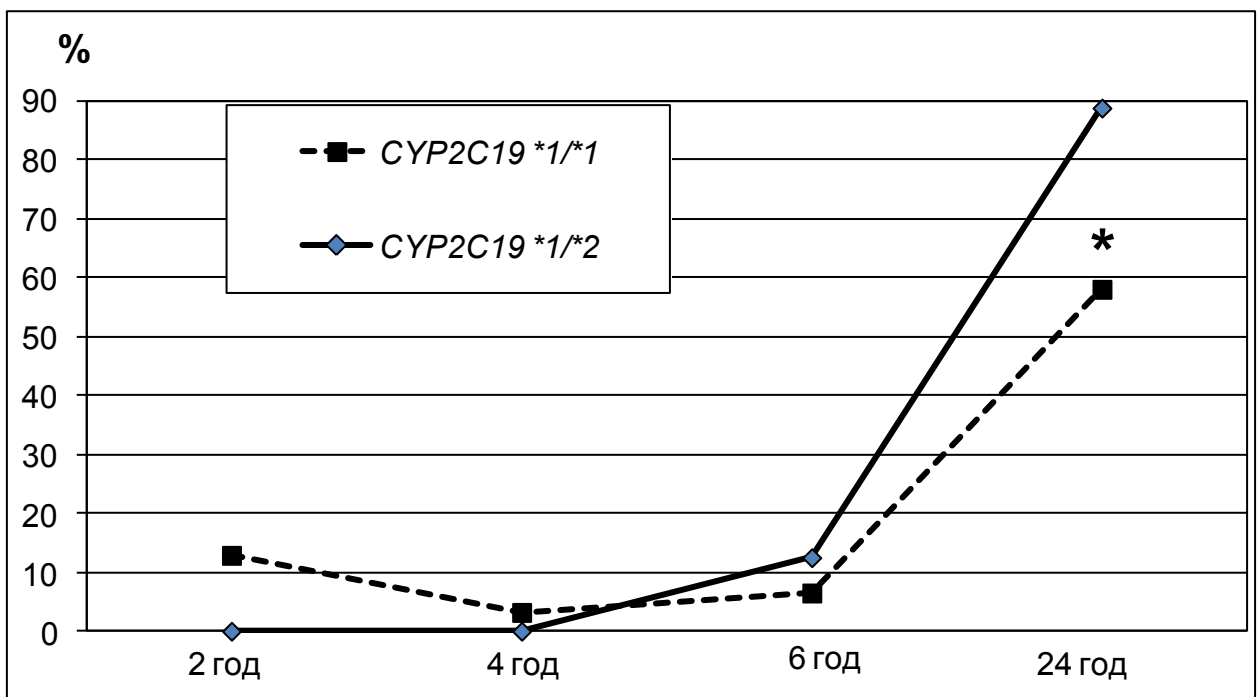
Через 2 год після введення вміст рифампіцину в крові був дещо меншим у носіїв генотипів **1/*2* («помірні метаболізатори»), ніж у осіб **1/*1* («швидкі метаболізатори»), однак різниця була в межах статистичної похибки. Також через 4, 6 і 24 год концентрація рифампіцину була більшою у диких гомозигот, хоча різниця між групами не було вірогідною (табл. 4.1). В обох групах середній вміст рифампіцину в крові наприкінці доби після прийому препарату був нижче терапевтичної концентрації (>8 мкг/мл).

Таблиця 4.1

Концентрація рифампіцину у хворих на туберкульоз легень в залежності від генотипу *CYP2C19* або фенотипу ацетилювання

Генотип	N	Концентрація рифампіцину (мкг/мл) в крові через				
		2 год	4 год	6 год	24 год	в середньому
Загалом	83	12,07±1,49	16,16±1,40	11,38±1,38	7,42±1,29	11,67±1,28
<i>CYP2C19</i>						
<i>*1/*1</i>	60	12,10±1,36	16,73±1,35	11,57±1,37	7,79±1,45	11,99±1,38
<i>*1/*2</i>	23	11,03±1,50	14,31±1,42	9,84±1,41	6,90±0,94	10,89±1,33
Фенотип ацетилювання						
швидкі ацетилятори	28	11,39±1,39	16,29±1,44	9,70±1,29	6,42±1,19	10,79±1,28
повільні ацетилятори	55	12,17±1,53	15,99±1,39	12,08±1,45	7,95±1,30	12,02±1,16

Було обраховано відсоток хворих з різними генотипами *CYP2C19*, у яких концентрація рифампіцину була нижчою від мінімальної терапевтичної концентрації (рис. 4.1). Протягом 2-6 год. до 12,9 % хворих в обох групах мали концентрацію нижчу, від мінімальної рекомендованої. Через добу після введення рифампіцину близько 88,9 % носіїв генотипу *CYP2C19*1/*2* і 58,1 % носіїв генотипу *CYP2C19*1/*1* мали субтерапевтичну концентрацію препарату. Тобто, субтерапевтична концентрація в першій групі зустрічалась на 53,0 % частіше, ніж в другій групі ($\chi^2=4,550$, $P=0,033$).



* - $P < 0,05$ (відносно генотипу *1/*2)

Рис. 4.1. Кількість хворих, що не досягала рекомендованої концентрації рифампіцину в крові хворих на ТБ легень через різні проміжки часу після прийому препарату в залежності від генотипу *CYP2C19*.

Це досить неочікувано, оскільки носії повільного типу метаболізму згідно поліморфізму гена *CYP2C19* мають уповільнений метаболізм антиагреганта клопідогрелу, антиаритмічного засобу терадоліну, інгібітору протонної помпи омепразолу тощо, що сприяє підвищенню їх токсичності (терадоліну) [325]. Одним з таких факторів, що ускладнює оцінку впливу генотипу в даному

дослідженні є відсутність хворих-носіїв мутантних алелів в гомозиготному стані («повільних метаболізаторів»).

Протиріччя отриманих результатів також можливо пов'язані з іншими фармакогенетичними і фармакокінетичними факторами, що асоціюються з генотипом *CYP2C19*. Це може бути: вміст ізоніазиду, оскільки відомо, що ця сполука є інгібітором низки мікросомальних ферментів родини цитохромів, включаючи і *CYP2C19* [326]. Тому швидкість біотрансформації ізоніазиду (головним чином шляхом ацетилювання) може визначати активність цитохромів, які метаболізують в тому числі і рифампіцин. Гальмуючою дією ізоніазиду на ферменти родини цитохромів можна пояснити досягнення максимальної концентрації рифампіцину в крові лише к 4 год, хоча згідно довідкових даних пік має відзначатись через 2-2,5 год [327].

З метою уникнення впливу варіативності біодоступності нами було обраховано період напіввиведення ізоніазиду у хворих на ТБ легень, згідно якого хворі були розділені на хворих з швидкою біотрансформацією ($T_{1/2}=0,62-1,18$ год; $T_{1/2\text{серед.}}=0,86$ год) і повільною біотрансформацією ($T_{1/2}=1,30-6,75$ год; $T_{1/2\text{серед.}}=2,57$ год) ізоніазиду. Відомо, що основним шляхом біотрансформації в організмі людини є ацетилювання з утворенням ацетилізоніазиду [328], тому першу групу ми віднесли до фенотипу «швидкого ацетилювання» (ША), другу – до «повільного ацетилювання» (ПА).

Було встановлено, що через 6 і 24 год після застосування протитуберкульозних препаратів у хворих з повільною біотрансформацією ізоніазиду вміст рифампіцину був вищим майже на 20 %, відносно хворих з фенотипом ША, хоча різниця мала невірогідний характер ($P>0,05$) (табл. 4.2). Також при обчисленні частки хворих, які мали субефективну концентрацію рифампіцину, було встановлено, що на всіх часових відрізках цей показник був дещо вищим серед ША, ніж серед ПА з максимумом на 24 год (78,6 проти 59,3 % відповідно, $P>0,05$) (рис. 4.2).

Таблиця 4.2

Концентрація рифампіцину у хворих на туберкульоз легень в залежності від комбінації генотипу *CYP2C19* і фенотипу ацетилювання (год)

Гено-тип <i>2C19</i>	Фенотип ацети-лювання	N	Концентрація рифампіцину (мкг/мл) в крові через			
			2 год	4 год	6 год	24 год
*1/*1	ША	25	11,36±1,32	16,91±1,20	9,87±1,32	6,59±1,31
	ПА	35	12,36±1,38	16,71±1,53	12,49±1,38	8,64±1,45
*1/*2	ША	3	10,92±1,39	14,66±1,40	9,65±1,15	6,33±1,05
	ПА	20	11,07±1,46	14,26±1,41	10,20±1,16	6,95±1,09

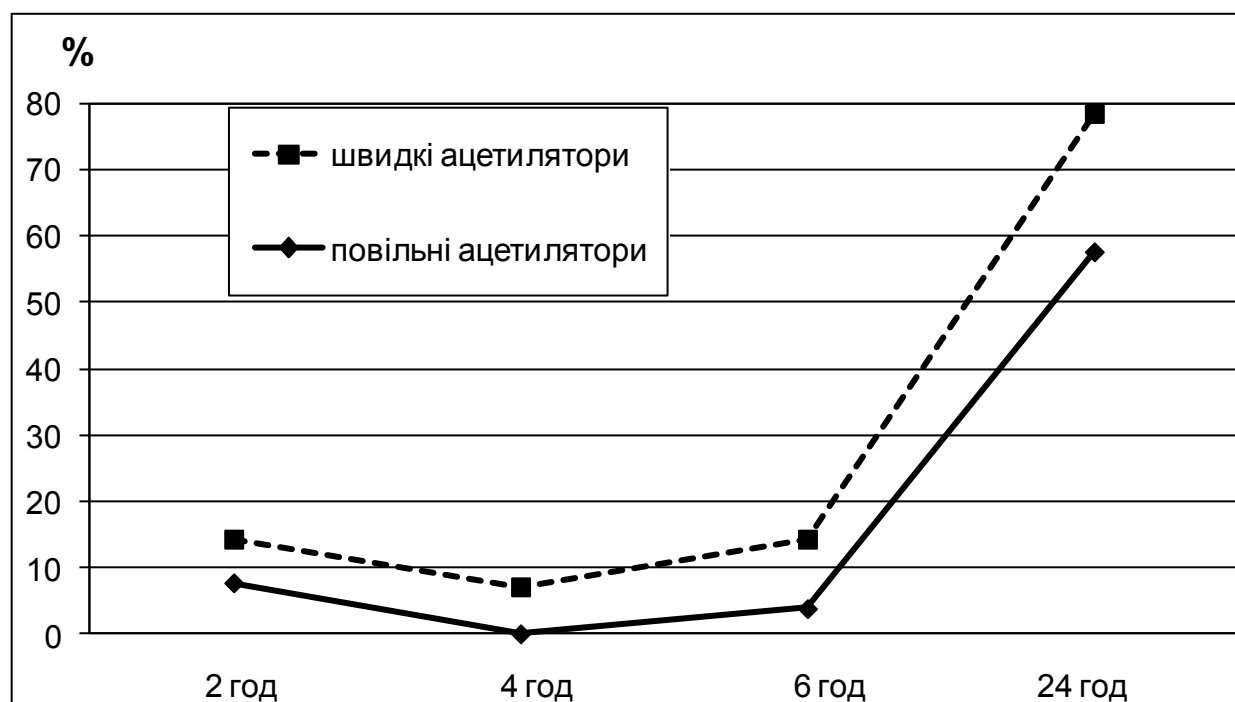


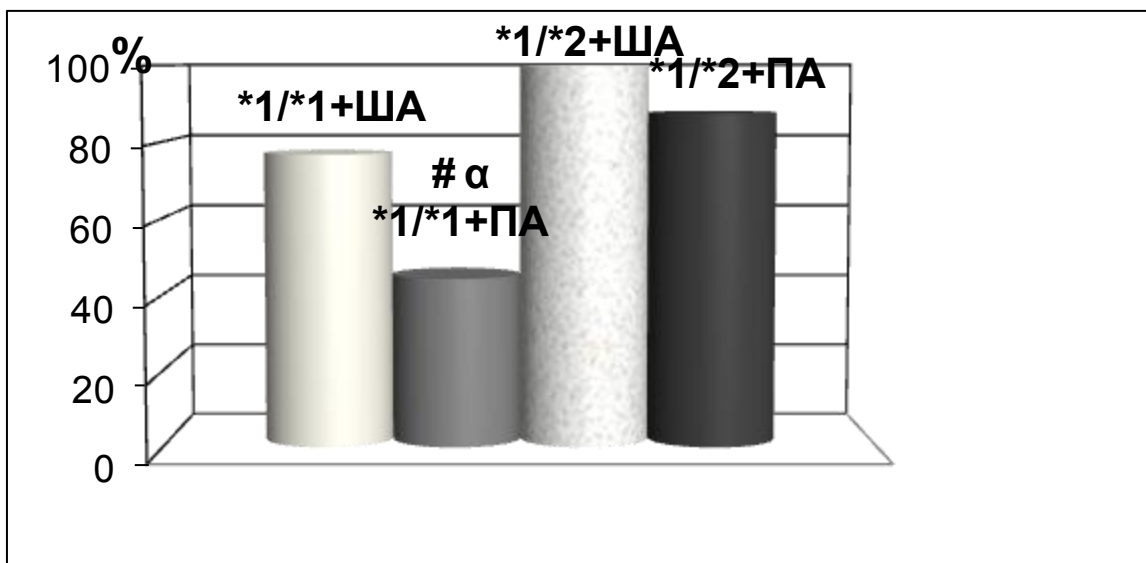
Рис. 4.2. Кількість хворих, що не досягла рекомендованої концентрації рифампіцину в крові хворих на туберкульоз легень через різні проміжки часу після прийому препарату в залежності від фенотипу ацетилювання.

Під час дослідження зв'язку між швидкістю біотрансформації і генотипом *CYP2C19* було встановлено як серед осіб з генотипом *1/*1, так і хворих з генотипом *1/*2 більшість склали «повільні ацетилятори» – 58,3 і 87,0 % відповідно. Тобто, серед помірних метаболізаторів в 1,5 рази частіше

зустрічався повільний тип біотрансформації ізоніазиду ($\chi^2=4,550$, $P<0,05$) (табл. 4.2).

В результаті роздільного обчислення концентрації рифампіцину в залежності від швидкості елімінації ізоніазиду було встановлено відсутність вірогідної різниці між групами $*1/*2$ і $*1/*1$ згідно генотипу *CYP2C19*. Наочним є концентрація рифампіцину через 6 і 24 год після введення протитуберкульозних препаратів, коли максимальний рівень спостерігався у ПА. Відповідно до концентрації рифампіцину хворі розташувались наступним чином: $(*1/*1 + \text{ПА}) > (*1/*2 + \text{ПА}) > (*1/*1 + \text{ША}) > (*1/*2 + \text{ША})$. І навіть при такому розподілі ми бачимо, що рифампіцин дещо швидше метаболізується у гетерозигот *CYP2C19*, ніж у диких гомозигот.

Через 24 год. після прийому рифампіцину найменша кількість випадків субефективної концентрації – 44,4 % - спостерігалась у осіб з фенотипом ПА і генотипом *CYP2C19*1/*1* проти 76,9 % у ША з тим же генотипом *CYP2C19* ($\chi^2=5,274$, $P<0,0$) і 87,5 % у ПА з генотипом *CYP2C19*1/*2* ($\chi^2=6,741$, $P<0,01$) (рис. 4.3). Всі хворі з генотипом *CYP2C19*1/*2* і фенотипом ША відзначались субефективною концентрацією рифампіцину, але зважаючи на малу кількість носіїв варіанту (лише 2 хворих) різниця мала недостовірний характер.

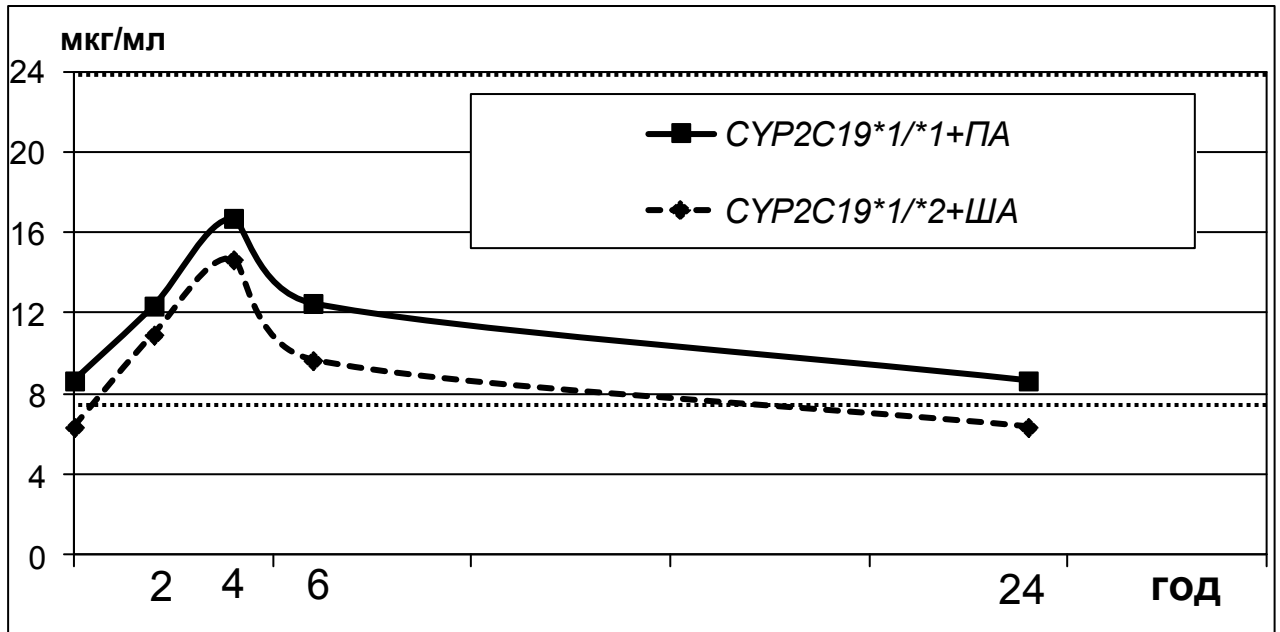


- $P<0,05$ (відносно генотипу $*1/*1+ША$)

α - $P<0,05$ (відносно генотипу $*1/*2+ПА$)

Рис. 4.3. Кількість хворих на ТБ легень, що не досягла рекомендованої концентрації рифампіцину в крові через 24 год. після прийому препарату в залежності від генотипу *CYP2C19* та фенотипу ацетилювання.

На рис. 4.4 представлено графік концентрації рифампіцину між двома групами хворих, які відрізнялись найбільшою різницею у кінетиці рифампіцину – ($*1/*1 + \text{ПА}$) і ($*1/*2 + \text{ША}$). Якщо в першій групі концентрація рифампіцину в середньому зберігалася протягом всієї доби в межах терапевтичної концентрації, то в другій групі ми бачимо зниження середнього рівня рифампіцину нижче рекомендованої терапевтичної концентрації через 15 год.



пунктиром позначено рівень терапевтичної концентрації рифампіцину (8-24 мкг/мл).

Рис. 4.4. Концентрація рифампіцину в крові хворих на ТБ легень через різні проміжки часу після прийому препарату, залежно від генотипу $CYP2C19$ і швидкості біотрансформації ізоніазиду.

Отже, хворі на ТБ легень, які є носіями генотипу $CYP2C19*1/*2$ в 1,5 рази частіше мали субефективну концентрацію рифампіцину через 24 год після прийому препарату, ніж носії генотипу $CYP2C19*1/*1$. Серед хворих на туберкульоз з генотипом $CYP2C19*1/*1$ на 50 % частіше зустрічався швидкий тип біотрансформації ізоніазиду, ніж у індивідів з генотипом $CYP2C19*1/*2$. У носіїв генотипу $CYP2C19*1/*1$ швидкий тип біотрансформації ізоніазиду асоціювався з більшою частотою розвитку субефективної концентрації рифампіцину, ніж повільний тип біотрансформації. У подальших дослідженнях ми плануємо дослідити вплив концентрації рифампіцину на ефективність

лікування шляхом вивчення медичних карт пацієнтів і співставленням їх з результатами фармакокінетичних і фармакогенетичних досліджень.

Результати вимірювання концентрації рифампіцину і ізоніазиду у хворих на туберкульоз легень з різним генотипом цитохрому *CYP2C9* виявили наступні дані.

Через 2 год після введення вміст рифампіцину в крові майже не відрізнявся серед носіїв різних генотипів *CYP2C9* і складав близько 12 мкг/мл у (табл. 4.3).

Таблиця 4.3

Концентрація рифампіцину у хворих на туберкульоз легень в залежності від генотипу *CYP2C9* і фенотипу ацетилювання

Генотип	N	Концентрація рифампіцину (мкг/мл) в крові через				
		2 год	4 год	6 год	24 год	в середньому
Загалом	86	12,07±1,49	16,16±1,40	11,38±1,38	7,42±1,29	11,67±1,28
<i>CYP2C9</i>						
*1/*1	58	12,03±1,36	16,03±1,05	11,35±1,22	7,60±1,20	11,75±1,23
*1/*2; *1/*3	22	12,12±1,40	15,43±1,42	10,98±1,26	6,47±1,37	11,15±1,33
*2/*3; *3/*3	6	12,17±1,52	20,60±1,21*#	12,50±1,35	9,65±0,93	13,73±1,23

Примітки:

1. * - $P < 0,05$ (відносно генотипу *1/*1);
2. # - $P < 0,05$ (відносно генотипів *1/*2 і *1/*3).

Відсутність різниці у концентрації рифампіцину між вказаними групами свідчить про майже однакову біодоступність і первинний розподіл препарату в організмі хворих різних груп. Через 4 год концентрація рифампіцину була найвищою у «повільних метаболізаторів» (генотип *2/*3, *3/*3) і складала 20,60

мкг/мл, що на 25,1 % ($P < 0,05$, $CI = -10,07 \dots -0,27$) і 22,2 % ($P < 0,05$; $CI = -9,08 \dots -0,06$) більше, ніж у «помірних» (генотип $*1/*2$, $*1/*3$) і «швидких метаболізаторів» ($*1/*1$) відповідно. Через 6 і 24 год. найбільша концентрація рифампіцину відзначалась у осіб з генотипом $*2/*3$, $*3/*3$, найменша концентрація – при генотипі $*1/*2$, $*1/*3$, хоча різниця між групами не було вірогідною (табл. 4.3). Лише хворих з генотипами $*2/*3$, $*3/*3$ середній вміст рифампіцину через добу після прийому препарату був в межах терапевтичної концентрації (>8 мкг/мл).

Було обраховано відсоток хворих з різними генотипами *CYP2C9*, у яких концентрація рифампіцину була нижче від мінімальної терапевтичної концентрації (рис. 4.5). Протягом 2-6 год. до 14 % хворих мали концентрацію нижчу, від мінімальної рекомендованої серед «швидких» і «помірних метаболізаторів». Наприкінці доби близько 71,4 % «помірних» і 65,3% «швидких метаболізаторів» мали субефективну концентрацію рифампіцину. І лише третина хворих, які належали до повільних метаболізаторів, мали субефективну концентрацію рифампіцину. Різниця була невірогідною у зв'язку з малою кількістю хворих, які належали до «повільних метаболізаторів» - лише 6 хворих.

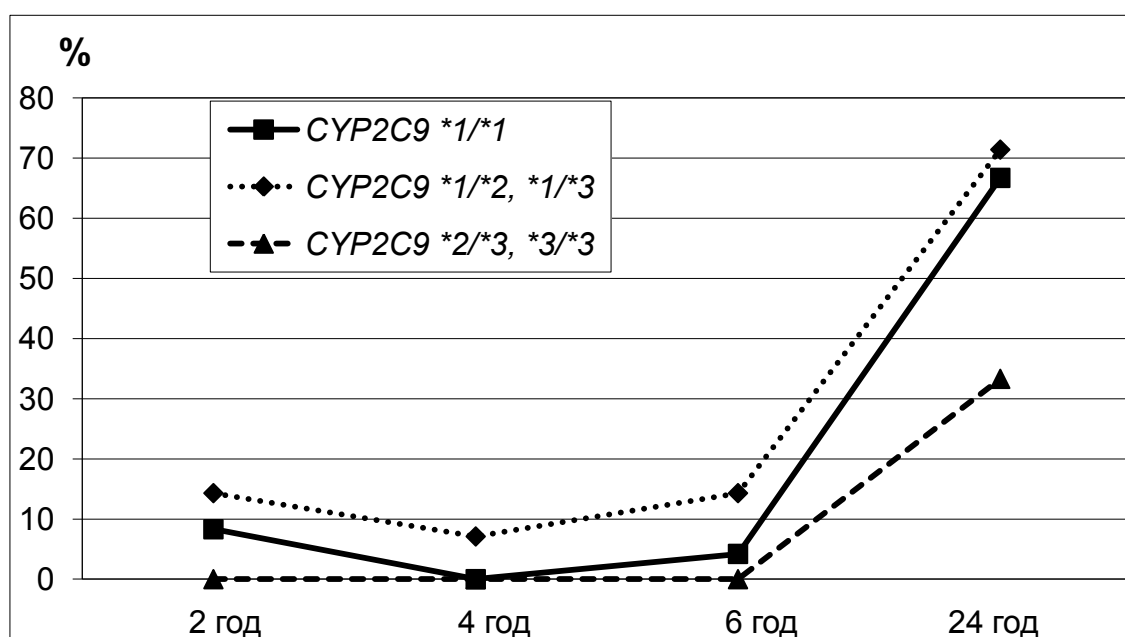


Рис. 4.5. Кількість хворих, що не досягла рекомендованої концентрації рифампіцину в крові хворих на ТБ легень через різні проміжки часу після прийому препарату в залежності від генотипу *CYP2C9*.

Таким чином, загалом очікувано була висока концентрація рифампіцину у «повільних метаболізаторів», що може бути пов'язано з повільною біотрансформацією рифампіцину. Водночас дещо несподіваною була нижча концентрація у «помірних метаболізаторів», ніж у швидких метаболізаторів, оскільки саме в другій групі ми очікували найбільш інтенсивну біотрансформацію і найнижчу концентрацію рифампіцину.

Можливо це пов'язано з іншими фармакогенетичними і фармакокінетичними факторами, що асоціюються з генотипом *CYP2C9*. Одним з таких факторів може бути вміст ізоніазиду, оскільки відомо, що ця сполука є інгібітором мікросомальних ферментів родини цитохромів, включаючи і *CYP2C9* [50]. Тому швидкість біотрансформації ізоніазиду (головним чином шляхом ацетилювання) може визначати активність цитохромів, які метаболізують в тому числі і рифампіцин.

З метою уникнення впливу варіативності біодоступності нами було обраховано період напіввиведення ізоніазиду у хворих на ТБ легень, згідно якого хворі, як і попередньо були розділені на осіб з фенотипом швидкого ацетилювання (ША) і пацієнтів з фенотипом повільного ацетилювання (ПА) (табл. 4.3; 4.4).

Під час дослідження зв'язку між швидкістю біотрансформації і генотипом *CYP2C9* було встановлено, що серед диких гомозигот ($*1/*1$) більшість - 75,9 % - складала індивіди з фенотипом ПА, водночас серед гетерозигот ($*1/*2$; $*1/*3$) більшість – 68,2 % - складала ША (табл. 4.4). Тобто, серед гетерозигот швидкий тип біотрансформації ізоніазиду зустрічався в 2,8 разу частіше, ніж серед носіїв генотипу *CYP2C9* $*1/*1$ ($P < 0,001$; $\chi^2 = 11,648$). Серед повільних гомозигот 100 % складала носії повільного типу біотрансформації ізоніазиду. Висока концентрація ізоніазиду може уповільнювати метаболізм рифампіцину у зв'язку з пригніченням ферментів родини цитохромів, що можливо є причиною дещо більшої концентрації рифампіцину у диких гомозигот ($*1/*1$) і мутованих гомозигот ($*2/*3$; $*3/*3$), ніж у гетерозигот ($*1/*2$; $*1/*3$). Також гальмуючою дією ізоніазиду на ферменти родини цитохромів можна пояснити досягнення

максимальної концентрації рифампіцину в крові лише к 4 год, хоча згідно літературних даних пік має відзначатись через 2-2,5 год [327].

Таблиця 4.4

Концентрація рифампіцину у хворих на туберкульоз легень в залежності від комбінації генотипу *CYP2C9* і фенотипу ацетилювання

Генотип <i>CYP2C9</i>	Фено- тип	N	Концентрація рифампіцину в крові (мкг/мл) через			
			2 год	4 год	6 год	24 год
*1/*1	ША	14	11,89±1,27	17,07±1,20	9,94±1,22	6,92±1,20
	ПА	44	12,93±2,08	15,20±1,01	11,73±1,24	7,80±1,21
*1/*2; *1/*3	ША	15	11,51±1,41	14,06±1,40	9,75±1,15	6,14±1,15
	ПА	7	13,22±1,36	16,02±1,41	12,68±1,16	8,13±3,48
*2/*3; *3/*3	ПА	6	12,17±1,52	20,60±1,21*#α	12,50±1,45	9,65±0,93

Примітки:

1. * - $P < 0,050$ (відносно генотипу *1/*2; *1/*3+ ША);
2. # - $P < 0,050$ (відносно генотипу *1/*1+ПА);
3. α - $P < 0,050$ (відносно генотипу *1/*2; *1/*3+ПА).

В результаті роздільного обчислення концентрації рифампіцину в залежності від швидкості елімінації ізоніазиду було встановлено, що єдиною вірогідною відмінністю була висока концентрація рифампіцину через 4 год. у «повільних метаболізаторів» (табл. 4.4). Саме у цей часовий відрізок концентрація рифампіцину у носіїв генотипів *2/*3; *3/*3 була вищою на 35,5 %, ніж в групі хворих з генотипом *1/*1 і повільним ацетилюванням ізоніазиду ($P < 0,05$; $CI = 0,26..10,54$); була вищою на 46,5 %, ніж в групі хворих з генотипами *1/*2; *1/*3 і швидким ацетилюванням ізоніазиду ($P < 0,05$; $CI = 1,25..11,83$); і була вищою на 28,6 %, ніж в групі хворих з генотипами *1/*2; *1/*3 і повільним ацетилюванням ізоніазиду ($P < 0,05$; $CI = 0,16..9,00$). Наочним є концентрація рифампіцину через 6 і 24 год після введення протитуберкульозних

препаратів, коли максимальний рівень спостерігався у ПА і частково у носіїв мутантних алель *2 і *3. Відповідно до вмісту рифампіцину хворі розташувались наступним чином: (*2/*3; *3/*3+ПА) > (*1/*2; *1/*3+ПА) > (*1/*1+ПА) > (*1/*1+ША) > (*1/*2; *1/*3+ША). І навіть при такому розподілі ми бачимо, що рифампіцин дещо швидше метаболізується у гетерозигот *CYP2C9*, ніж у диких гомозигот.

Через 24 год. після прийому рифампіцину найбільша кількість випадків субефективної концентрації спостерігалась у ША з генотипом немутованих гомозигот і гетерозигот - 80,0 і 77,8 % відповідно (рис. 4.6). Трохи рідше спостерігались випадки субефективної концентрації рифампіцину у носіїв вище вказаних генотипів *CYP2C9*, але з повільною біотрансформацією ізоніазиду – 61,1 і 60,0 % відповідно. Лише третина хворих, які були носіями мутованих алелей *2 і *3 і відрізнялись високою концентрацією ізоніазиду, мала субефективну концентрацію рифампіцину.

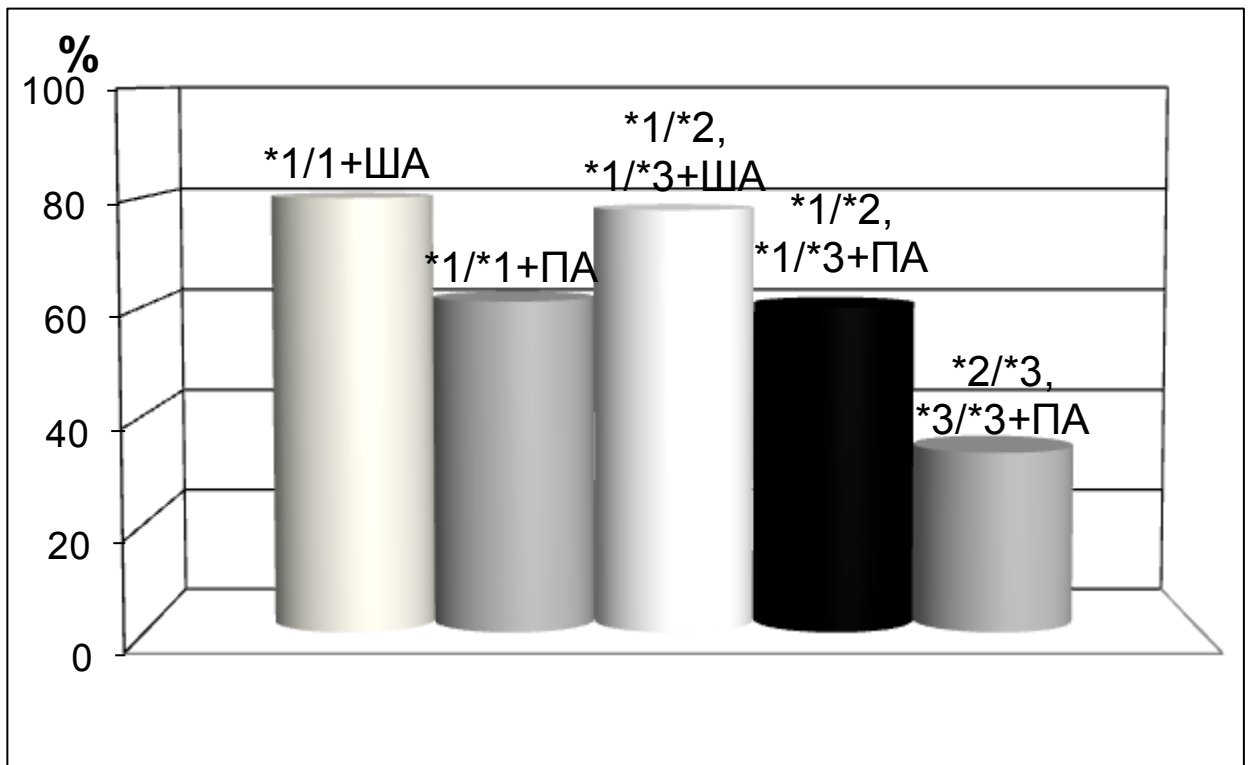
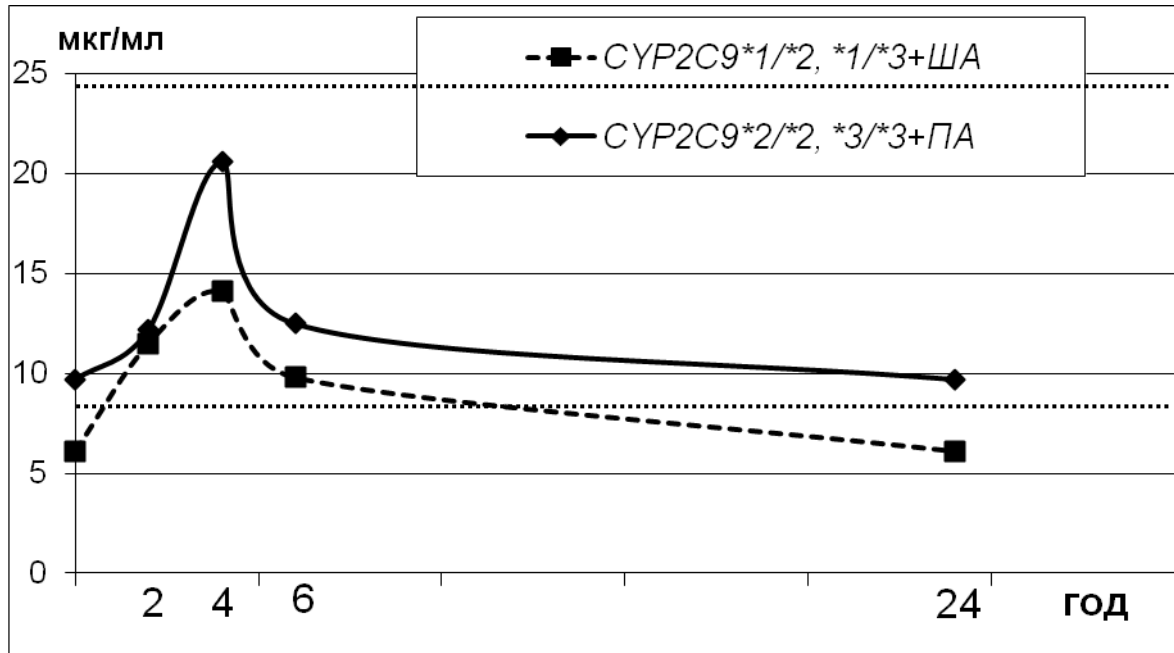


Рис. 4.6. Кількість хворих на туберкульоз легень, що не досягала рекомендованої концентрації рифампіцину в крові через 24 год після прийому препарату в залежності від генотипу *CYP2C9* та фенотипу ацетилювання.

На рис. 4.7 представлено графік концентрації рифампіцину між двома групами хворих, які відрізнялись найбільшою різницею у кінетиці рифампіцину – ($*2/*3$; $*3/*3+ПА$) і ($*1/*2$; $*1/*3+ША$). Якщо в другій групі концентрація рифампіцину в середньому зберігається протягом всієї доби, то в першій групі ми бачимо зниження середнього рівня рифампіцину нижче рекомендованої терапевтичної концентрації вже через 15 год.



пунктиром позначено рівень терапевтичної концентрації рифампіцину – 8-24 мкг/мл)

Рис. 4.7. Концентрація рифампіцину в крові хворих на ТБ легень через різні проміжки часу після прийому препарату.

Таким чином, концентрація рифампіцину через 4 год після прийому препарату згідно генотипу *CYP2C9* була найвищою у «повільних метаболізаторів» ($*2/*3$; $*3/*3$) і складала 20,60 мкг/мл, що на 25,1 і 22,2 % більше, ніж у «помірних» ($*1/*2$; $*1/*3$) і «швидких метаболізаторів» ($*1/*1$) відповідно.

Швидкий тип біотрансформації ізоніазиду зустрічався майже втричі частіше серед «помірних метаболізаторів» ($CYP2C9*1/*2$; $*1/*3$), ніж серед носіїв генотипу «швидкого метаболізму» ($CYP2C9*1/*1$). Швидкий тип біотрансформації ізоніазиду асоціювався з низькою концентрацією

рифампіцину. У подальших дослідженнях планується дослідити зв'язок між концентрацією рифампіцину і ефективністю протитуберкульозної хіміотерапії.

Зважаючи на вплив біотрансформації ізоніазиду на концентрацію рифампіцину у хворих з різним генотипом *CYP2C9* було проведено вивчення вмісту ізоніазиду у хворих на ТБ легень з урахуванням поліморфізму *CYP2C9*.

Через 2 год після прийому ізоніазиду різниці у вмісті ізоніазиду між групами практично не відзначалось, що свідчить про приблизно однакову біодоступність препарату, не зважаючи на поліморфізм *CYP2C9* (табл. 4.5).

Таблиця 4.5

Концентрація ізоніазиду у хворих на туберкульоз в залежності від генотипу *CYP2C9* (год)

Генотип <i>CYP2C9</i>	N	Концентрація ізоніазиду в крові (мкг/мл) через			
		2 год	4 год	6 год	24 год
*1/*1	58	4,22±0,13	2,43±0,12	1,16±0,09	0,06±0,01
*1/*2; *1/*3	22	4,24±0,15	2,25±0,19	0,80±0,09	0,06±0,02
*2/*3; *3/*3	6	4,18±0,18	2,50±0,26	1,35±0,14*	0,08±0,03

Примітка. * $P < 0,05$ (відносно хворих з генотипом *1/*2; *1/*3).

Вже через 4 год найбільша концентрація ізоніазиду був у носіїв генотипу *2/*3; *3/*3, найменша – генотипу *1/*2; *1/*3 ($P > 0,05$). Через 6 год після введення ізоніазиду найбільша концентрація спостерігалась представників генотипу *2/*3; *3/*3 і сягала 1,35 мкг/мл. При цьому рівень ізоніазиду перевищував аналогічний показник носіїв генотипу *1/*2; *1/*3 на 68,8 % ($P < 0,05$; CI=-0,96...-0,14). У носіїв генотипу *1/*1 вміст ізоніазиду займав проміжне місце між двома іншими групами.

При обчисленні кількості хворих на туберкульоз, які мали субтерапевтичну концентрації ізоніазиду, було встановлено, що через 2 год у носіїв генотипів *1/*2; *1/*3 була найбільша кількість таких хворих – 27,3 %, дещо менше таких хворих було у носіїв генотипу *1/*1 – 15,5 % (рис. 4.8). Через

4 год субтерапевтична концентрація ізоніазиду спостерігалась у 31,8 % носіїв генотипів $*1/*2$; $*1/*3$ і у 22,4 % носіїв генотипу $*1/*1$; через 6 год. – 36,4 і 22,4 % відповідно.

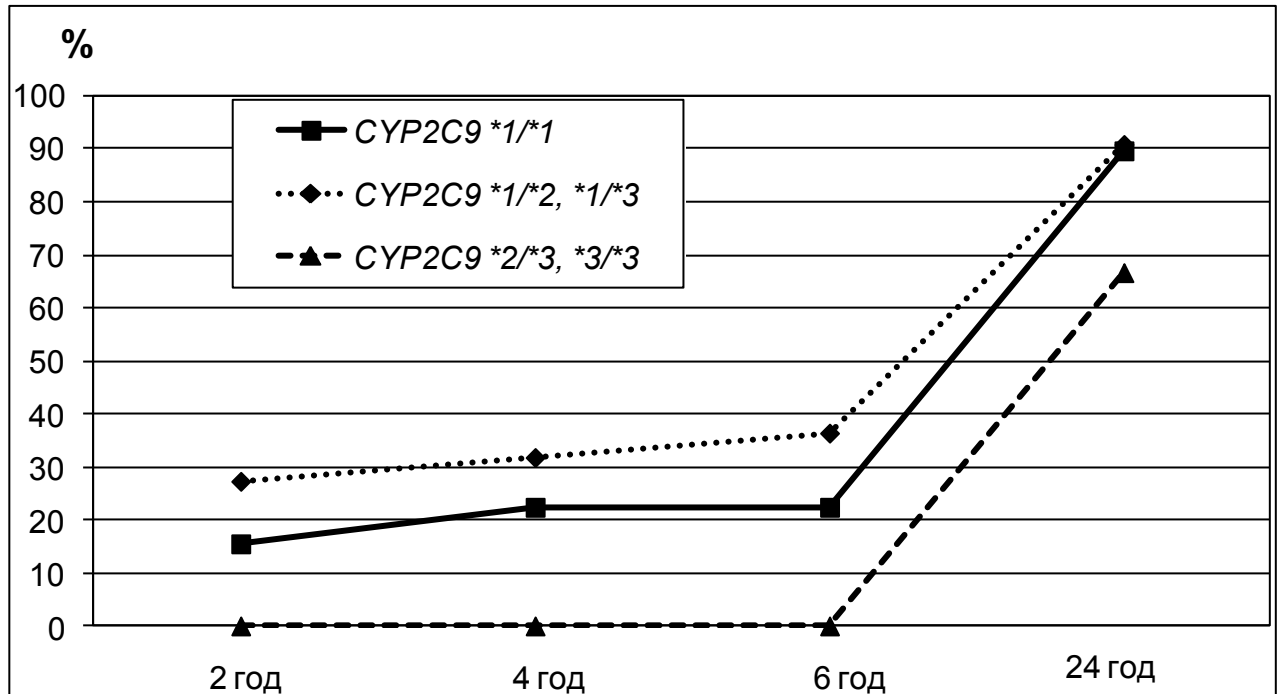


Рис. 4.8. Кількість хворих на ТБ легень, що не досягла рекомендованої концентрації ізоніазиду в крові, через різні проміжки часу після прийому препарату в залежності від генотипу *CYP2C9*.

У всіх носіїв генотипів $*2/*3$; $*3/*3$ протягом перших 6 год. концентрація ізоніазиду залишалась вище мінімальної терапевтичної концентрації. Через добу після застосування ізоніазиду субтерапевтична концентрація була у 90,9 % носіїв генотипів $*1/*2$; $*1/*3$, у 89,7 % носіїв генотипу $*1/*1$ і у третини хворих з генотипами $*2/*3$; $*3/*3$.

Також були обраховані фармакокінетичні показники ізоніазиду у носіїв різних генотипів *CYP2C9* (табл. 4.6). Так у носіїв генотипів $*2/*3$; $*3/*3$ рівень AUC був вищим, ніж у носіїв генотипу $*1/*1$ і $*1/*2$; $*1/*3$ на 65,0 % ($P < 0,001$; $CI = -24,78 \dots -7,02$) і 72,0 % ($P < 0,01$; $CI = -27,39 \dots -6,41$) відповідно. Також в групі хворих з генотипами $*2/*3$; $*3/*3$ був найбільший показник MRT, що перевищував аналогічний показник хворих з генотипом $*1/*1$ на 34,9 %

($P < 0,001$; $CI = -2,36 \dots -0,78$) і хворих з генотипами $*1/*2$; $*1/*3$ - на 36,7 % ($P < 0,01$; $CI = -2,74 \dots -0,52$).

Таблиця 4.6

Фармакокінетичні показники (AUC, MRT) ізоніазиду у хворих на ТБ легень

Генотип <i>CYP2C9</i>	N	AUC, мкг*год/мл	MRT, год
$*1/*1$	58	24,48±1,33	4,50±0,07
$*1/*2$; $*1/*3$	22	23,48±1,88	4,44±0,15
$*2/*3$; $*3/*3$	6	40,38±7,12*#	6,07±1,00*#

Примітки:

1. * - $P < 0,05$ (відносно генотипу $*1/*1$);
2. # - $P < 0,05$ (відносно генотипу $*1/*2$; $*1/*3$).

Отже, отримані дані підтвердили раніше наведені результати. Зокрема, встановлено, що у хворих з генотипами $*2/*3$; $*3/*3$ спостерігалась найбільша концентрація ізоніазиду, найменша кількість хворих з субефективною концентрацією ізоніазиду та найдовше утримання його в організмі хворих. Водночас у носіїв генотипів $*1/*2$; $*1/*3$ навпаки спостерігали найнижчу концентрацію ізоніазиду, найбільшу кількість хворих з субефективною концентрацією ізоніазиду та найкоротшим утриманням препарату в організмі хворих.

4.2. Особливості концентрації рифампіцину і ізоніазиду у хворих на туберкульоз з різними генотипами *CYP2E1*, *NAT2*

Протягом доби після введення ізоніазиду у носіїв різних генотипів *CYP2E1* вірогідних відмінностей у концентрації ізоніазиду в крові хворих не спостерігалось (табл. 4.7). Хоча у носіїв генотипу $*DD$ вміст ізоніазиду був дещо меншим, ніж у носіїв генотипів $*CD$, $*CC$.

У хворих на туберкульоз легень з генотипом **DD* вміст рифампіцину в крові протягом доби після введення також був дещо меншим, ніж у носіїв генотипів **CD*, **CC*. Наприклад, у осіб з генотипами **CD*, **CC* концентрація через 6 год після введення і в середньому протягом 24 год була на 17,6 і 14,9 % відповідно більше, ніж у хворих з генотипом **DD* ($P < 0,05$; $CI = -3,37 \dots -0,43$ і $P < 0,05$; $CI = -2,90 \dots -0,02$ відповідно).

Таблиця 4.7

Концентрація ізоніазиду і рифампіцину у хворих на туберкульоз легень в залежності від генотипу *CYP2E1*

Генотип <i>CYP2E1</i>	N	Концентрація в крові (мкг/мл) через			
		2 год	4 год	6 год	24 год
Вміст ізоніазиду					
<i>*DD</i>	77	4,16±0,15	2,48±0,14	1,23±0,13	0,17±0,05
<i>*CD</i> ; <i>*CC</i>	9	4,27±0,25	2,68±0,29	1,29±0,30	0,02±0,01
Вміст рифампіцину					
<i>*DD</i>	77	11,66±0,28	15,67±0,41	10,80±0,22	7,23±0,18
<i>*CD</i> ; <i>*CC</i>	9	12,70±0,94	16,87±1,08	12,70±1,14*	7,90±0,78

Примітка. * $P < 0,05$ (відносно групи з генотипом **DD*).

При дослідженні поширеності субтерапевтичної концентрації ізоніазиду було встановлено, що у носіїв генотипу *CYP2E1*DD* через 2, 4 і 6 год близько 20-30 % мали субефективну концентрацію, а через добу вже понад 90 % належали до цієї групи (рис. 4.9). У носіїв генотипів *CYP2E1*CC*, **CD* випадки субтерапевтичної концентрації ізоніазиду відзначались лише через 6 і 24 год (максимальний рівень – 77,8 %).

У носіїв генотипу *CYP2E1*DD* через 24 год після введення рифампіцину близько 71 % хворих мали субтерапевтичну концентрацію; у хворих з

генотипами *CC, *CD лише третина мали підпороговий вміст рифампіцину (рис. 4.10).

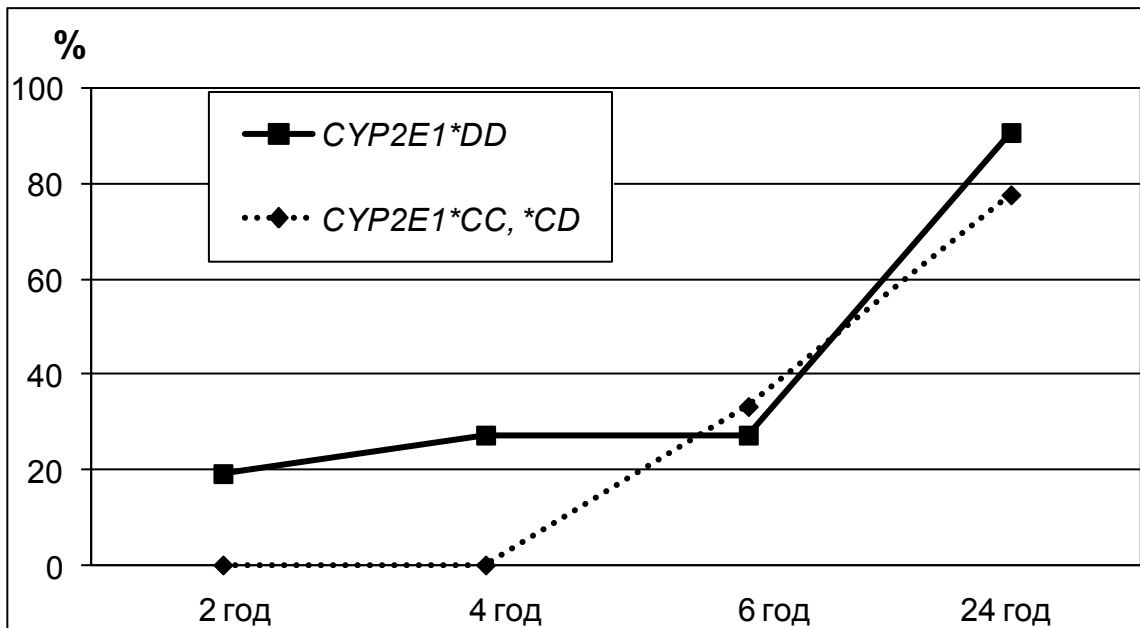
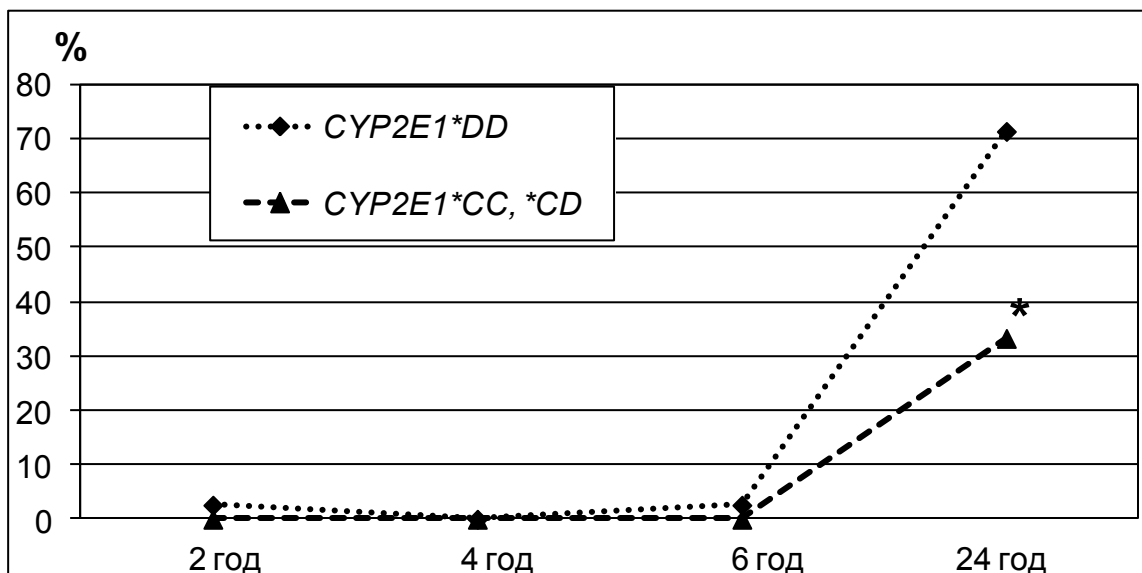


Рис. 4.9. Кількість хворих на туберкульоз легень, які не досягла рекомендованої концентрації ізоніазиду в крові, через різні проміжки часу після прийому препарату в залежності від генотипу *CYP2E1*.



* - $P < 0,05$ (відносно групи з генотипом *DD)

Рис. 4.10. Кількість хворих, що не досягла рекомендованої концентрації рифампіцину в крові хворих на туберкульоз через різні проміжки часу після прийому препарату в залежності від генотипу *CYP2E1*.

Отже, у носіїв варіантних алелей в 2,1 разу частіше спостерігались випадки субефективної концентрації рифампіцину, ніж у хворих з генотипом **DD* ($P < 0,05$; $\chi^2 = 5,21$ при критичному значенні $\chi^2 = 3,84$). Встановлено, що у носіїв генотипів **CC*, **CD* рівень AUC був на 11,5 % вищим, ніж в групі **DD* ($P < 0,05$; CI = -51,79...-2,71) (табл. 4.8).

Таблиця 4.8

Фармакокінетичні показники (AUC, MRT) рифампіцину у хворих на туберкульоз легень

Генотип <i>CYP2E1</i>	N	AUC, мкг*год/мл	T _{1/2} (4-6 год)
<i>*DD</i>	77	236,43±3,58	5,99±0,52
<i>*CD; *CC</i>	9	263,68±20,45*	8,30±1,08

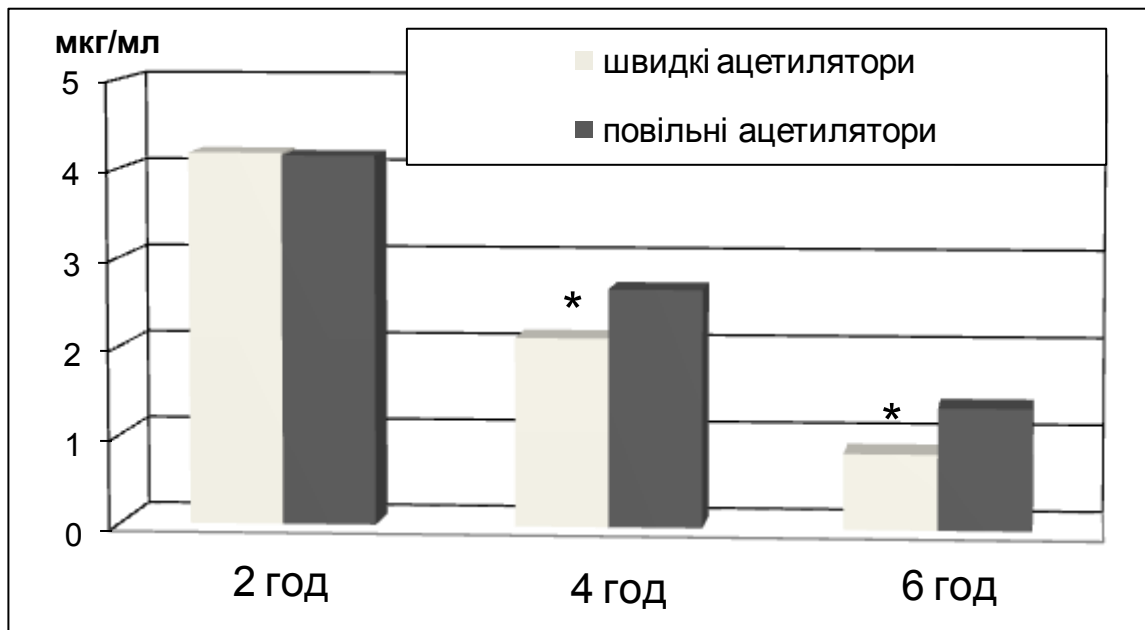
Примітка. * - $P < 0,05$ (відносно групи з генотипом **DD*).

Наведені дані свідчать, що у носіїв варіантних алелей - **CC*, **CD*, що пов'язані з уповільненням метаболізму ксенобіотиків, відзначався більш високий вміст рифампіцину і тенденція до більшого вмісту ізоніазиду, ніж у носіїв генотипу **DD*.

Відносно концентрації ізоніазиду і рифампіцину у хворих на туберкульоз легень з різним генотипом *NAT2* було встановлено наступне.

Через 2 год після введення концентрація ізоніазиду в крові складала 4,18 мкг/мл у осіб з генотипом «швидких ацетиляторів» (ША) і 4,15 мкг/мл - «повільних ацетиляторів» (ПА) (рис. 4.11). Відсутність різниці у концентрації ізоніазиду між вказаними групами свідчить про майже однакову біодоступність і первинний розподіл препарату в організмі хворих різних груп. Через 4 год концентрація ізоніазиду у ПА складала 2,67 мкг/мл, що на 20,6 % більше, ніж у ША ($P < 0,05$; CI = -1,09...-0,01). При вимірюванні вмісту ізоніазиду через 6 год. було встановлено, що концентрація у «повільних ацетиляторів» була на 38,0 % вищою, ніж у «швидких ацетиляторів» (1,37 проти 0,85 мкг/мл; $P < 0,05$; CI = -

1,03..-0,01). Застосований метод спектрофотометрії не зміг виміряти вміст ізоніазиду через добу після прийому препарату у 71,5 %.



* - $P < 0.05$ (відносно групи повільних ацетиляторів)

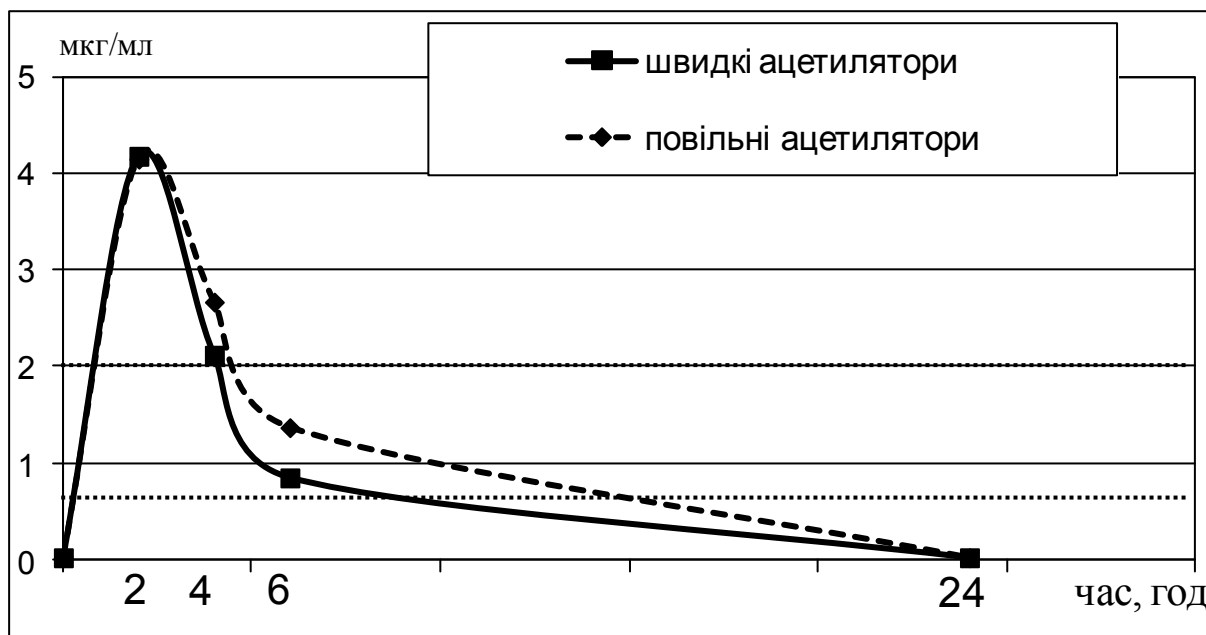
Рис. 4.11. Концентрація ізоніазиду в крові хворих на туберкульоз легень через різні проміжки часу після прийому препарату.

Поріг для вимірювання концентрації ізоніазиду складав 0,045 мкг/мл. Причому серед ПА таких хворих було 31 (58,5 %), а серед ША – 30 (90,9 %). Тобто, підпороговий для вимірювання рівень ізоніазиду через добу в 1,6 разу частіше відзначався у швидких ацетиляторів, ніж серед повільних ацетиляторів ($\chi^2=4,054$, $P < 0,01$). Лише у 4 «повільних ацетиляторів» (7,5 %) і 1 «швидкого ацетилятора» (3 %) концентрація ізоніазиду в крові наприкінці доби залишалась в межах терапевтичної концентрації 0,5-2 мкг/мл. Згідно літературних даних важливим під час застосування ізоніазиду є досягнення ефективних концентрацій ізоніазиду через 2 і 4 год, що буде проаналізовано нижче.

Відповідно до літературних джерел, терапевтична концентрація ізоніазиду в крові складає 0,5-2,0 мкг/мл [127]. На рис. 4.12 представлено коливання вмісту ізоніазиду в крові хворих на туберкульоз легень протягом 24 год. Відповідно до отриманого графіку, у ША концентрація ізоніазиду перебувала в

рекомендованому коридорі в інтервалі 4-13 год після введення препарату, у ПА – протягом 5-18 год.

У літературних джерелах вказується, що для досягнення достатнього терапевтичного ефекту через 2 год після введення ізоніазиду концентрація цього препарату в крові має складати 3-5 мкг/мл, а через 3-4 год – бути не меншою від 1,5 мкг/мл [119,329].

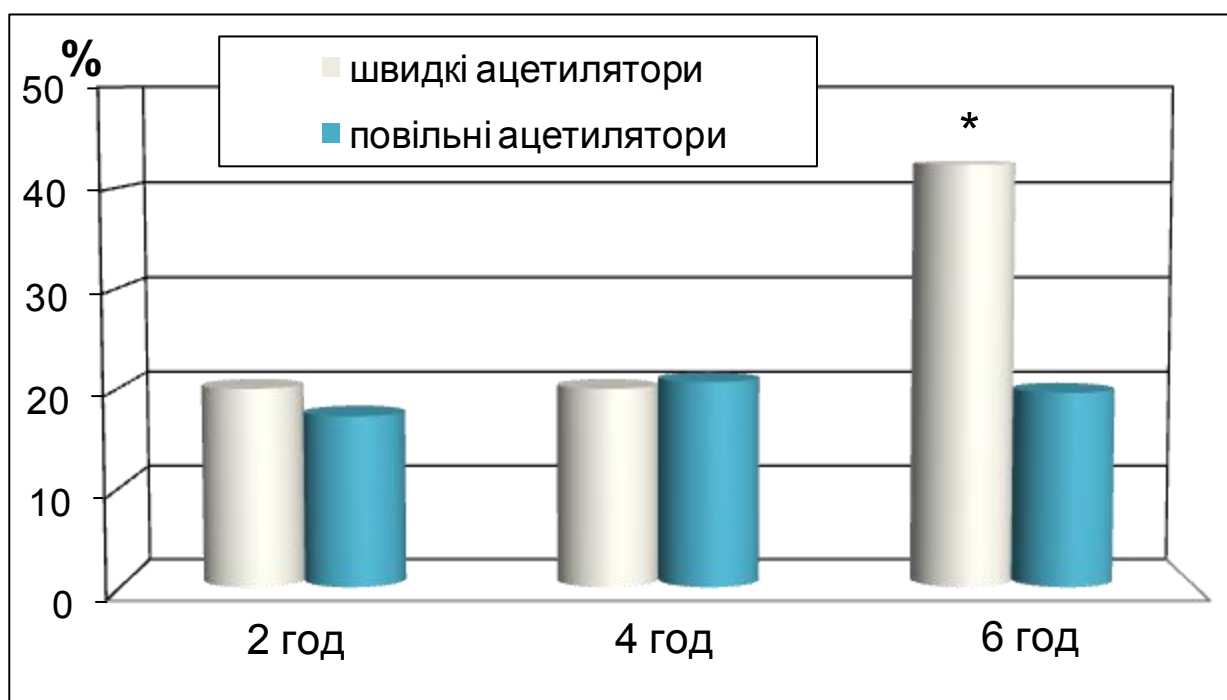


пунктиром визначено рівень терапевтичної концентрації ізоніазиду (0,5-2 мкг/мл).

Рис. 4.12. Концентрація ізоніазиду в крові хворих на туберкульоз легень через різні проміжки часу після прийому препарату.

Згідно отриманих результатів, через 2 год після введення 20,0 % «швидких ацетиляторів» і 17,2 % «повільних ацетиляторів» не досягли мінімальної ефективної концентрації 3 мкг/мл (рис. 4.13). Через 4 год після застосування ізоніазиду 20,0 % ША і 20,7 % ПА не досягли мінімальної ефективної концентрації 1,5 мкг/мл. Нарешті, через 6 год після введення ізоніазиду його вміст впав нижче рекомендованої терапевтичної концентрації 0,5 мкг/мл у 42,4 % «швидких ацетиляторів» і 19,6% «повільних ацетиляторів» ($\chi^2=4,054$, $P<0,05$). Тобто, серед ША більш, ніж в двічі була більша кількість

хворих, що мали нижчу від терапевтичної концентрацію ізоніазиду через 6 годин, ніж серед ПА.



*- $P < 0.05$ (відносно групи повільних ацетиляторів)

Рис. 4.13. Кількість хворих на туберкульоз легень, що не досягла рекомендованої концентрації ізоніазиду в крові, через різні проміжки часу після прийому препарату.

Використовуючи дані концентрації ізоніазиду в крові були обраховані такі фармакокінетичні показники, як період напіввиведення, AUC («площа під кривою»), MRT («середній час утримання»).

На початковому етапі (2-4 год.) період напіввиведення ($T_{1/2}$) ізоніазиду у ША був у двічі коротшим, ніж у ПА (1,30 проти 2,76 год, $P < 0,05$; CI= -2.86..-0.06) (табл. 4.9).

У наступному часовому відрізку (4-6 год.) $T_{1/2}$ «швидких ацетиляторів» був на третину коротшим, ніж у «повільних ацетиляторів» (2,09 проти 3,21 год, $P < 0,05$; CI= -2,24..-0,00). На етапі кінцевої елімінації ізоніазиду $T_{1/2}$ «швидких ацетиляторів» був меншим на 21,5 %, ніж у «повільних ацетиляторів» (3,72 проти 4,74 год, $P < 0,05$; CI= -2,01..-0,03). Отримані дані співпадають з літературними даними, згідно з якими $T_{1/2}$ у осіб ША становить 0,5-1,6 год, у

осіб з ПА – 2,5 год. [330]. Показник AUC і MRT вірогідно не відрізнявся між двома групами (табл. 4.10).

Таблиця 4.9

Період напіввиведення ($T_{1/2}$) ізоніазиду у хворих на туберкульоз легень (год)

Генотип ацетилювання	N	Відрізок часу після введення ізоніазиду		
		2-4 год	4-6 год	6-24 год
Швидкий (ША)	33	1,30 ± 0,46	2,09 ± 0,42	3,72 ± 0,35
Повільний (ПА)	53	2,76 ± 0,48*	3,21 ± 0,36*	4,74 ± 0,33*
Разом	86	2,34 ± 0,48	2,72 ± 0,43	4,42 ± 0,34

Примітка. * - $P < 0,05$ (відносно групи швидкого генотипу ацетилювання).

Таблиця 4.10

Фармакокінетичні показники (AUC, MRT) ізоніазиду у хворих на туберкульоз легень

Генотип ацетилювання	N	AUC, мкг*год/мл	MRT, год
Швидкий	33	21,57 ± 5,19	4,16 ± 0,28
Повільний	53	28,57 ± 5,09	4,71 ± 0,24
Разом	86	24,43 ± 5,12	4,51 ± 0,28

Водночас спостерігалась тенденція до зменшення обох показників – на 24,5 і 11,7 % відповідно – «у швидких ацетиляторів», у порівнянні з «повільними ацетиляторами», що пов'язано з більш швидкою елімінацією ізоніазиду.

Отже, у хворих на туберкульоз легень, які мали генотип *NAT2* ПА, спостерігалась вірогідно більша концентрація ізоніазиду в крові через 4 і 6 год. після прийому препарату на 20,6 і 38,0 % відповідно, ніж у ША. Близько 20% хворих на туберкульоз, незалежно від типу ацетилювання, через 2 і 4 год мали

концентрацію ізоніазиду нижчу від рекомендованої ефективної концентрації. Серед «швидких ацетиляторів» вдвічі більшою була кількість хворих, що мали субтерапевтичну концентрацію ізоніазиду через 6 годин, ніж серед «повільних ацетиляторів» (42,4 проти 19,6 %). Період напіввиведення ізоніазиду у ША у всіх часових відрізках був нижче, ніж у ПА.

Зважаючи на вплив концентрації ізоніазиду на вміст рифампіцину (табл. 4.2 і 4.4), ми прогнозували вплив поліморфізму генотипу *NAT2* на концентрацію рифампіцину. Однак з'ясувалось, що між носіями різних генотипів *NAT-2* відсутня вірогідна різниця щодо концентрації рифампіцину, водночас спостерігається певна тенденція до дещо більш високого рівня рифампіцину у осіб з генотипом ША у порівнянні з ПА (табл. 4.11).

Таблиця 4.11

Концентрація рифампіцину у хворих на туберкульоз легень в залежності від генотипу *NAT-2* (год)

Генотип <i>NAT2</i>	N	Концентрація рифампіцину в крові (мкг/мл) через				
		2 год	4 год	6 год	24 год	в середньому
ША	33	12,38±0,52	16,87±0,57	11,46±0,56	7,24±0,38	11,55±0,49
ПА	53	11,69±0,50	15,82±0,66	11,11±0,36	7,26±0,32	11,43±0,45

Також практично були відсутні відмінності щодо частоти випадків розвитку субефективної концентрації рифампіцину у хворих з різними генотипами *NAT-2* (рис. 4.14). Розбіжності між фенотипом і генотипом ацетилювання щодо концентрації рифампіцину можливо пов'язані з тим, що на біотрансформацію рифампіцину впливає, в більшій мірі, фактична концентрація ізоніазиду або його метаболітів, ніж генетично детермінована активність *NAT2*.

Наведені у даній главі дані засвідчили вплив поліморфізму генотипів *CYP2C9*, *CYP2C19*, *CYP2E1* і *NAT-2* у хворих на туберкульоз легень на фармакокінетику протитуберкульозних препаратів ізоніазиду і рифампіцину.

Зокрема, наведено дані що наявність генотипів *CYP2C9**2/*3, *3/*3, а також *CYP2E1**CD, *CC у хворих на ТБ легень асоціювалась з високим рівнем рифампіцину і меншою кількістю випадків субтерапевтичної концентрації рифампіцину.

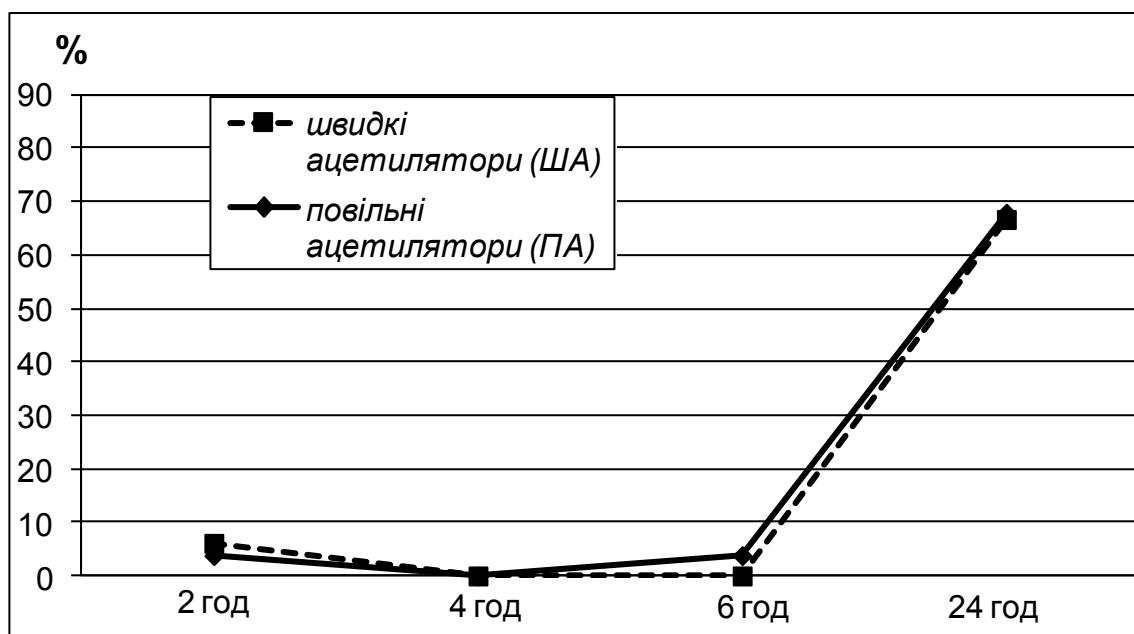


Рис. 4.14. Кількість хворих, що не досягла рекомендованої концентрації рифампіцину в крові хворих на туберкульоз легень через різні проміжки часу після прийому препарату в залежності від генотипу *NAT-2*.

З іншого боку підтверджено, що «повільні ацетилятори» згідно генотипу *NAT-2* мали вищу концентрацію ізоніазиду в крові і менший ризик падіння концентрації ізоніазиду нижче рекомендованої концентрації, ніж «швидкі ацетилятори». Також показано, що вміст ізоніазиду може впливати на концентрацію рифампіцину. Для з'ясування значення вказаних фармакогенетичних і фармакокінетичних особливостей хворих на туберкульоз ми плануємо у наступних розділах вивчити медичні карти пацієнтів, з урахуванням особливостей клінічного перебігу захворювання і динаміки лабораторних показників хворих на туберкульоз і співставленням їх з вище наведеними даними.

За матеріалами даного розділу були опубліковані такі роботи:

1. Антоненко П. Б. Фармакокінетика ізоніазиду у хворих на туберкульоз з різним генотипом ацетилювання / В. Й. Кресюн, В. В. Філюк, П. Б. Антоненко, К. К. Рогач, Ю. М. Даниленко, Г. В. Мозолевич // Український пульмонологічний журнал. – 2013. – № 3. – С. 24–27.
2. Антоненко П. Б. Концентрація рифампіцину у хворих на туберкульоз з різним генотипом ізоензиму цитохрому 2С9 / П. Б. Антоненко, В. Й. Кресюн // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2013. – № 3 (34). – С. 73–79
3. Антоненко П. Б. Рівень рифампіцину в крові у хворих на туберкульоз з різним генотипом цитохрому 2С19 / П. Б. Антоненко, В. Й. Кресюн // Одеський медичний журнал. – 2013. – № 5. – С. 16–20.
4. Antonenko P. B. Polymorphism of the biotransformation gene cytochrome P-450 2C9 in patients with tuberculosis / P. B. Antonenko, V. I. Kresyun // Molecular genetics, microbiology and virology (Russia). – 2014. – Vol. 29, N 3. – P. 110–114.
5. Антоненко П. Б. Концентрація ізоніазиду у хворих на туберкульоз з різним генотипом ацетилювання / В. Й. Кресюн, В. В. Філюк, П. Б. Антоненко, К. К. Рогач, Ю. М. Даниленко, Г. В. Мозолевич // Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів : ХХХ Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 23 травня 2013 р., Харків : матеріали. – Х. : НФаУ, 2013. – С. 63–64.
6. Antonenko P. B. Pharmacokinetics of isoniazide in patients with tuberculosis with different acetylation genotype / P. B. Antonenko, V. I. Kresyum, V. V. Godovan, K. O. Antonenko // Tuberculosis and Other Lung Disease: successes and challenges: 19th Conference of the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease (The Union), Africa region. 20–22 June 2013, Kigali City, Rwanda : abstracts. – Kigali City, 2013. – P. 30–31.
7. Антоненко П. Б. Рівень ізоніазиду у хворих на туберкульоз / В. Й. Кресюн, П. Б. Антоненко, В. В. Годован, К. О. Антоненко // Українські медичні

вісті. – 2013. – Т. 10, № 1–4. – С. 133 (XII З'їзд Всеукраїнського лікарського товариства, 5–7 вересня 2013 р., Київ : матеріали).

8. Антоненко П. Б. Вміст ацетилізоніазиду у хворих на туберкульоз в залежності від генотипу ацетилювання / В. Й. Кресюн, П. Б. Антоненко, В. Ю. Анісімов, С. В. Щербаков // Актуальні питання біології, екології, медицини та фармакології : наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 26–27 вересня 2013 р., Дніпропетровськ : матеріали. – Харків, 2013. – С. 60–61.

9. Antonenko P. B. Level of isoniazid metabolites in tuberculosis patients depending on acetylation genotype / V. I. Kresyun, V. V. Filuk, P. B. Antonenko, K. K. Rogach, Yu. M. Danilenko, G. V. Mozolevich // The International Journal of Tuberculosis and Lung Diseases. – 2013. – Vol. 17, N 12 (suppl. 2). – S. 158–159. (44th World Conference on Lung Health of the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease (The Union). Paris, France, 30 October–3 November 2013: abstracts).

РОЗДІЛ 5
ЕФЕКТИВНІСТЬ ЛІКУВАННЯ ТУБЕРКУЛЬОЗУ ЛЕГЕНЬ В ЗАЛЕЖНОСТІ
ВІД ГЕНЕТИЧНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ ПРОЦЕСІВ БІОТРАНСФОРМАЦІЇ
ХВОРИХ

5.1. Наслідки лікування туберкульозу легень в залежності від генотипу *CYP2C19*

На початку стаціонарного лікування процеси деструкції спостерігались приблизно у 40,0 % «швидких метаболізаторів» (генотип **1/*1*) і майже у половини «помірних метаболізаторів» (генотип **1/*2*) (табл. 5.1; 5.2).

Таблиця 5.1

Характеристика туберкульозного процесу в залежності від генотипу *CYP2C19*

Характеристика туберкульозного процесу		На початку лікування, (%)		Наприкінці стаціонар. лікування, (%)	
		<i>*1/*1</i> , n=60	<i>*1/*2</i> , n=23	<i>*1/*1</i> , n=60	<i>*1/*2</i> , n=23
Поширення	обидві легені	25 (41,7)	8 (34,8)	24 (40,0)	6 (26,1)
	частини легені	35 (58,3)	15 (65,2)	36 (60,0)	17 (73,9)
Деструкція	є	24 (40,0)	12 (52,2)	18 (30,0)	1*# (4,3)
	нема	36 (60,0)	11 (47,8)	42 (70,0)	22 (95,7)

Примітки:

1. # - $P < 0,05$ (відносно вихідного рівня відповідної групи);
2. * - $P < 0,05$ (відносно хворих з генотипом **1/*1*).

Близько 42 і 35 % носіїв генотипу **1/*1* і **1/*2* відповідно мали ураження обох легень. Згідно клінічної форми, дисемінація туберкульозного процесу спостерігалась майже у третини носіїв генотипу **1/*1* і лише у 13,6 % індивідів

з генотипом **1/*2*. У більшості швидких і помірних метаболізаторів відзначалась інфільтративна форма туберкульозного процесу, причому в останніх ця форма зустрічалась в 1,5 рази частіше, ніж у першої групи (86,4 проти 58,6 %, $P < 0,05$; $\chi^2 = 5,49$) (рис. 5.1).

Таблиця 5.2

Характеристика туберкульозного процесу в залежності від генотипу *CYP2C19* (продовження)

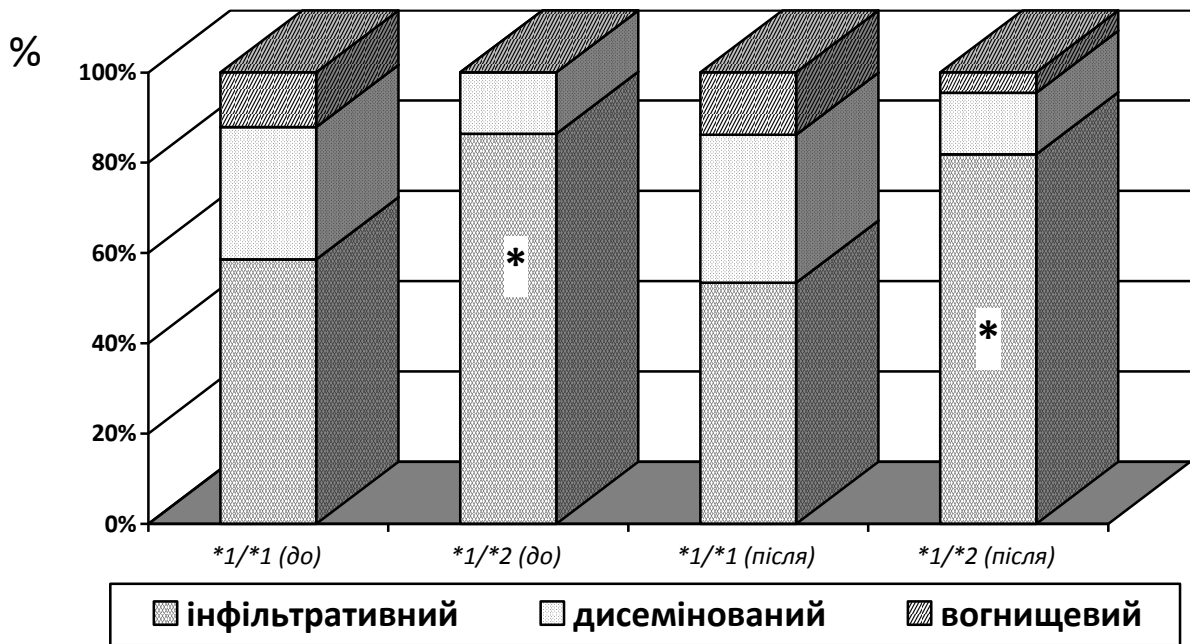
Характеристика туберкульозного процесу		На початку лікування, (%)		Наприкінці стаціонар. лікування, (%)	
		<i>*1/*1</i> , n=60	<i>*1/*2</i> , n=23	<i>*1/*1</i> , n=60	<i>*1/*2</i> , n=23
Стадія ураження	інфільтрація	36 (60,0)	9 (39,1)	4# (6,7)	1# (4,3)
	розпад	6 (10,0)	7* (30,4)	6 (10,0)	-#
	обсіменіння	18 (30,0)	7 (30,4)	-#	-#
	розсмоктування	-	-	50# (83,3)	22# (95,7)
Категорія хворих	1	41 (68,4)	20 (87,0)	39 (65,0)	17 (73,9)
	2	6 (10,0)	1 (4,3)	3 (5,0)	1 (4,3)
	3	13 (21,7)	2 (8,7)	6 (10,0)	1 (4,3)
	4	-	-	12# (20,0)	4# (17,4)

Примітки:

1. # - $P < 0,05$ (відносно вихідного рівня відповідної групи);
2. * - $P < 0,05$ (відносно хворих з генотипом **1/*1*).

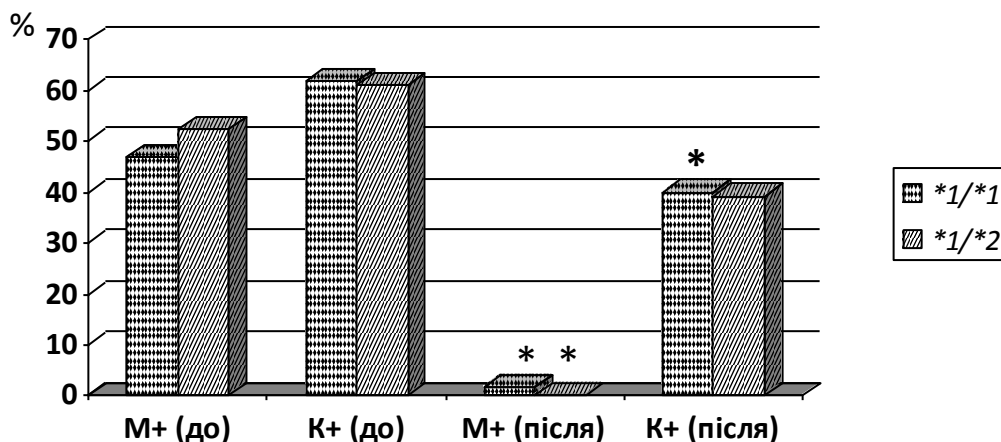
Вогнищева форма зустрічалась лише у 12,1 % ША і взагалі була відсутня серед ПА. Серед «швидких метаболізаторів» процеси розпаду і обсіменіння мали місце у 10,0 і 30,4% відповідно. В той же час серед помірних метаболізаторів вказані процеси спостерігались у 30,4% пацієнтів. Отже, серед носіїв генотипу **1/*1* процеси розпаду зустрічались майже в 3 рази рідше, ніж у

носії генотипів $*1/*2$ ($P < 0,05$; $\chi^2 = 5,26$ при критичному значенні $\chi^2 = 3,84$ тут і далі). Натомість процеси інфільтрації найбільше зустрічались у осіб з генотипом $*1/*1$ – 60,0% , майже в 1,5 рази рідше у хворих з генотипом $*1/*2$ – 39,1% ($P > 0,05$). На початку стаціонарного лікування незалежно від генотипу за даними мікроскопії бактеріовиділення відзначалось приблизно у половини хворих (рис. 5.2).



* - $P < 0,05$ (відносно хворих з генотипом $*1/*1$)

Рис. 5.1. Характер ураження легень з урахуванням генотипу *CYP2C19* на початку (до) і наприкінці (після) стаціонарного лікування.



* - $P < 0,05$ (відносно відповідної групи на початку лікування)

Рис. 5.2. Кількість хворих, які виділяли збудника туберкульозу згідно бактеріоскопії (M+) або культурального методу (K+) залежно від генотипу *CYP2C19* на початку (до) або наприкінці (після) стаціонарного лікування.

Згідно посіву більшість хворих - 60,6 % «швидких» і 60,4 % «помірних метаболізаторів» виділяли збудника туберкульозу. Більшість хворих з генотипом $*1/*1$ і $*1/*2$ належали до I або III категорії – 90,1 і 95,7% відповідно. Таким чином, на початку лікування хворі, які мали генотип $*1/*2$ частіше мали явища деструкції і розпаду в легеневій тканині, ніж носії генотипу $*1/*1$. Тривалість стаціонарного лікування була найбільшою у хворих з генотипом $*1/*1$ і становила $93,64 \pm 3,26$ дня. У пацієнтів з генотипом $*1/*2$ амбулаторне лікування було коротше і становило $86,75 \pm 2,75$ дня.

Наприкінці стаціонарного лікування процеси деструкції зберігались у 30,0 % у «швидких метаболізаторів», водночас серед носіїв генотипу «помірного метаболізму» процеси деструкції зустрічались у 4,3 % (рис. 5.1). Отже, явища деструкції зустрічались в 7 разів частіше у хворих з генотипом $*1/*1$, ніж у індивідів з генотипом $*1/*2$ ($P < 0,05$; $\chi^2 = 5,61$). В усіх групах в результаті стаціонарного лікування відбулось скорочення кількості хворих з явищами деструкції, особливо у помірних метаболізаторів ($P < 0,05$; $\chi^2 = 12,97$). Припинення деструкції спостерігалось у 20,8 % носіїв генотипу $*1/*1$ і 91,7 % індивідів з генотипом $*1/*2$ (табл. 5.3). Отже, припинення процесів деструкції у пацієнтів з генотипом $*1/*2$ відбувалась в 4,4 рази частіше ($P < 0,05$; $\chi^2 = 16,26$), ніж у осіб з генотипом $*1/*1$ і в середньому займала близько 60 днів.

Як і на початку, так і при завершенні стаціонарного лікування у більшості носіїв генотипу $*1/*1$ і $*1/*2$ - 53,4 і 81,8 % відповідно - спостерігалась інфільтративна форма туберкульозного процесу. Отже, при наявності генотипу $*1/*2$ інфільтративна форма зустрічалась в 1,5 рази частіше, ніж першої групи ($P < 0,05$; $\chi^2 = 5,41$). В той же час серед пацієнтів з генотипом $*1/*2$ більшість, а саме 2/3 складали хворі з дисемінованою формою захворювання.

В результаті проведеного стаціонарного лікування кількість хворих «швидких» і «помірних метаболізаторів» з явищами інфільтрації знизилось в 9 разів ($P < 0,05$; $\chi^2 = 38,40$ і $\chi^2 = 8,18$) відповідно; припинились явища обсіменіння ($P < 0,05$; $\chi^2 = 21,18$ і $\chi^2 = 8,26$ відповідно). У «помірних метаболізаторів» в результаті стаціонарного лікування припинились явища розпаду, причому

різниця була вірогідною відносно початкового показника ($P < 0,05$; $\chi^2 = 8,26$). В той же час явища розсмоктування і ущільнення в легеневій тканині спостерігалось у 83,3 % «швидких» і 95,7 % «помірних» ($P < 0,05$; $\chi^2 = 85,71$ і $\chi^2 = 42,17$ відповідно) метаболізаторів.

Таблиця 5.3

Припинення процесів деструкції легень і бактеріовиділення в залежності від генотипу *CYP2C19*

Група хворих	Припинення процесу деструкції		Припинення бактеріовиділення за даними			
			мікроскопії		посіву	
	кількість хворих (%)	тривалість (днів) \pm SEM	кількість хворих (%)	тривалість (днів) \pm SEM	кількість хворих (%)	тривалість (днів) \pm SEM
*1/*1, n=60	5/24 (20,8)	59,7 \pm 2,3	27/28 (96,3)	58,7 \pm 1,2	13/37 (35,1)	69,0 \pm 3,3
*1/*2, n=23	11/12* (91,7)	63,7 \pm 2,8	12/12 (100)	57,6 \pm 2,1	5/14 (35,7)	68,6 \pm 3,0

Примітка. * - $P < 0,05$ (відносно хворих з генотипом *1/*1).

Незалежно від генотипу *CYP2C19* співвідношення хворих з двостороннім і одностороннім ураженням легень майже не змінилось на протязі стаціонарного лікування. Протягом стаціонарного лікування кількість хворих з генотипом *1/*1 і *1/*2, які належали до 4 категорії, зросли приблизно однаково – на 20,0 % ($P < 0,05$; $\chi^2 = 9,29$) і на 17,4 % ($P < 0,05$; $\chi^2 = 4,40$) відповідно. Також в першій обох групі майже однаково часто реєструвався мультирезистентний туберкульоз – в 19,0 і 18,2 % відповідно.

За даними мікроскопії бактеріовиділення на момент виписки зі стаціонару було відсутнім у 100 % носіїв генотипу *1/*2. Припинення бактеріовиділення при цьому відбулось у 96,3 % хворих з генотипом *1/*1 і у 100 % - генотипом

*1/*2. При цьому тривалість припинення бактеріовиділення в обох групах склало близько 58 днів.

Згідно даних культурального методу наприкінці стаціонарного лікування бактеріовиділення спостерігалось приблизно у 35 % носіїв генотипів *1/*1 і *1/*2. В результаті лікування кількість бактеріовиділювачів з генотипом *1/*1 зменшилось майже в 1,5 рази ($P < 0,05$; $\chi^2 = 5,63$). Припинення бактеріовиділення зайняло майже однаковий час в обох групах – близько 69 днів.

Отримані дані засвідчили, що на початку лікування у хворих з генотипом *CYP2C19**1/*2 частіше спостерігались явища деструкції, інфільтрації та розпаду, ніж у хворих з генотипом *1/*1. Наприкінці стаціонарного лікування найчастіше процеси розсмоктування і відсутність деструкції спостерігались при наявності генотипу *1/*2. Саме цей генотип - *1/*2 згідно попередніх даних асоціювався з високим вмістом ізоніазиду і дещо меншою концентрацією рифампіцину під час лікування. З іншого боку хворі з генотипами *1/*1 і *1/*2 мали приблизно однакову тривалість стаціонарного лікування і відсоток бактеріовиділення на початку і при завершенні стаціонарного лікування, однакову частоту розвитку хіміорезистентного туберкульозу. На жаль, оцінити вплив наявності генотипу *2/*2 на перебіг туберкульозного процесу було важко у зв'язку з малою кількістю таких хворих.

Лабораторні показники у хворих на туберкульоз легень в залежності від генотипу *CYP2C19* були наступні.

На початку лікування у хворих з генотипом *1/*2 рівень гемоглобіну і кількість еритроцитів були на 4,3 % ($P < 0,05$; $CI = 0,39 \dots 0,01$) і 6,8 % ($P < 0,05$; $CI = 15,75 \dots 0,55$) вище, ніж у осіб з генотипом *1/*1 відповідно (табл. 5.4). Водночас середня концентрація гемоглобіну в еритроциті вірогідно не відрізнялась між групами хворих на туберкульоз ($P > 0,05$).

У носіїв генотипу *1/*1 відзначалась нижча кількість лейкоцитів і менша кількість хворих з абсолютним лейкоцитозом в периферичній крові, ніж серед носіїв генотипу *1/*2 (табл. 5.5, рис. 5.3). Середній показник ШОЕ в усіх групах був вищим від норми, причому дещо більшим був у носіїв генотипу *1/*1,

водночас найбільший відсоток хворих з підвищеною ШОЕ спостерігався у носіїв генотипу $*1/*2$.

Таблиця 5.4

Показники «червоної крові» та ШОЕ до початку та після стаціонарного лікування згідно генотипу *CYP2C19* (Mean±SEM)

Група	n	Кількість еритроцитів, Г/л	Гемоглобін, г/л	МСНС	ШОЕ, мм/год
НА ПОЧАТКУ ЛІКУВАННЯ					
$*1/*1$	60	4,66±0,05	120,18±2,05	274,96±1,36	24,33±2,10
$*1/*2$	23	4,86±0,07*	128,33±3,05*	276,00±2,26	20,22±2,74
ПІСЛЯ СТАЦІОНАРНОГО ЛІКУВАННЯ					
$*1/*1$	60	4,72±0,06	123,56±2,01	279,93±2,41	10,44±1,14#
$*1/*2$	23	4,64±0,11	125,00±2,79	285,00±3,02#	11,37±1,91#

Примітки:

1. * - $P < 0,05$ (відносно відповідної групи з генотипом $*1/*1$);
2. # - $P < 0,05$ (відносно початкового рівня відповідної групи).

Таблиця 5.5

Показники «білої крові» до початку та після стаціонарного лікування згідно генотипу *CYP2C19* (Mean±SEM)

Група	n	Кількість лейкоцитів, Г/л	Лімфоцити, %	Моноцити, %	Гранулоцити, %
НА ПОЧАТКУ ЛІКУВАННЯ					
$*1/*1$	60	8,09±0,32	30,19±1,06	5,22±0,19	63,27±0,73
$*1/*2$	23	8,25±0,42	31,24±1,80	4,24±0,20	64,51±1,12
ПІСЛЯ СТАЦІОНАРНОГО ЛІКУВАННЯ					
$*1/*1$	60	6,49±0,28@	36,76±1,28@	5,19±0,19	57,97±1,29@
$*1/*2$	23	6,52±0,32@	35,96±1,51@	4,94±0,35	59,10±1,59@

Примітка. @ - $P < 0,05$ (відносно відповідної групи на початку лікування).

Наприкінці стаціонарного лікування рівень гемоглобіну і еритроцитів у хворих на ТБ легень практично не змінився у порівнянні з початковими показниками (табл. 5.4). Водночас дещо зменшились вказані показники у

хворих з генотипом $*1/*2$, в іншій групі, навпаки, вказані показники зросли ($P>0,05$). В результаті стаціонарного лікування відбулось незначне зростання МСНС в усіх групах, особливо у помірних метаболізаторів – на 4,3 % ($P<0,05$; $CI=-16,61\dots-1,39$).

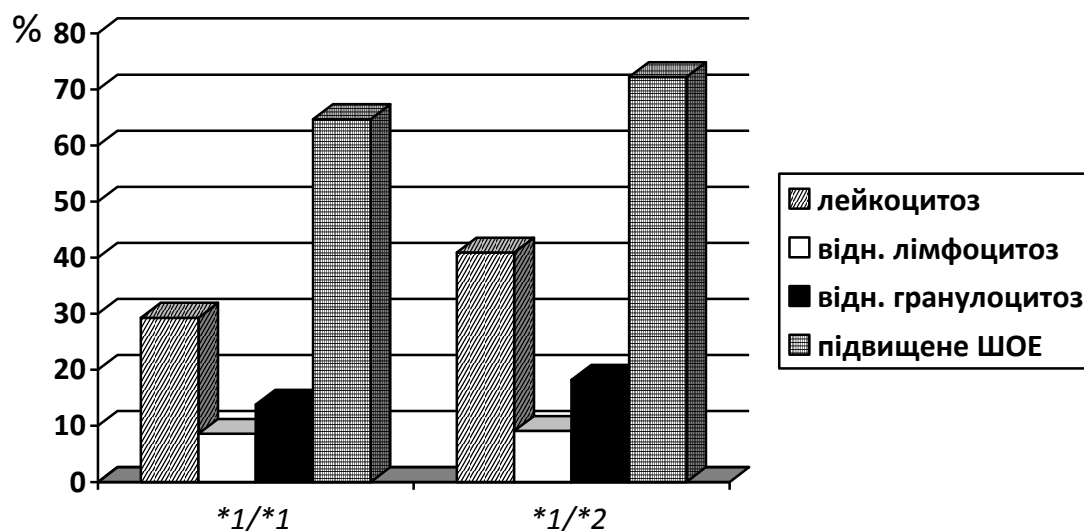
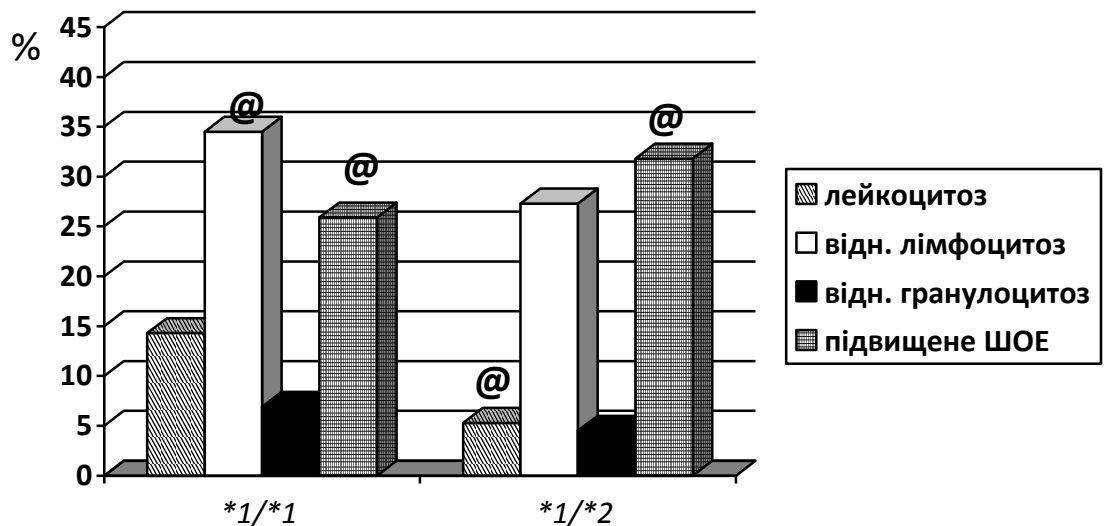


Рис. 5.3. Кількість хворих з патологічними зсувами у периферичній крові на початку стаціонарного лікування згідно генотипу *CYP2C19*.

Показник ШОЕ на момент виписки у носіїв генотипу «швидких метаболізаторів» зменшився майже в 2,5 рази ($P<0,001$; $CI=-16,61\dots-1,39$), генотипу $*1/*2$ - майже в 1,8 разу ($P<0,05$; $CI=2,11\dots15,59$) відносно вихідного рівня. Наприкінці стаціонарного лікування у двох вищевказаних групах середній рівень ШОЕ був в межах норми. Також серед носіїв генотипу $*1/*1$ і $*1/*2$ кількість осіб з підвищеною ШОЕ зменшилась в 2,5 рази (64,7 проти 25,9 %; $P<0,05$; $\chi^2=15,74$) і в 2,3 рази (72,2 проти 31,8; $P<0,05$; $\chi^2=6,11$) відносно початкового рівня (рис. 5.4). Серед осіб з генотипами $*1/*1$ і $*1/*2$ майже однаково знизилась кількість лейкоцитів в периферичній крові - на 24,7 % ($P<0,001$; $CI=0,76\dots2,44$) і 26,5 % ($P<0,05$; $CI=0,66\dots2,80$), при цьому в останній групі знизилась кількість хворих з абсолютним лейкоцитозом майже в 8 раз (40,9 проти 5,3 %; $P<0,05$; $\chi^2=6,17$) (табл. 5.5, рис. 5.4).

В результаті стаціонарного лікування відбулись певні зміни у лейкоцитарній формулі хворих на ТБ легень. Зокрема, зросла частка лімфоцитів – на 21,8 % ($P < 0,001$; $CI = -9,86 \dots -3,28$) в групі $*1/*1$, на 19,6 % ($P < 0,05$; $CI = -9,46 \dots 0,02$) в групі $*1/*2$. Водночас в результаті лікування зросла кількість хворих з відносним лімфоцитозом – майже в 4 рази у диких гомозигот (34,5 проти 8,6 %; $P < 0,05$; $\chi^2 = 10,55$) і невірогідно у гетерозигот (27,3 проти 9,1 %; $P > 0,05$). На момент закінчення стаціонарного лікування зміни у кількості моноцитів у лейкоцитарній формулі в обох групах мали невірогідний характер. В результаті стаціонарного лікування знизилась кількість гранулоцитів на 9,1 % при генотипі $*1/*1$ ($P < 0,001$; $CI = 2,36 \dots 8,24$) і на 8,4% при генотипі $*1/*2$ ($P < 0,05$; $CI = -8,41 \dots -0,57$).



@ - $P < 0,05$ відносно відповідної групи на початку лікування

Рис. 5.4 Кількість хворих з патологічними зсувами у периферичній крові наприкінці стаціонарного лікування згідно генотипу *CYP2C19*.

На початку лікування вірогідна різниця між різними групами згідно генотипу *2C19* щодо біохімічних показників крові була відсутня, за виключенням тимолової проби, рівень якої був найвищий у носіїв генотипу $*1/*2$, що було на 30,5 % ($P < 0,05$; $CI = -1,06 \dots -0,10$) більше, ніж у осіб з генотипом $*1/*1$ (табл. 5.6). В той же час у носіїв генотипу $*1/*1$ рівень ГГТ був вищим майже в 1,5 рази, ніж у хворих с генотипом $*1/*2$ ($P < 0,001$).

На момент завершення стаціонарного лікування в обох групах хворих спостерігалось певне зниження загального білірубину, але лише у осіб з генотипом $*I/*I$ цей процес мав вірогідний характер (-12,2%; $P<0,01$; $CI=0,54...3,64$). Водночас як на початку, так і наприкінці стаціонарного лікування рівень білірубину, АлАТ, АсАТ, ГГТ були вищими у хворих з генотипом $*I/*I$, ніж у носіїв генотипу $*I/*2$.

Таблиця 5.6

Біохімічні показники крові до початку та після стаціонарного лікування (Mean±SEM)

Група	n	Білірубін, мкМ/л	Тимолова проба, Од	АлАТ, Од/л	АсАТ, Од/л	ГГТ, Од/л
НА ПОЧАТКУ ЛІКУВАННЯ						
$*I/*I$	60	14,92±0,67	1,90±0,14	21,51±1,75	25,40±1,12	29,51±1,88
$*I/*2$	23	13,71±0,85	2,48±0,16*	19,86±1,39	23,86±0,83	20,36±0,96 *
ПІСЛЯ СТАЦІОНАРНОГО ЛІКУВАННЯ						
$*I/*I$	60	12,83±0,40 @	2,33±0,12@	24,49±1,75	27,59±1,14	32,67±1,44
$*I/*2$	23	12,04±0,36	2,54±0,16	20,54±1,06	26,46±0,89 @	28,09±2,03 @

Примітки:

1. * - $P<0,05$ (відносно відповідної групи з генотипом $*I/*I$);
2. @ - $P<0,05$ (відносно відповідної групи на початку лікування).

В обох групах спостерігалось зростання показників тимолової проби, особливо у осіб з генотипом $*I/*I$ (+22,6%; $P<0,05$; $CI=-0,80...-0,06$). Під час стаціонарного лікування відбулось зростання активності АлАТ і ГГТ. І лише у носіїв генотипу $*I/*2$ зростання ГГТ мало достовірний характер (+38,0%; $P<0,01$; $CI=-12,26...-3,20$). В результаті стаціонарного лікування також відбулось певне зростання активності АсАТ у носіїв генотипу $*I/*I$ ($P>0,05$), а також зростання на 10,9% у носіїв генотипу $*I/*2$ ($P<0,05$; $CI=-5,06...-0,14$).

При порівнянні показників про- і антиоксидантної систем у хворих на туберкульоз з різним генотипом *2C19* було встановлено, що найбільший вміст

ДК, найменша активність каталази і показник антиоксидантного індексу в крові спостерігався у помірних метаболізаторів ($P > 0,05$) (табл. 5.7).

Отже, було встановлено, що в результаті стаціонарного лікування незалежно від генотипу *CYP2C19* у хворих на ТБ легень відбулось зниження ШОЕ, кількості лейкоцитів, відносної кількості гранулоцитів, водночас зросла відносна кількість лімфоцитів, що розцінюється як ознака ефективного лікування [331].

Таблиця 5.7

Показники про- та антиоксидантної систем на початку лікування (Mean±SEM)

Генотип <i>CYP2C19</i>	n	Дієнові кон'югати, моль/л	Каталаза, мкат/л	Антиоксидантний індекс
*1/*1	60	1,592±0,016	0,165±0,006	0,109±0,009
*1/*2	23	1,638±0,029	0,154±0,005	0,096±0,008

Показники периферичної крові у хворих з генотипом *1/*1 як на початку так і при завершенні стаціонарного лікування практично не відрізнялись від носіїв генотипу *1/*2, хоча у перших вище вказані патологічні зсуви були дещо менш вираженими. Під час стаціонарного лікування у всіх категорій хворих на ТБ легень зросли маркери функціонування печінки (АлАТ, АсАТ, ГГТ), водночас вміст білірубіну дещо знизився. Важливо, що показники ураження печінки – АлАТ і особливо ГГТ було дещо більші у носіїв генотипу *1/*1, ніж у носіїв генотипу *1/*2, що згідно літературних даних може супроводжуватись уповільненням метаболізму ліків, збільшена концентрація яких може обумовлювати гепатотоксичну дію препаратів. У хворих з генотипом *1/*2 на початку лікування спостерігався дещо вищий рівень ДК і нижча активність каталази, відносно групи з генотипом *1/*1, що співпадало з більшим показником тимолової проби і більш значним зростанням ГГТ у хворих з генотипом *1/*2.

5.2. Ефективність лікування туберкульозу легень в залежності від генотипу *CYP2C9*

На початку стаціонарного лікування процеси деструкції спостерігались у більшості носіїв генотипу **1/*1* – 51,7 % і у меншості носіїв **1/*2*, **1/*3* і **2/*3*, **3/*3* – 27,3 і 33,3 % відповідно (табл. 5.8).

Таблиця 5.8

Характеристика туберкульозного процесу в залежності від генотипу *CYP2C9*

Характеристика туберкульозного процесу		На початку лікування, (%)			Наприкінці стаціонар. лікування, (%)		
		<i>*1/*1</i> , n=58	<i>*1/*2</i> , <i>*1/*3</i> , n=22	<i>*2/*3</i> , <i>*3/*3</i> , n=6	<i>*1/*1</i> , n=58	<i>*1/*2</i> , <i>*1/*3</i> , n=22	<i>*2/*3</i> , <i>*3/*3</i> , n=6
Поширення	обидві легені	21 (36,2)	11 (50,0)	4 (66,7)	20 (34,5)	8 (36,4)	3 (50)
	частини легені	37 (63,8)	11 (50,0)	2 (33,3)	38 (65,5)	14 (63,8)	3 (50)
Деструкція	є	30 (51,7)	6* (27,3)	2 (33,3)	18# (31,0)	4 (18,2)	-
	нема	28 (48,3)	16 (72,7)	4 (66,7)	40 (69,0)	18 (81,8)	6 (100)
Стадія ураження	інфільтрація	27 (46,6)	12 (54,5)	6* (100)	4# (6,9)	1# (4,5)	-
	розпад	13 (22,4)	1* (4,5)	-	5# (8,6)	1 (4,5)	-
	обсіменіння	18 (31,0)	9 (40,9)	-	1# (1,7)	-	-
	розсмоктування	-	-	-	48# (82,8)	20# (91,0)	6# (100)

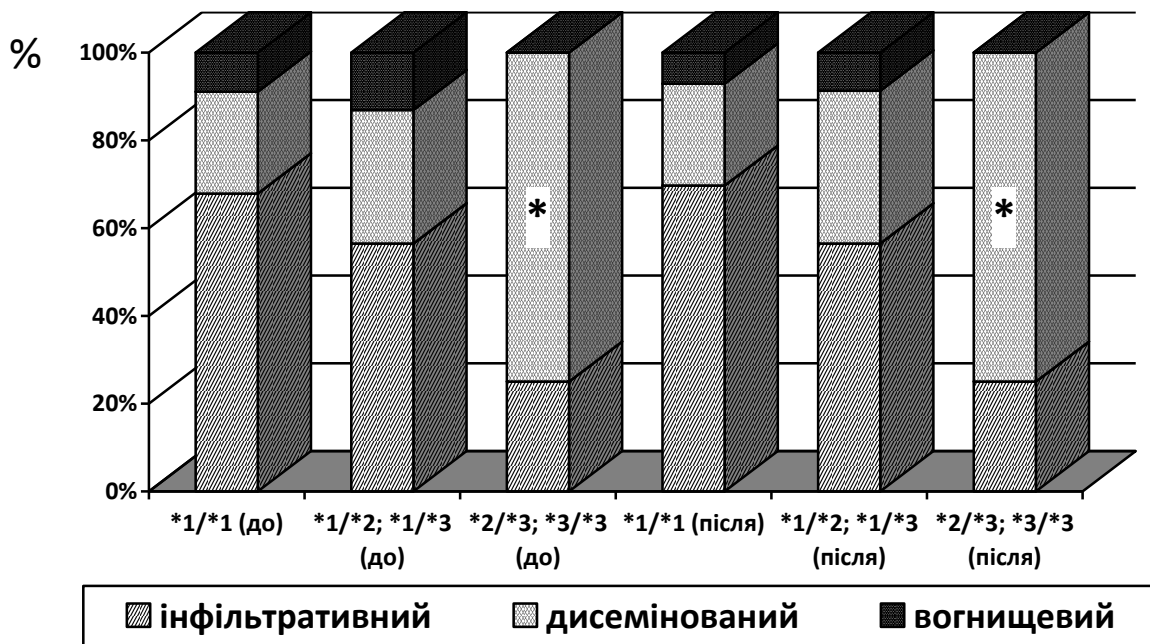
Примітки:

1. # - $P < 0,05$ (відносно вихідного рівня відповідної групи);
2. * - $P < 0,05$ (відносно хворих з генотипом **1/*1*).

Отже, процеси деструкції майже вдвічі частіше були у носіїв генотипу $*1/*1$, ніж при наявності генотипів $*1/*2$; $*1/*3$ ($P<0,05$; $\chi^2=4,36$ при критиченому значенні тут і далі 1,988).

У 66,7 % осіб в групі $*2/*3, *3/*3$ спостерігалось двохстороннє ураження легень, водночас в групах $*1/*2, *1/*3$ і $*1/*1$ цей процес спостерігався у 50,0 і 36,2 % відповідно. Згідно клінічної форми, дисемінація туберкульозного процесу спостерігалась майже в 3 рази частіше в групі $*2/*3, *3/*3$, ніж у носіїв генотипу $*1/*1$ (75,0 проти 23,2 %, $P<0,05$; $\chi^2=5,12$).

Інфільтративна форма ураження легень спостерігалась у носіїв генотипу $*1/*1$ і $*1/*2, *1/*3$ – 67,9 і 56,5 % відповідно (рис. 5.5). Серед хворих з генотипом $*1/*1$ процеси розпаду і обсіменіння мали місце у 22,4 і 31,0 % відповідно. В той же час серед помірних метаболізаторів вказані процеси спостерігались у 4,5 і 40,9 % відповідно.

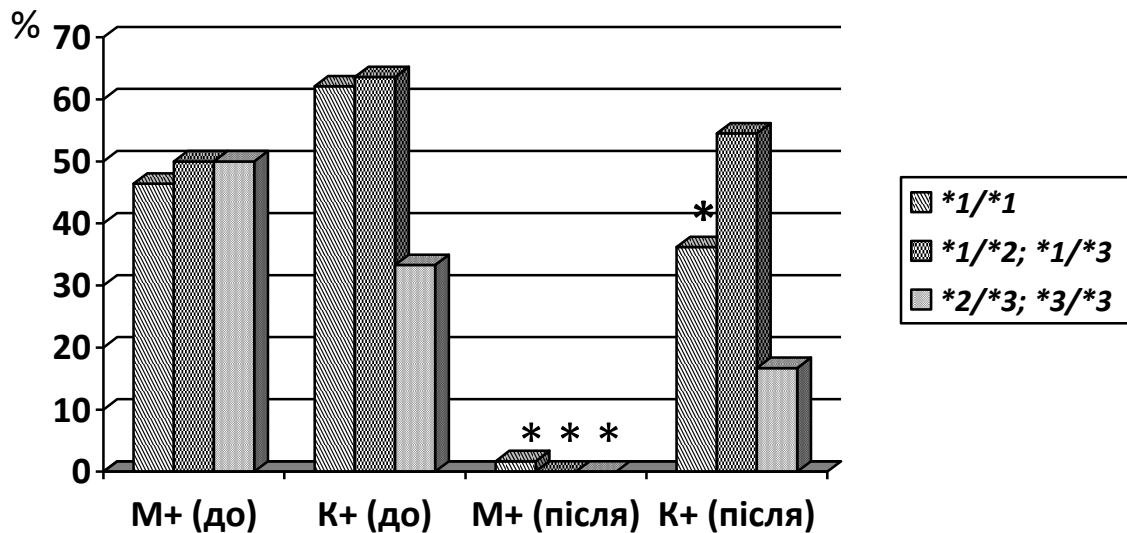


* - $P<0,05$ (відносно хворих з генотипом $*1/*1$)

Рис. 5.5. Характер ураження легень з урахуванням генотипу *CYP2C9* на початку (до) і наприкінці (після) стаціонарного лікування.

Отже, серед носіїв генотипу $*1/*1$ процеси розпаду зустрічались в 5 разів частіше, ніж у носіїв генотипів $*1/*2$; $*1/*3$ ($P<0,05$; $\chi^2=3,97$). У носіїв виключно

варіантних алелей - $*2/*3$; $*3/*3$ – вказані процеси взагалі не спостерігались - у вказаній групі відзначались виключно процеси інфільтрації, які спостерігались вдвічі частіше від носіїв генотипу $*1/*1$ (100 проти 46,6 %, $P < 0,05$; $\chi^2 = 4,29$). На початку стаціонарного лікування незалежно від генотипу за даними мікроскопії бактеріовиділення відзначалось приблизно у половини хворих (рис. 5.6).



* - $P < 0,05$ (відносно відповідної групи на початку лікування)

Рис. 5.6. Кількість хворих, які виділяли збудника туберкульозу згідно бактеріоскопії (M+) або культурального методу (K+) залежно від генотипу *CYP2C9* на початку (до) або наприкінці (після) стаціонарного лікування.

Згідно посіву 62,1 % «швидких» ($*1/*1$), 63,6 % «помірних» ($*1/*2$, $*1/*3$) і третини «повільних» ($*2/*3$, $*3/*3$) метаболізаторів виділяли збудника туберкульозу. Більшість хворих з генотипом швидких, помірних або повільних метаболізаторів належали до I або III категорії – 89,6; 90,9 і 100 % відповідно (табл. 5.9). Таким чином, на початку лікування хворі, що мали генотип $*1/*1$ частіше мали явища деструкції і розпаду в легеневій тканині, ніж носії інших генотипів. Тривалість стаціонарного лікування вірогідно не відрізнялась між різними групами і становила $112,5 \pm 8,7$ дня для «швидких метаболізаторів», $100,7 \pm 10,5$ дня для «помірних метаболізаторів» і $86,7 \pm 11,6$ днів для «повільних метаболізаторів».

Таблиця 5.9

Характеристика туберкульозного процесу в залежності від генотипу *CYP2C9* (продовження)

Характеристика туберкульозного процесу		На початку лікування, (%)			Наприкінці стаціонар. лікування, (%)		
		*1/*1, n=58	*1/*2, *1/*3, n=22	*2/*3, *3/*3, n=6	*1/*1, n=58	*1/*2, *1/*3, n=22	*2/*3, *3/*3, n=6
Категорія хворих	1	40 (68,9)	17 (77,3)	6 (100)	36 (62,1)	16 (73,9)	6 (100)
	2	6 (10,3)	2 (9,1)	-	3 (5,2)	1 (4,5)	-
	3	12 (20,7)	3 (13,6)	-	6 (10,3)	2 (9,1)	-
	4	-	-	-	13 (22,4)	3 (13,6)	-

Наприкінці стаціонарного лікування процесу деструкції зберігались у 31,0 % «швидких» і 18,2 % «помірних метаболізаторів». Водночас серед носії виключно варіантних алелей процесу деструкції взагалі були відсутні. Припинення деструкції спостерігалось у 40,0 % носіїв генотипу **1/*1* і третини носіїв генотипів **1/*2*; **1/*3* (табл. 5.10). Найбільш тривале припинення деструкції спостерігалось у «швидких метаболізаторів» – 63,7 дня, найшвидше - у «повільних метаболізаторів» – 57,2 дня, по середині розташувались «помірні метаболізатори» – 60 днів.

Як і на початку, так і при завершенні стаціонарного лікування у більшості «швидких» і «помірних метаболізаторів» - 69,6 і 56,5 % відповідно - спостерігалась інфільтративна форма ТБ легень. В той же час серед «повільних метаболізаторів» більшість, а саме 3/4 складала хворі з дисемінованою формою захворювання, що перевищувало відповідний показник у «швидких метаболізаторів» ($P < 0,05$; $\chi^2 = 5,12$).

В результаті проведеного стаціонарного лікування кількість хворих «швидких» і «помірних метаболізаторів» з явищами інфільтрації знизилось в 6,8

($P < 0,05$; $\chi^2 = 22,04$) і 12,1 ($P < 0,05$; $\chi^2 = 14,79$) разу відповідно, при цьому у останніх явища інфільтрації взагалі зникли ($P < 0,05$; $\chi^2 = 8,00$). Частка хворих з генотипом $*1/*1$ з ознаками розпаду легеневої тканини зменшилась в 2,6 разу ($P < 0,05$; $\chi^2 = 4,24$), з ознаками обсіменіння – в 18,2 разу ($P < 0,05$; $\chi^2 = 16,95$), при цьому у «помірних» і «повільних метаболізаторів» явища обсіменіння взагалі зникли. В той же час явища розсмоктування і ущільнення в легеневій тканині спостерігалось у 82,8 % «швидких», 91,0 % «помірних» і 100 % «повільних метаболізаторів».

Таблиця 5.10

Припинення процесу деструкції і бактеріовиділення в залежності від генотипу *CYP2C9*

Група хворих	Припинення процесу деструкції		Припинення бактеріовиділення за даними			
			мікроскопії		посіву	
	кількість хворих (%)	тривалість (днів) \pm SEM	кількість хворих (%)	тривалість (днів) \pm SEM	кількість хворих (%)	тривалість (днів) \pm SEM
$*1/*1$, n=58	12/30 (40,0)	63,7 \pm 5,4	26/27 (96,3)	56,1 \pm 3,4	15/36 (41,7)	74,7 \pm 6,9
$*1/*2$; $*1/*3$, n=22	2/6 (33,3)	60,0 \pm 7,6	11/11 (100)	51,5 \pm 5,0	2/14 (14,3)	79,7 \pm 10,8
$*2/*3$; $*3/*3$, n=6	2/2 (100)	57,2 \pm 6,8	3/3 (100)	52,0 \pm 7,6	1/2 (50,0)	71,5 \pm 7,4

Незалежно від генотипу співвідношення хворих з двостороннім і одностороннім ураженням легень майже не змінилось протягом стаціонарного лікування. Протягом стаціонарного лікування кількість хворих з генотипом $*1/*1$, які належали до 4 категорії, зросла на 22,4 % ($P < 0,05$; $\chi^2 = 10,53$), хворих з

генотипом *1/*2 або *1/*3 – на 13,6 % ($P > 0,05$). Також в першій групі частіше дещо реєструвався мультирезистентний туберкульоз, ніж в другій групі (22,4 проти 13,0 % відповідно).

За даними мікроскопії бактеріовиділення на момент виписки зі стаціонару було відсутнім у 100 % «повільних» і «помірних метаболізаторів», а також у 98,3 % «швидких метаболізаторів». При цьому тривалість конверсії бактеріовиділення склало 52-56 днів. Згідно даних культурального методу наприкінці стаціонарного лікування бактеріовиділення спостерігалось приблизно у 36,2 % носіїв генотипу *1/*1, у 54,5 % носіїв генотипів *1/*2, *1/*3 і 16,7 % хворих з генотипами *2/*3, *3/*3. В результаті лікування кількість бактеріовиділювачів з генотипом *1/*1 зменшилось в 1,7 разу ($P < 0,05$; $\chi^2 = 8,04$). Припинення бактеріовиділення спостерігалось дещо частіше і скоріше у «швидких» і «повільних», ніж у «помірних метаболізаторів» - 41,7 і 50,0 % проти 14,3 % відповідно.

Отримані дані засвідчили, що на початку лікування у хворих з генотипом *CYP2C9**1/*1 частіше спостерігались явища деструкції, інфільтрації та розпаду, ніж у хворих з іншими генотипами *2C9*. Наприкінці стаціонарного лікування найчастіше процеси розсмоктування і відсутність деструкції спостерігались при наявності варіантного генотипу *2/*3 або *3/*3. Саме цей генотип згідно попередніх даних асоціювався з високим вмістом рифампіцину і ізоніазиду. Водночас серед носіїв генотипу *1/*1 найчастіше спостерігали розвиток мультирезистентного туберкульозу, найбільш тривале лікування і найменшу частоту процесів розсмоктування туберкульозного процесу, що можливо пов'язано з більшою швидкістю біотрансформації протитуберкульозних препаратів або особливостями перебігу туберкульозу у цієї категорії хворих на ТБ легень. Таким чином, встановлення генотипу *CYP2C9* у хворих на туберкульоз може бути корисним як предиктор перебігу і наслідків лікування.

Отже, на початку лікування хворі на туберкульоз, які мали генотип *CYP2C9**1/*1, майже в 2 рази частіше мали ознаки деструкції, ніж хворі з генотипом *1/*2 або *1/*3. Наприкінці стаціонарного лікування у носіїв

генотипу *2/*3 або *3/*3, що асоціюється з повільним метаболізмом ізоніазиду і рифампіцину, спостерігали найкращі результати лікування. Найчастіше хіміорезистентний туберкульоз розвивався у носіїв генотипу *1/*1, що асоціюється з «швидким метаболізмом» лікарських препаратів.

Лабораторні показники у хворих на туберкульоз легень в залежності від генотипу *CYP2C9* змінювались наступним чином.

На початку лікування у хворих з генотипами *2/*3, *3/*3 рівень гемоглобіну був на 7,5 % ($P < 0,05$; $CI = -0,75 \dots -0,01$) і 8,7 % ($P < 0,05$; $CI = -0,81 \dots -0,03$), ніж у *1/*1 і *1/*2, *1/*3 відповідно (табл. 5.11).

Таблиця 5.11

Показники «червоної крові» та ШОЕ до початку та після стаціонарного лікування з урахуванням *CYP2C9* (Mean \pm SEM)

Група	n	Кількість еритроцитів, Т/л	Гемоглобін, г/л	МСНС	ШОЕ, мм/год
НА ПОЧАТКУ ЛІКУВАННЯ					
*1/*1	58	4,71 \pm 0,06	122,13 \pm 2,13	276,49 \pm 1,33	25,20 \pm 1,85
*1/*2, *1/*3	22	4,65 \pm 0,08	118,56 \pm 2,99	274,81 \pm 2,03	20,89 \pm 2,39
*2/*3, *3/*3	6	5,09 \pm 0,20*#	135,75 \pm 6,19*#	277,67 \pm 6,88	9,00 \pm 1,54*#
ПІСЛЯ СТАЦІОНАРНОГО ЛІКУВАННЯ					
*1/*1	58	4,65 \pm 0,07	122,98 \pm 2,04	283,71 \pm 3,32@	11,51 \pm 1,23@
*1/*2, *1/*3	22	4,74 \pm 0,09	124,11 \pm 3,40	290,27 \pm 5,85@	11,53 \pm 1,52@
*2/*3, *3/*3	6	5,21 \pm 0,19*#	137,00 \pm 6,64*	273,00 \pm 4,34	7,00 \pm 1,40

Примітки:

- * - $P < 0,05$ (відносно відповідної групи з генотипом *1/*1);
- # - $P < 0,05$ (відносно відповідної групи з генотипом *1/*2; *1/*3);
- @ - $P < 0,05$ (відносно відповідної групи на початку лікування).

Також в першій групі кількість еритроцитів була на 10,0 % ($P < 0,05$; $CI = -26,46 \dots -0,78$) і 12,7 % ($P < 0,05$; $CI = -31,94 \dots -2,44$), ніж у осіб з генотипом *1/*1 і *1/*2, *1/*3 відповідно. Водночас середня концентрація гемоглобіну в

еритроциті вірогідно не відрізнялась між групами хворих на ТБ ($P > 0,05$). Також майже не відрізнялась кількість та формула лейкоцитів в периферичній крові між носіями різних генотипів *2C9*. Водночас серед носіїв генотипу **2/*3*, **3/*3* в 5,6 разів частіше фіксувались хворі з відносним лімфоцитозом, ніж у хворих з генотипом **1/*2*, **1/*3* (33,3 проти 5,9 %; $P < 0,05$; $\chi^2 = 4,61$ при критичному значенні тут і далі 3,84) (табл. 5.12, рис. 5.7).

Таблиця 5.12

Показники «білої крові» до початку та після стаціонарного лікування з урахуванням генотипу *CYP2C9* (Mean \pm SEM)

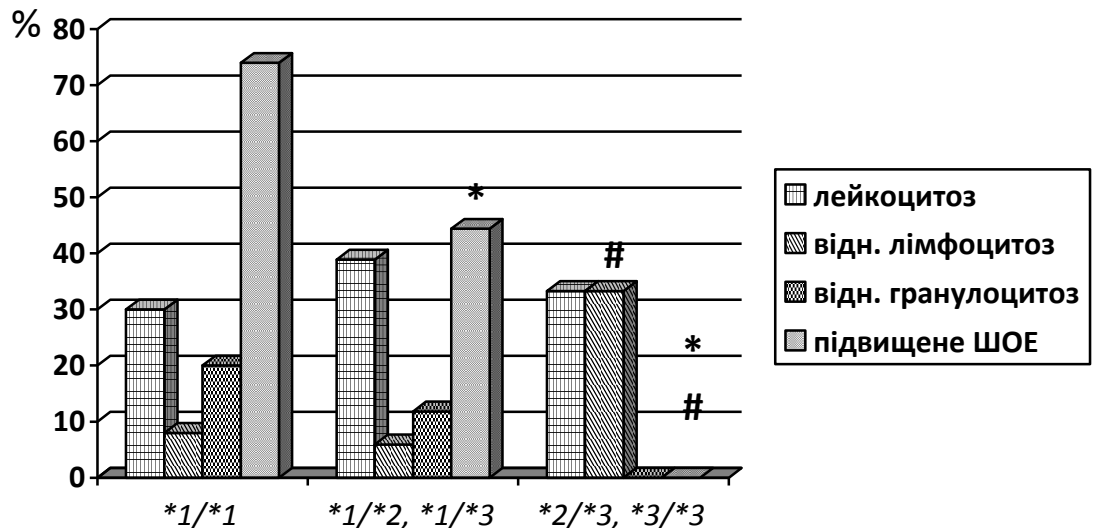
Група	n	Кількість лейкоцитів, Г/л	Лимфоцити, %	Моноцити, %	Гранулоцити, %
НА ПОЧАТКУ ЛІКУВАННЯ					
<i>*1/*1</i>	58	7,91 \pm 0,28	30,23 \pm 0,81	4,91 \pm 0,21	63,42 \pm 0,89
<i>*1/*2</i> , <i>*1/*3</i>	22	8,67 \pm 0,47	29,57 \pm 0,92	5,02 \pm 0,25	65,41 \pm 0,82
<i>*2/*3</i> , <i>*3/*3</i>	6	7,19 \pm 0,90	30,37 \pm 0,33	4,73 \pm 0,17	65,03 \pm 0,67
ПІСЛЯ СТАЦІОНАРНОГО ЛІКУВАННЯ					
<i>*1/*1</i>	58	6,69 \pm 0,29@	36,21 \pm 1,20@	4,95 \pm 0,20	58,83 \pm 1,22@
<i>*1/*2</i> , <i>*1/*3</i>	22	6,20 \pm 0,39@	35,36 \pm 1,30@	5,64 \pm 0,27*	58,77 \pm 1,30@
<i>*2/*3</i> , <i>*3/*3</i>	6	6,48 \pm 0,94	35,44 \pm 1,19@	4,68 \pm 0,30	59,43 \pm 1,49@

Примітки:

1. * - $P < 0,05$ (відносно відповідної групи з генотипом **1/*1*);
2. @ - $P < 0,05$ (відносно відповідної групи на початку лікування).

Середній показник ШОЕ серед осіб з генотипом **1/*1* і **1/*2*, **1/*3* був вищим від норми, а також перевищував в 2,8 разу ($P < 0,01$; CI=5,54...28,86) і 2,3 разу ($P < 0,05$; CI=-0,82...22,96) відповідно від аналогічного показника осіб з генотипами **2/*3*, **3/*3*. Серед носіїв генотипу **1/*1* в 1,7 разу частіше зустрічались хворі з підвищеним ШОЕ, ніж у носіїв генотипу **1/*2*, **1/*3* (74,0 проти 44,4 %; $P < 0,05$; $\chi^2 = 5,17$) (рис. 5.7). Водночас серед хворих з генотипом

*2/*3, *3/*3 взагалі були відсутні індивіди з підвищеним ШОЕ – різниця була вірогідною як відносно генотипу *1/*2, *1/*3 ($P<0,05$; $\chi^2=4,00$), так і генотипу *1/*1 ($P<0,05$; $\chi^2=13,09$).



* - $P<0,05$ (відносно відповідної групи з генотипом *1/*1)

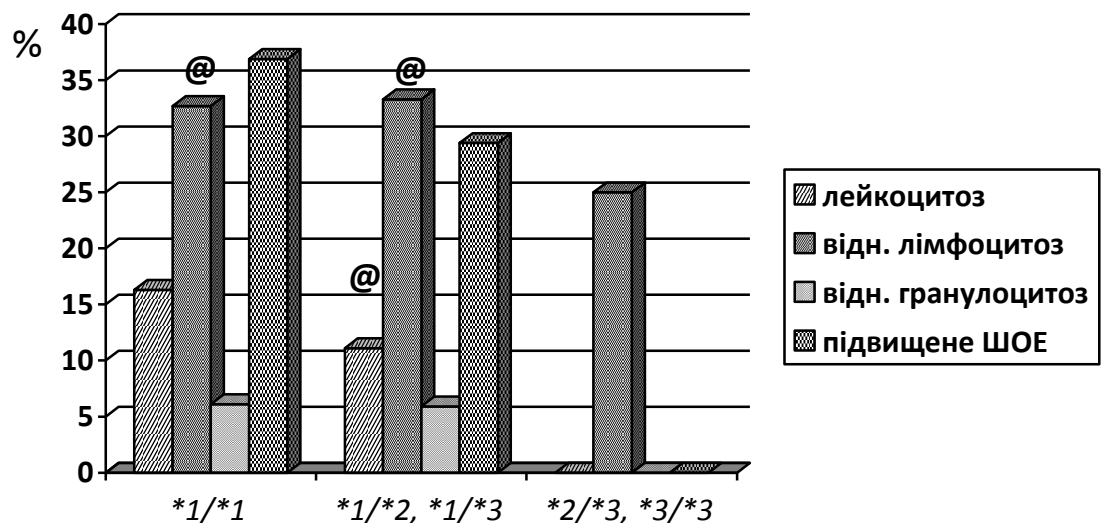
- $P<0,05$ (відносно відповідної групи з генотипом *1/*2; *1/*3)

Рис. 5.7. Кількість хворих з патологічними зсувами у периферичній крові на початку стаціонарного лікування згідно генотипу *CYP2C9*.

Наприкінці стаціонарного лікування рівень гемоглобіну і еритроцитів у хворих на ТБ легень практично не змінився у порівнянні з початковими показниками. Так, на момент виписки зі стаціонару рівень еритроцитів в групі *2/*3, *3/*3 був на 12,0 % ($P<0,05$; $CI=0,14...0,98$) і 9,9 % ($P<0,05$; $CI=0,03...0,91$) вищим, ніж в групі *1/*1 і *1/*2, *1/*3 відповідно. Також в першій групі рівень гемоглобіну був на 11,4 % вищим, ніж у осіб з генотипом *1/*1 ($P<0,05$; $CI=26,47...1,57$). В результаті стаціонарного лікування відбулось незначне зростання МСНС як при генотипі *1/*1, так і *1/*2, *1/*3 – на 2,6 % ($P<0,05$; $CI=-14,32...-0,12$) і 5,6 % ($P<0,05$; $CI=-27,86...-3,06$) відповідно. Показник ШОЕ на момент виписки у осіб з генотипом *1/*1 зменшився в 2,2 разу ($P<0,01$; $CI=-9,28...-18,10$), в групі *1/*2, *1/*3 - майже в 1,8 разу ($P<0,01$; $CI=-3,69...-15,03$) відносно вихідного рівня. Наприкінці стаціонарного лікування в усіх трьох групах середній рівень ШОЕ був в межах норми. В усіх

групах майже однаково знизилась кількість лейкоцитів в периферичній крові - на 18,2 % у носіїв генотипу $*1/*2$, $*1/*3$ ($P<0,01$; $CI=-0,42\dots-2,02$), на 39,8 % у носіїв генотипу $*1/*1$ ($P<0,001$; $CI=-1,25\dots-3,69$). Також в усіх досліджених групах знизилась частка хворих, які мали лейкоцитоз, зокрема у індивідів з генотипом $*1/*2$, $*1/*3$ - з 38,9 до 11,1 % ($P<0,05$; $\chi^2=7,41$), а серед носіїв генотипу $*2/*3$, $*3/*3$ - взагалі зникли (рис. 5.8).

В результаті стаціонарного лікування відбулись певні зміни у лейкоцитарній формулі хворих на туберкульоз. Зокрема, зросла частка лімфоцитів - на 19,8 % ($P<0,001$; $CI=8,85\dots3,31$) в групі $*1/*1$, на 19,6 % ($P<0,001$; $CI=8,98\dots2,60$) в групі $*1/*2$, $*1/*3$ і на 16,7 % ($P<0,01$; $CI=7,82\dots2,32$) в групі $*2/*3$, $*3/*3$ (рис. 5.8).



@ - $P<0,05$ (відносно відповідної групи на початку лікування)

Рис. 5.8. Кількість хворих з патологічними зсувами у периферичній крові наприкінці стаціонарного лікування згідно генотипу *CYP2C9*.

Водночас в результаті лікування зросла кількість хворих з відносним лімфоцитозом - майже в 4 рази у диких гомозигот (8,0 проти 32,7 %; $P<0,05$; $\chi^2=9,33$), в 5,6 рази у диких гетерозигот (5,9 проти 33,3 %; $P<0,05$; $\chi^2=7,41$). При цьому серед носіїв виключно варіантних алелей кількість таких хворих дещо знизилась (33,3 проти 25,0 %; $P>0,05$). На момент закінчення стаціонарного лікування частка моноцитів у лейкоцитарній формулі була найбільшою в групі

*1/*2, *1/*3 і перевищувала відповідний показник хворих з генотипом *1/*1 на 13,9 % ($P < 0,05$; $CI = 1,36 \dots 0,02$).

В результаті стаціонарного лікування знизилась кількість гранулоцитів – на 7,8 % ($P < 0,05$; $CI = -1,59 \dots -7,59$), на 11,3 % ($P < 0,001$; $CI = -3,56 \dots -9,72$) і на 9,4 % ($P < 0,01$; $CI = -1,96 \dots -9,24$) у хворих з генотипами *1/*1 і *1/*2, *1/*3, і *2/*3, *3/*3 відносно вихідного рівня. Водночас як на початку, так і наприкінці стаціонарного лікування відносна кількість гранулоцитів не відрізнялась між хворими із різним генотипом *CYP2C9*.

На початку лікування вірогідна різниця між різними групами згідно генотипу *CYP2C9* щодо біохімічних показників крові була відсутня, за виключенням рівня ГГТ, за яким хворі з генотипами *2/*3, *3/*3 перевищували осіб з генотипами *1/*2, *1/*3 на 38,8 % ($P < 0,05$; $CI = 16,05 \dots 3,23$) (табл. 5.13).

Таблиця 5.13

Біохімічні показники крові до початку та після стаціонарного лікування в залежності від генотипу *CYP2C9* (Mean±SEM)

Група	n	Білірубін, мкМ/л	Тимолова проба, Од	АлАТ, Од/л	АсАТ, Од/л	ГГТ, Од/л
НА ПОЧАТКУ ЛІКУВАННЯ						
*1/*1	58	13,80±0,83	2,24±0,15	21,00±1,48	24,68±1,02	30,21±2,52
*1/*2, *1/*3	22	15,73±0,97	1,84±0,19	19,21±1,29	25,07±1,23	24,86±1,14
*2/*3, *3/*3	6	16,90±2,23	2,08±0,26	20,33±1,25	21,03±1,25	34,50±1,32 #
ПІСЛЯ СТАЦІОНАРНОГО ЛІКУВАННЯ						
*1/*1	58	12,79±0,42	2,07±0,16	25,72±1,56 @	27,93±1,32	37,00±2,65 #
*1/*2, *1/*3	22	11,59±0,34 *@	2,29±0,16	22,86±1,32 @	27,08±0,91	25,36±0,72
*2/*3, *3/*3	6	14,83±1,09 #	1,85±0,31	29,50±3,89 @	25,00±1,56	39,00±5,65 #

Примітки:

1. * - $P < 0,05$ (відносно відповідної групи з генотипом *1/*1);
2. # - $P < 0,05$ (відносно відповідної групи з генотипом *1/*2; *1/*3);
3. @ - $P < 0,05$ (відносно відповідних значень до початку лікування).

Також у носіїв генотипу *2/*3, *3/*3 був найвищий рівень загального білірубіну і активність ГГТ, у хворих з генотипом *1/*2, *1/*3 відзначались найбільш низки показники ГГТ, АлАТ і тимолової проби серед усіх груп.

На момент завершення стаціонарного лікування в усіх групах хворих спостерігалось певне зниження загального білірубіну, але лише у носіїв генотипу *1/*2, *1/*3 цей процес мав вірогідний характер (-26,3%; $P < 0,001$; $CI = -2,08 \dots -6,20$). При цьому особи з генотипом *1/*1 і *1/*2, *1/*3 мали загальний білірубін вищий на 28,0 % ($P < 0,001$; $CI = 5,06 \dots 1,42$) і 10,4 % ($P < 0,05$; $CI = 0,01 \dots 2,39$) відповідно відносно індивідів з генотипами *2/*3, *3/*3. Показники тимолової проби не відрізнялись між групами як на початку, так і наприкінці лікування, хоча у індивідів з генотипами *1/*2, *1/*3 була певна тенденція до її зростання, у решти груп – навпаки, деяке зниження.

Під час стаціонарного лікування відбулось зростання активності АлТ в усіх трьох групах – на 22,5 % ($P < 0,05$; $CI = 8,99 \dots 0,45$), на 19,0 % ($P < 0,05$; $CI = 7,34 \dots 0,04$) і на 45,1 % ($P < 0,05$; $CI = 18,27 \dots 0,07$) у «швидких», «помірних» і «повільних метаболізаторів» відповідно відносно початкового рівня. При цьому найвищий рівень АлАТ спостерігався в останній групі.

В результаті стаціонарного лікування також відбулось певне зростання показників АсАТ ($P > 0,05$), причому найвища активність спостерігалась у диких гомозигот, а найменша – у варіантних гомозигот. Також відбулось невірогідне зростання активності ГГТ у носіїв генотипів диких і варіантних гомозигот ($P > 0,05$).

При порівнянні показників про- і антиоксидантної систем у хворих на туберкульоз з різним генотипом 2С9 було встановлено, що найбільший вміст ДК в крові спостерігався у носіїв генотипів *2/*3, *3/*3, найменший вміст – *1/*2, *1/*3 ($P > 0,05$) (табл. 5.14). Водночас в останній групі спостерігалась найнижча активність каталази – вона була на 22,5 % ($P > 0,01$; $CI = -0,01 \dots -0,05$) і на 50,7 % ($P > 0,01$; $CI = -0,12 \dots -0,02$) нижче відносно групи *1/*1 і *1/*2, *1/*3.

Отже, було встановлено, що в результаті стаціонарного лікування незалежно від генотипу 2С9 у хворих на ТБ відбулось зниження ШОЕ, кількості лейкоцитів, відносної кількості гранулоцитів, водночас зросла відносна

кількість лімфоцитів, що розцінюється як ознака ефективного лікування [331]. Причому як на початку, так і наприкінці хворі з генотипом *2/*3, *3/*3 мали найбільшу кількість еритроцитів і вміст гемоглобіну, водночас найнижчий рівень ШОЕ, що можливо свідчило про менші явища інтоксикації, що супроводжували туберкульозну інфекцію у цієї категорії хворих.

Таблиця 5.14

Показники про- та антиоксидантної систем на початку лікування в залежності від поліморфізму *CYP2C9* (Mean±SEM)

Генотип <i>CYP2C9</i>	n	Дієнові кон'югати, моль/л	Каталаза, мкат/л	Антиоксидантний індекс
*1/*1	58	1,601±0,034	0,169±0,010	0,108±0,004
*1/*2, *1/*3	22	1,576±0,029	0,138±0,011*#	0,103±0,014
*2/*3, *3/*3	6	1,609±0,021	0,208±0,038	0,131±0,029

Примітки:

1. * - $P < 0,05$ (відносно хворих з генотипом *CYP2C9**1/*1);
2. # - $P < 0,05$ (відносно *2/*3; *3/*3).

Під час стаціонарного лікування у всіх категорій хворих на туберкульоз легень зросли маркери функціонування печінки (АлАТ, АсАТ, ГГТ), водночас вміст білірубину дещо знизився. Важливо, що найбільша активність показників ураження печінки – АлАТ і особливо ГГТ спостерігались у носіїв генотипу *2/*3, *3/*3, що згідно попередніх даних мали найбільшу концентрацію рифампіцину й ізоніазиду під час лікування, що з одного боку може впливати на ефективність лікування, а з іншого – обумовлювати більш тривалу і виразну гепатотоксичну дію протитуберкульозних препаратів. Це корелювало з найбільшою концентрацією ДК в крові у хворих з *2/*3, *3/*3 на початку лікування, що може розглядатись як своєрідний предиктор гепатотоксичності протитуберкульозної терапії. З іншого боку, висока активність каталази крові у вище згаданій категорії можливо свідчить про значну активність антиоксидантної системи (АОС) у цієї групи хворих [332].

5.3. Наслідки лікування туберкульозу легень в залежності від генотипу *CYP2E1*

Відповідно до генотипу *CYP2E1* у 38,4 % хворих з генотипом **DD* і 55,6 % з генотипами **CD*, **DD* спостерігалось двохстороннє ураження легень (табл. 5.15).

Таблиця 5.15

Характеристика ТБ легень в залежності від генотипу *CYP2E1*

Характеристика туберкульозного процесу		На початку лікування, (%)		Наприкінці стаціонар. лікування, (%)	
		<i>*DD</i> , n=77	<i>*CC</i> , <i>*CD</i> , n=9	<i>*DD</i> , n=77	<i>*CC</i> , <i>*CD</i> , n=9
Поширення	обидві легені	30 (39,0)	5 (55,6)	28 (36,4)	4 (44,4)
	частини легені	47 (61,0)	4 (44,4)	49 (63,6)	5 (55,6)
Деструкція	є	33 (42,9)	6 (66,7)	16 (20,8)	4 (44,4)
	нема	44 (57,1)	3 (33,3)	61 (79,2)	5 (55,6)
Стадія ураження	інфільтрація	44 (57,1)	5 (55,6)	4 (5,2)#	3 (33,3)*
	розпад	14 (18,2)	1 (11,1)	5 (6,5)#	-
	обсіменіння	19 (24,7)	3 (33,3)	1 (1,3)#	-
	розсмоктування	-	-	67 (87,0)	6 (66,7)
Категорія хворих	1	56 (72,7)	7 (77,8)	50 (64,9)	6 (66,7)
	2	5 (6,5)	2 (22,2)	3 (3,9)	1 (11,1)
	3	16 (20,8)	-	8 (10,4)	-
	4	-	-	16 (20,8)	2 (22,2)

Примітки:

1. # - $P < 0,05$ (відносно вихідного рівня відповідної групи);
2. * - $P < 0,05$ (відносно хворих з генотипом **DD*).

Згідно клінічної форми, у двох-третьох хворих обох груп спостерігався інфільтративний ТБ, у решти – дисемінований і вогнищевий ТБ (рис. 5.9). Серед хворих з генотипом **DD* процеси розпаду і обсіменіння мали місце у 18,2 і 24,7 % відповідно. В той же час у пацієнтів з генотипами **CD*, **CC* вказані процеси спостерігались у 11,1 і 33,3 % відповідно.

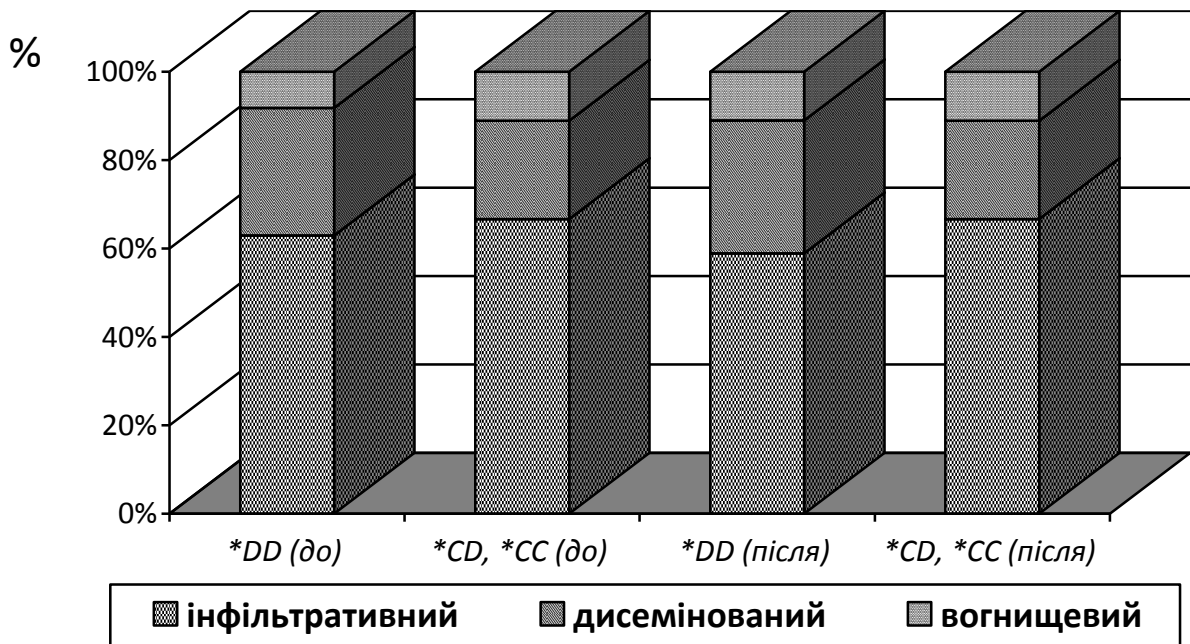
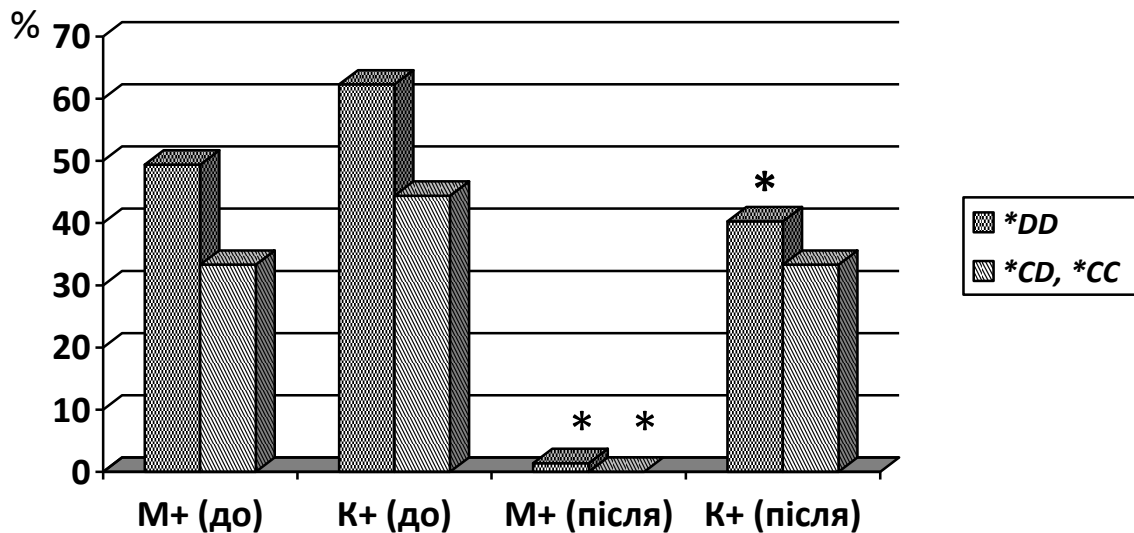


Рис. 5.9 Характер ураження легень з урахуванням генотипу *CYP2E1* на початку (до) і наприкінці (після) стаціонарного лікування.

На початку стаціонарного лікування незалежно від генотипу за даними мікроскопії бактеріовиділення відзначалось приблизно у половини хворих з генотипом **DD* і третини хворих групи **CD*, **CC* (рис. 5.10). Згідно посіву 62,3 % хворих з генотипом *DD* і 44,4 % хворих з генотипами **CD*, **CC* виділяли збудника туберкульозу.

Більшість хворих з генотипами **DD* і **CD*, **CC* належали до I категорії – 72,7% і 77,8% відповідно. Решта хворих належала або до III категорії (генотип **DD*), або II категорії (генотипи **CD*, **CC*). Таким чином, на початку лікування хворі, вірогідних відмінностей між групами щодо генотипу *CYP2E1* не було, хоча в групі **CD*, **CC* дещо частіше спостерігались явища деструкції, ніж серед індивідів з генотипом **DD*.



* - $P < 0,05$ (відносно відповідної групи на початку лікування)

Рис. 5.10. Кількість хворих, які виділяли збудника туберкульозу згідно бактеріоскопії (M+) або культурального методу (K+) залежно від генотипу *CYP2E1* на початку (до) або наприкінці (після) стаціонарного лікування.

Тривалість стаціонарного лікування вірогідно не відрізнялась між особами з різними генотипами *CYP2E1* і становила $96,2 \pm 9,3$ дня для групи *DD і $93,1 \pm 7,9$ дня для групи *CD, *CC.

Наприкінці стаціонарного лікування процеси деструкції зберігались у 20,8 % хворих з генотипом *DD і 44,4 % хворих з генотипами *CD, *CC (табл. 5.16). Припинення деструкції спостерігалось у половини носіїв генотипу *DD і третини носіїв генотипів *CD, *CC. Найбільш тривале припинення деструкції спостерігалось в групі з генотипом *CD, *CC – 59,7 дня, дещо швидше - в групі з генотипом *DD – 53,5 дні (табл. 5.16).

Як і на початку, так і при завершенні стаціонарного лікування у більшості пацієнтів з генотипом *DD і *CD, *CC (58,9 і 66,7 % відповідно) спостерігалась інфільтративна форма туберкульозного процесу. Співвідношення інших форма туберкульозу також практично не змінилось під час лікування. В результаті проведеного стаціонарного лікування кількість хворих з генотипом *DD з явищами інфільтрації знизилась в 11,0 разів ($P < 0,05$; $\chi^2 = 48,43$), водночас зменшення кількості хворих з явищами інфільтрації серед групи з генотипом *CD, *CC мало невірогідний характер. При цьому на момент завершення

стаціонарного лікування явища інфільтрації спостерігались в групі **CD*, **CC* в 6,4 разів частіше, ніж в групі **DD* ($P < 0,05$; $\chi^2 = 8,53$). Серед хворих з генотипом **DD* в результаті стаціонарного лікування в 2,8 разу зменшилась кількість індивідів з ознаками розпаду ($P < 0,05$; $\chi^2 = 4,86$) і в 19 разів – ознаки обсіменіння ($P < 0,05$; $\chi^2 = 18,61$). Також припинились явища розпаду і обсіменіння серед носіїв генотипу **CD*, **CC*. В той же час явища розсмоктування і ущільнення в легеневій тканині спостерігалось у 87,0 % хворих з генотипом **DD* і 66,7 % з генотипом **CD*, **CC*.

Таблиця 5.16

Припинення процесу деструкції і бактеріовиділення в залежності від генотипу *CYP2E1*

Група хворих	Припинення процесу деструкції		Припинення бактеріовиділення за даними			
			мікроскопії		посіву	
	кількість хворих (%)	тривалість (днів) \pm SEM	кількість хворих (%)	тривалість (днів) \pm SEM	кількість хворих (%)	тривалість (днів) \pm SEM
* <i>DD</i> , n=77	15/33 (45,5)	53,50 \pm 6,02	37/38 (97,4)	56,83 \pm 6,38	17/48 (35,4)	67,11 \pm 10,37
* <i>CC</i> , * <i>CD</i> , n=9	2/6 (33,3)	59,71 \pm 5,62	3/3 (100)	62,00 \pm 2,12	1/4 (25,0)	95,00 \pm 11,67

Незалежно від генотипу співвідношення хворих з двостороннім і одностороннім ураженням легень майже не змінилось в результаті стаціонарного лікування. Протягом стаціонарного лікування кількість хворих з генотипом **DD*, які належали до 4 категорії (що мали хіміорезистентний туберкульоз), зросла на 20,8 % ($P < 0,05$; $\chi^2 = 14,98$), хворих з генотипами **CD*, **CC* – на 22,2 % ($P > 0,05$). При цьому при завершенні стаціонарного лікування в обох групах близько 22 % хворих належали до 4 категорії.

За даними мікроскопії бактеріовиділення на момент виписки зі стаціонару було відсутнім у 100 % носіїв генотипів **CD*, **CC*, а також у 98,7 носіїв генотипу **DD*. Припинення бактеріовиділення при цьому відбулось у 97,4 % індивідів з генотипом **DD* і 100 % - з генотипами **CD*, **CC*. При цьому тривалість конверсії бактеріовиділення склало 56-62 дні. Згідно даних культурального методу наприкінці стаціонарного лікування бактеріовиділення спостерігалось приблизно у 40,3 % носіїв генотипу **DD* і у третини хворих з генотипами **CD*, **CC*, при цьому в першій групі відбулось зниження частоти бактеріовиділення в 1,5 рази ($P < 0,05$; $\chi^2 = 7,51$). Бактеріовиділення за даними посіву припинилось у 35,4 % хворих з генотипом **DD* і у 25,0 % хворих з генотипами **CD*, **CC*. Водночас період припинення бактеріовиділення складав $72,11 \pm 8,37$ дня для пацієнтів з генотипом **DD* і $85,00 \pm 9,67$ дня для пацієнтів з генотипами **CD*, **DD*.

Отримані дані засвідчили, що на початку лікування у хворих з різними генотипами *CYP2E1* майже не було відмінностей у формі і тяжкості захворювання, хоча в групі хворих з генотипами **CD*, **CC* дещо частіше спостерігались явища деструкції в легеневій тканині, ніж у хворих з генотипом **DD*. Наприкінці стаціонарного лікування у хворих з генотипом *DD* рідше залишались процеси інфільтрації легеневої тканини і дещо частіше спостерігались явища розсмоктування інфільтратів, ніж у носіїв генотипу *CD*, *CC*. Можливо це пов'язано з відмінностями у біотрансформації деяких протитуберкульозних препаратів в залежності від генотипу *CYP2E1*. Водночас розбіжності у генотипі *CYP2E1* практично не впливали на поширеність мультирезистентних штамів *M.tuberculosis*.

Отже, на початку лікування хворі на ТБ легень, які мали відмінності генотипу *CYP2E1*, майже не мали відмінностей у формі і тяжкості туберкульозного процесу. Наприкінці стаціонарного лікування у носіїв генотипів **CD*, **CC* частіше зберігались явища інфільтрації легеневої тканини і довше продовжувалось бактеріовиділення згідно посіву, ніж у носіїв генотипу **DD*.

Лабораторні показники у хворих на туберкульоз легень в залежності від генотипу *CYP2E1* зазнали наступних змін. На початку лікування кількість еритроцитів, вміст гемоглобіну і МСНС вірогідно не відрізнялась між групами хворих на ТБ легень з різним генотипом *CYP2E1* ($P>0,05$) (табл. 5.17, рис. 5.11).

Таблиця 5.17

Показники «червоної крові» та ШОЕ в залежності від генотипу *CYP2E1* (Mean±SEM)

Група	n	Кількість еритроцитів, Т/л	Гемоглобін, г/л	МСНС	ШОЕ, мм/год
НА ПОЧАТКУ ЛІКУВАННЯ					
*DD	77	4,72±0,04	122,90±1,51	275,62±0,98	22,56±1,62
*CD, *CC	9	4,76±0,06	120,00±2,61	274,14±1,42	25,00±2,34
ПІСЛЯ СТАЦІОНАРНОГО ЛІКУВАННЯ					
*DD	77	4,69±0,05	125,05±1,42	285,41±2,64#	9,80±0,80#
*CD, *CC	9	4,77±0,12	116,43±2,78*	274,57±3,04*	12,00±2,38#

Примітки:

1. * - $P<0,05$ відносно відповідної групи з генотипом *DD;
2. # - відносно відповідної групи на початку лікування.

Також між носіями різних генотипів *2E1* кількість та формула лейкоцитів в периферичній крові майже не відрізнялась. Водночас серед носіїв генотипу *DD дещо вищим був рівень лейкоцитів в периферичній крові і нижчим показник ШОЕ, ніж у пацієнтів з генотипом *CD, *CC (табл. 5.18). У 29,5 % пацієнтів з генотипом *DD і третини хворих з генотипами *CD, *CC відзначався лейкоцитоз у периферичній крові; підвищення ШОЕ спостерігалось у 62,3 % пацієнтів з генотипом *DD і 77,8 % хворих з генотипом *CD, *CC (рис. 5.11). Наприкінці стаціонарного лікування рівень еритроцитів у хворих на ТБ легень практично не змінився у порівнянні з початковими показниками. Водночас рівень гемоглобіну і МСНС були на 7,4 % ($P<0,05$; CI=0,64...16,60) і на 3,9 %

($P < 0,05$; $CI = -30,69 \dots -1,63$) вище у хворих з генотипом **DD*, ніж у носіїв генотипу **CD*, **CC*.

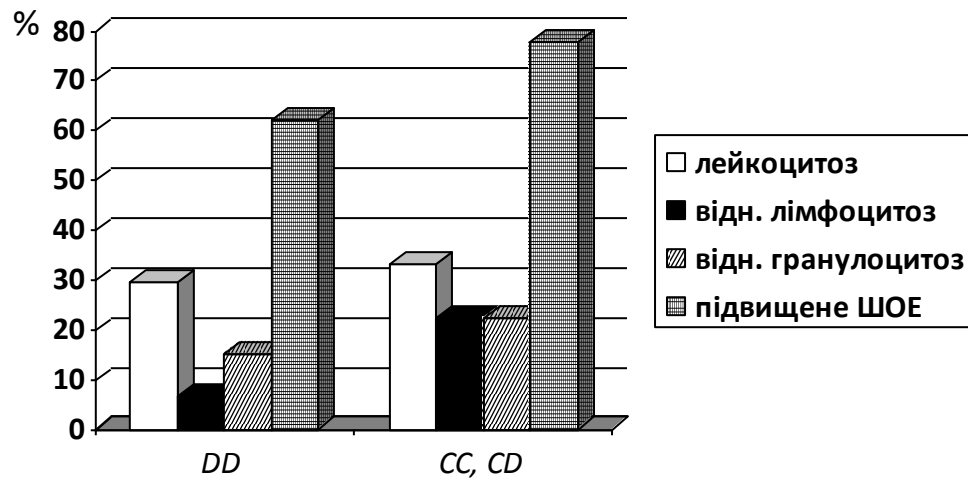


Рис. 5.11. Кількість хворих з патологічними зсувами у периферичній крові на початку стаціонарного лікування згідно генотипу *CYP2E1*.

Таблиця 5.18

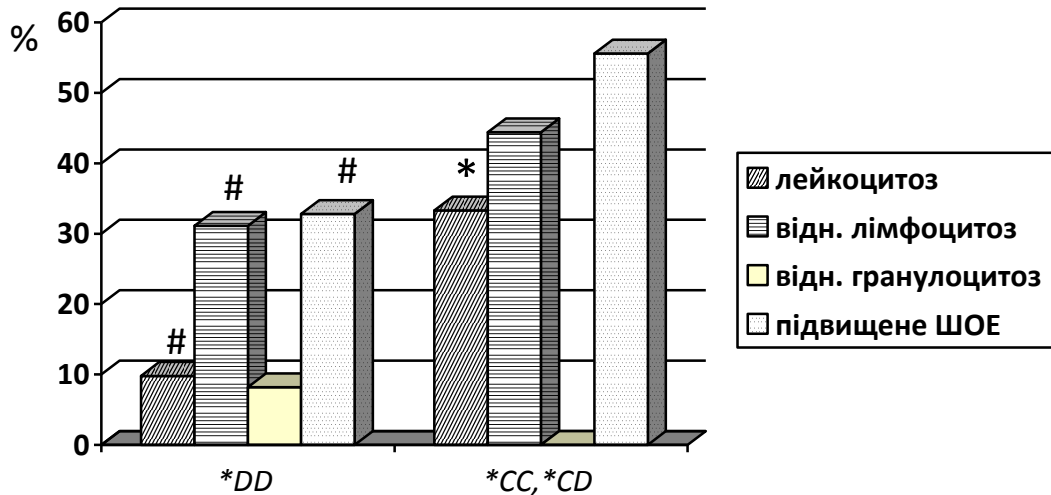
Показники «білої крові» в залежності від генотипу *CYP2E1* (Mean \pm SEM)

Генотип <i>CYP2E1</i>	n	Кількість лейкоцитів, Г/л	Лімфоцити, %	Моноцити, %	Гранулоцити, %
НА ПОЧАТКУ ЛІКУВАННЯ					
<i>*DD</i>	77	8,15 \pm 0,23	29,87 \pm 0,78	4,96 \pm 0,14	64,69 \pm 0,83
<i>*CD</i> , <i>*CC</i>	9	7,39 \pm 0,54	31,01 \pm 1,92	4,76 \pm 0,37	64,21 \pm 1,98
ПІСЛЯ СТАЦІОНАРНОГО ЛІКУВАННЯ					
<i>*DD</i>	77	6,43 \pm 0,19#	36,38 \pm 0,90#	5,11 \pm 0,14	58,34 \pm 0,92#
<i>*CD</i> , <i>*CC</i>	9	6,58 \pm 0,68	37,69 \pm 2,31#	4,94 \pm 0,29	57,33 \pm 2,21#

Примітка. # - відносно відповідної групи на початку лікування.

В результаті стаціонарного лікування МСНС у хворих з генотипом **DD* зросла на 3,6 % ($P < 0,001$; $CI = -15,36 \dots -4,22$). Показник ШОЕ на момент виписки

у пацієнтів з генотипом **DD* зменшився в 2,3 разу ($P < 0,001$; $CI = 11,13 \dots 14,39$), у хворих з генотипами **CD*, **CC* - майже в 2,1 разу ($P < 0,001$; $CI = 5,99 \dots 20,01$) відносно вихідного рівня. Кількість хворих с генотипом **DD* і підвищеною ШОЕ зменшилась в 1,9 разу ($P < 0,05$; $\chi^2 = 7,45$), з генотипами **CD*, **CC* - зменшилась на 22,2 % ($P > 0,05$) відносно початкового рівня (рис. 5.12).



* - $P < 0,05$ (відносно відповідної групи з генотипом **DD*)

- $P < 0,05$ (відносно відповідної групи на початку лікування)

Рис. 5.12. Кількість хворих з патологічними зсувами у периферичній крові на прикінці стаціонарного лікування згідно генотипу *CYP2E1*.

В результаті стаціонарного лікування середній рівень лейкоцитів знизився у носіїв генотипу **DD* на 26,7 % ($P < 0,001$; $CI = 1,13 \dots 2,31$), генотипів **CD*, **CC* - на 12,3% ($P > 0,05$) відносно початкового рівня.

При завершенні стаціонарного лікування відсоток лімфоцитів у лейкоцитарній формулі у хворих з генотипом **DD* зріс на 21,8 % ($P < 0,001$; $CI = -8,86 \dots -4,16$), з генотипами **CD*, **CC* - на 21,5 % ($P < 0,05$; $CI = -12,99 \dots -0,37$). Також під час лікування кількість хворих з генотипом **DD* з відносним лімфоцитозом зростає в 4,6 разу ($P < 0,05$; $\chi^2 = 11,78$), з генотипами **CD*, **CC* - в 2 рази ($P > 0,05$). В той же час, зменшилась частка гранулоцитів в лейкоцитарній формулі - на 10,9 % у хворих з генотипом **DD* ($P < 0,001$; $CI = 3,90 \dots 8,80$) і на 12,0 % з генотипами **CD*, **CC* ($P < 0,05$; $CI = 0,64 \dots 13,12$). Водночас як на

початку, так і наприкінці стаціонарного лікування відносна кількість моноцитів моноцитів не відрізнялась між хворими із різними генотипами *2E1*.

На початку лікування у хворих з генотипом **DD* рівень білірубину був вище, ніж у носіїв генотипів **CD*, **CC* на 33,2 % ($P < 0,05$; $CI = 0,13 \dots 7,17$), АлАТ – на 65,6 % ($P < 0,01$; $CI = 2,79 \dots 15,97$), ГГТ – на 41,0 % ($P < 0,05$; $CI = 1,48 \dots 16,72$) (табл. 5.19). Крім того серед хворих з генотипом **DD* частіше зустрічались хворі з підвищеними біохімічними показниками, ніж серед носіїв генотипів **CD*, **CC*, хоча різниця була невірогідною у зв'язку з малою кількістю хворих в останній групі (рис. 5.13).

Співпадали з початковими біохімічними показниками і індикатори про-/антиоксидантної систем крові у хворих на туберкульоз. Зокрема, рівень ДК у носіїв генотипу **DD* був на 8,6 % вище ($P < 0,05$; $CI = 0,06 \dots 2,60$), а активність каталази і антиоксидантний індекс – в 2 рази ($P < 0,001$; $CI = -1,78 \dots -1,04$) і 2,2 рази ($P < 0,001$; $CI = -1,33 \dots -0,75$) нижче, ніж у носіїв генотипів **CD*, **CC* (табл. 5.20).

Таблиця 5.19

Біохімічні показники крові в залежності від генотипу *CYP2E1* (Mean \pm SEM)

Група	N	Білірубин, мкМ/л	АлАТ, Од/л	АсАТ, Од/л	ГГТ, Од/л
НА ПОЧАТКУ ЛІКУВАННЯ					
<i>*DD</i>	77	14,63 \pm 0,64	23,67 \pm 1,20	26,65 \pm 1,12	31,27 \pm 1,39
<i>*CD</i> , <i>*CC</i>	9	10,98 \pm 0,77*	14,29 \pm 1,30*	20,29 \pm 1,07	22,17 \pm 1,44*
ПІСЛЯ СТАЦІОНАРНОГО ЛІКУВАННЯ					
<i>*DD</i>	77	13,12 \pm 0,48	28,02 \pm 1,11#	29,37 \pm 1,15	33,43 \pm 1,26
<i>*CD</i> , <i>*CC</i>	9	11,96 \pm 0,51	18,71 \pm 1,09##*	23,71 \pm 1,07##*	29,14 \pm 2,18#

Примітки:

1. * - $P < 0,05$ (відносно відповідної групи з генотипом **DD*);
2. # - $P < 0,05$ (відносно відповідної групи на початку лікування).

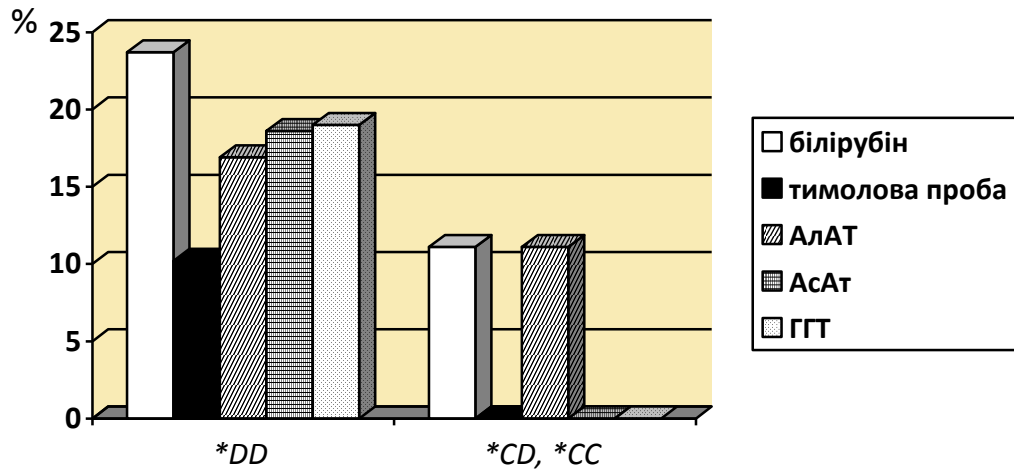


Рис. 5.13. Кількість хворих з патологічними зсувами біохімічних показників крові на початку стаціонарного лікування згідно генотипу *CYP2E1*.

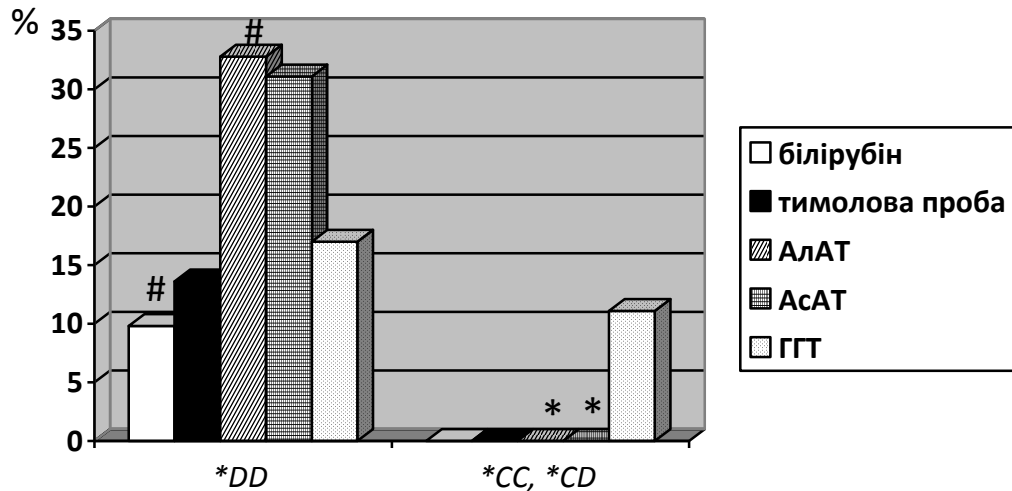
Таблиця 5.20

Показники про- та антиоксидантної систем в залежності від генотипу *CYP2E1* (Mean±SEM)

Генотип <i>CYP2E1</i>	n	Дієнові кон'югати, моль/л	Каталаза, мкат/л	Антиоксидантний індекс
*DD	77	1,686±0,019	0,146±0,005	0,086±0,003
*CD, *CC	9	1,553±0,107*	0,287±0,032*	0,193±0,026*

Примітка. * - $P < 0,05$ (відносно відповідної групи з генотипом *DD).

На момент завершення стаціонарного лікування в усіх групах хворих спостерігалось певне зниження рівня загального білірубіну, але цей процес мав невірогідний характер. Також в 2,4 разу зменшилась кількість хворих з генотипом *DD, які мали гіпербілірубінемію, ($P < 0,05$; $\chi^2 = 4,17$) і зовсім були відсутні такі випадки серед хворих з генотипами *CD, *CC (рис. 5.14). Показники тимолової проби мали тенденцію до зростання у носіїв генотипу *DD і тенденцію до зниження у хворих з генотипами *CD, *CC ($P > 0,05$). Під час стаціонарного лікування показники АлАТ зросли на 18,4 % ($P < 0,01$; CI=-7,58...-1,12) у носіїв генотипу *DD і на 30,9 % ($P < 0,05$; CI=-7,98...-0,86) у хворих з генотипом *CD, *CC.



* - $P < 0,05$ (відносно відповідної групи з генотипом *DD)

- $P < 0,05$ (відносно відповідної групи на початку лікування)

Рис. 5.14. Кількість хворих з патологічними зсувами біохімічних показників крові наприкінці стаціонарного лікування згідно генотипу *CYP2E1*.

Також майже в 2 рази зросла кількість хворих з підвищеною активністю АлАТ серед хворих з генотипом *DD ($P < 0,05$; $\chi^2 = 4,01$). Наприкінці стаціонарного лікування рівень АсАТ у носіїв генотипу *DD зріс на 10,2 % ($P > 0,05$), у осіб з генотипами *CD, *CC - на 16,9 % ($P < 0,05$; $CI = -6,59 \dots -0,25$). Рівень ГГТ в плазмі крові у носіїв генотипу *DD збільшився на 6,9 % ($P > 0,05$), у пацієнтів з генотипами *CD, *CC - на 31,4 % ($P < 0,05$; $CI = -12,46 \dots -1,48$). Наприкінці лікування у хворих з генотипом *DD рівень АсАТ і АлАТ була вище, ніж у хворих з генотипами *CD, *CC, на 49,5 % ($P < 0,001$; $CI = 9,37 \dots 21,95$) і на 23,9 % ($P < 0,01$; $CI = 3,21 \dots 15,41$) відповідно. Також серед пацієнтів з генотипами *CD, *CC взагалі були відсутні хворі з підвищеною активністю АлАТ і АсАТ, водночас у індивідів з генотипом *DD цей показник складав 32,8 % ($P < 0,05$; $\chi^2 = 4,13$) і 31,1 % ($P < 0,05$; $\chi^2 = 3,85$) відповідно.

Отже, було встановлено, що в результаті стаціонарного лікування незалежно від генотипу *CYP2E1* у хворих на ТБ легень відбулось зниження ШОЕ, кількості лейкоцитів, відносної кількості гранулоцитів, водночас зросла відносна кількість лімфоцитів, що розцінюється як ознака ефективного лікування [331]. Причому наприкінці хворі з генотипами *CD, *CC мали

менший рівень гемоглобіну і середню концентрацію гемоглобіну в еритроциті, а також більшу кількість лейкоцитів в периферичній крові і вищий показник ШОЕ, ніж хворі з генотипом *DD. Це свідчило про більш тяжкий перебіг туберкульозного процесу у хворих з генотипами *CD, *CC, ніж у пацієнтів з генотипом *DD.

Вже на початку стаціонарного лікування біохімічні показники були більш високими у хворих з генотипом *DD, ніж у носіїв генотипів *CD, *CC, особливо це стосувалось таких показників як АлАТ, ГГТ, білірубину. Під час стаціонарного лікування у всіх категорій хворих на туберкульоз легень зросли маркери функціонування печінки (АлАТ, АсАТ, ГГТ), водночас вміст білірубину дещо знизився. Важливо, що наприкінці стаціонарного лікування більш високі біохімічні показники крові, особливо АлАТ, АсАТ, ГГТ спостерігались у носіїв генотипу *DD, що обумовлює більш високий ризик розвитку ураження печінки під час хіміотерапії ТБ легень саме у цієї категорії хворих. Це корелювало з більшою концентрацією ДК в крові і низькою активністю каталази плазми у хворих з генотипом *DD у порівнянні з хворими, які мали генотипи *CD, *CC.

5.4. Особливості перебігу туберкульозу легень в залежності від генотипу *NAT2*

На початку стаціонарного лікування процеси деструкції спостерігались у 51,5 % «швидких ацетиляторів» (ША) і 39,6 % «повільних ацетиляторів» (ПА). Менше половини хворих мали двохстороннє ураження легень (36,4 % ША і 45,3 % ПА) (табл. 5.21). Згідно клінічної форми, дисемінація туберкульозного процесу спостерігалась більш, ніж в 3 рази частіше у ША порівняно з ПА ($P < 0,05$; $\chi^2 = 3,94$ при критичному значенні тут і далі 3,84) (рис. 5.15). У 22,0 % ПА туберкульозний процес мав вогнещевий характер, водночас серед ША на початку лікування він не відзначався взагалі ($P < 0,05$; $\chi^2 = 4,94$). Серед «швидких ацетиляторів» процеси обсіменіння і розпаду мали місце у 36,4 і 18,2 % відповідно.

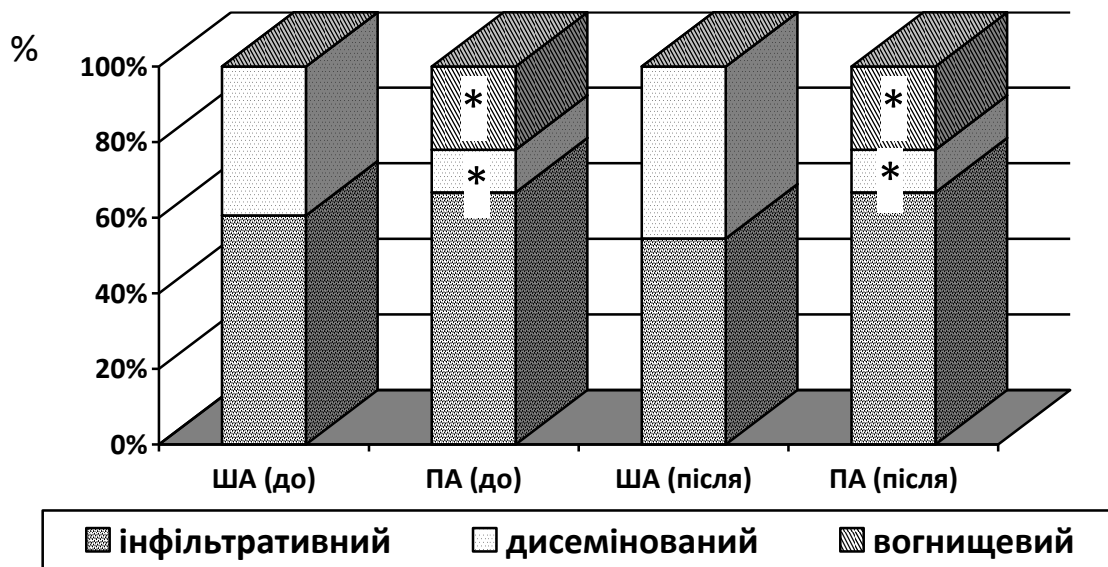
Таблиця 5.21

Характеристика туберкульозного процесу в залежності від генотипу *NAT2*

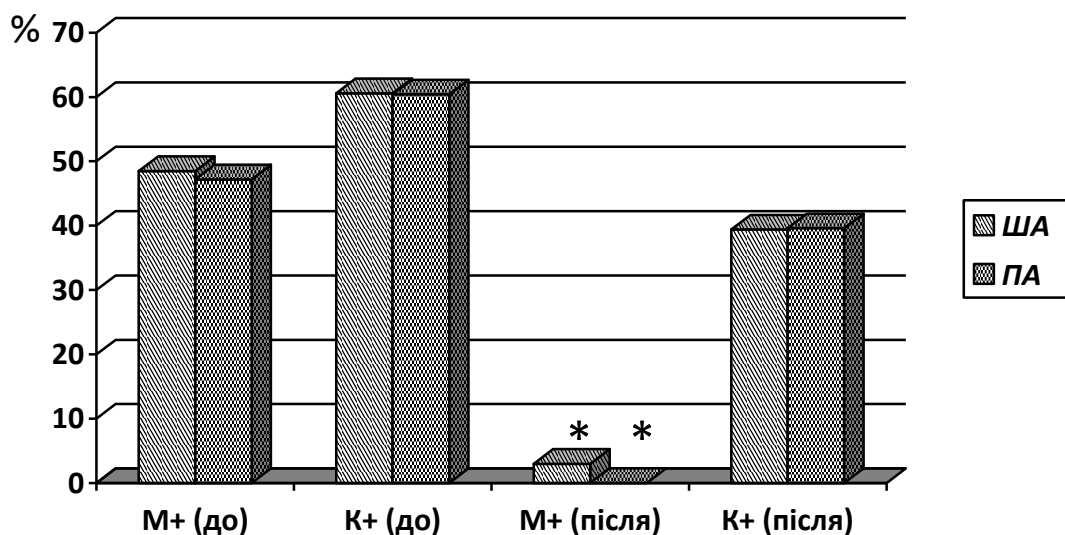
Характеристика туберкульозного процесу		На початку лікування, (%)		Наприкінці стаціонар. лікування, (%)	
		ША, n=33	ПА, n=53	ША, n=33	ПА, n=53
Поширення	обидві легені	12 (36,4)	24 (45,3)	11 (33,3)	20 (37,7)
	частини легені	21 (63,6)	29 (54,7)	22 (66,7)	33 (62,3)
Деструкція	є	17 (51,5)	21 (39,6)	9 (27,3)*	13 (24,5)
	нема	16 (48,5)	32 (60,4)	24 (72,7)	40 (75,5)
Стадія ураження	інфільтрація	15 (45,5)	30 (56,6)	3 (9,1)*	2 (3,8)*
	розпад	6 (18,2)	8 (15,1)	2 (6,1)	4 (7,5)
	обсіменіння	12 (36,4)	15 (28,3)	0*	1 (1,9)*
	розсмоктування	-	-	28 (84,8)*	46 (86,8)*
Категорія хворих	1	26 (78,8)	36 (67,9)	19 (57,6)	39 (73,6)
	2	3 (9,1)	5 (9,4)	1 (3,0)	3 (5,7)
	3	4 (12,1)	12 (22,6)	2 (6,1)	6 (11,3)
	4	-	-	11 (33,3)*	5 (9,4)*#

Примітки:

1. # - $P < 0,05$ (відносно ША);
2. * - $P < 0,05$ (відносно вихідного рівня).

* - $P < 0,05$ (відносно групи ША)Рис. 5.15. Характер ураження легень з урахуванням генотипу *NAT2* на початку (до) і наприкінці (після) стаціонарного лікування.

В той же час серед «повільних ацетиляторів» вказані процеси спостерігались у 28,3 і 15,1 % відповідно. Незалежно від генотипу ацетилювання бактеріовиділення відзначалось у 48,0 % (за даними мікроскопії) і 61,0 % (за даними культурального методу) хворих на початку лікування (рис. 5.16). Серед ША дещо більше було хворих з категорією I, ніж серед ПА (78,8 проти 67,9 %), водночас серед останніх дещо частіше спостерігались хворі з категорією III (22,6 проти 12,6 %, $P>0,05$). Таким чином, на початку лікування хворі, що мали генотип ША мали тенденцію до більш важкого і генералізованого перебігу туберкульозу легень. Тривалість стаціонарного лікування вірогідно не відрізнялась між різними типами ацетилювання і становила $95,73\pm 4,13$ дня для ША ацетиляторів і $92,43\pm 3,89$ дня для ПА.



* - $P<0,05$ (відносно відповідної групи на початку лікування)

Рис. 5.16. Кількість хворих, які виділяли збудника туберкульозу згідно бактеріоскопії (M+) або культурального методу (K+) залежно від генотипу *NAT2* на початку (до) або наприкінці (після) стаціонарного лікування.

Наприкінці стаціонарного лікування процеси деструкції зберігались у чверті хворих незалежно від генотипу ацетилювання. Серед ША процеси деструкції спостерігались в 1,9 рідше, ніж на початку лікування ($P<0,05$; $\chi^2=4,06$); серед ПА – в 1,6 разу ($P>0,05$). Зникнення процесів деструкції мало місце у 47,1 % «швидких» і 38,1 % «повільних ацетиляторів» (табл. 5.22). При цьому, припинення процесів деструкції у ША зайняло в 1,3 разу довший час,

ніж у ПА ($P < 0,05$; $CI = 2,44 \dots 31,64$). Протягом лікування в обох групах дещо зменшилась кількість хворих з двостороннім ураженням легень ($P > 0,05$). На початку і наприкінці стаціонарного лікування дисемінований туберкульоз легень спостерігався в 4 рази частіше у «швидких ацетиляторів», ніж у «повільних ацетиляторів» ($P < 0,05$; $\chi^2 = 6,40$) (рис. 5.15). Водночас серед ПА на 22,0 % частіше спостерігався вогнищевий туберкульоз, ніж у «швидких ацетиляторів», де вогнищевий ТБ легень був відсутній взагалі ($P < 0,05$; $\chi^2 = 6,40$).

Наприкінці стаціонарного лікування відсоток хворих з інфільтрацією легеневої тканини зменшився майже в 5 разів серед швидких і в 14,9 разу серед «повільних ацетиляторів», у порівнянні з вихідних рівнем ($P < 0,05$; $\chi^2 = 11,00$ і $\chi^2 = 32,08$ відповідно).

Таблиця 5.22

Припинення процесу деструкції і бактеріовиділення в залежності від генотипу *NAT2*

Група хворих	Припинення процесу деструкції		Припинення бактеріовиділення за даними			
			мікроскопії		посіву	
	кількість хворих (%)	тривалість (днів) \pm SEM	кількість хворих (%)	тривалість (днів) \pm SEM	кількість хворих (%)	тривалість (днів) \pm SEM
ША, n=33	8/17 (47,1)	71,75 \pm 6,28	15/16 (93,8)	67,14 \pm 3,31	7/20 (35,0)	82,67 \pm 5,94
ПА, n=53	8/21 (38,1)	54,71 \pm 2,83*	25/25 (100)	60,08 \pm 2,65	11/32 (34,4)	67,14 \pm 3,31*

Примітка. * - $P < 0,05$ (відносно групи ША).

В результаті стаціонарного лікування явища обсіменіння серед ША повністю зникли ($P < 0,05$; $\chi^2 = 14,77$) і серед ПА зменшилась в 14,9 разу ($P < 0,05$; $\chi^2 = 14,43$). Наприкінці стаціонарного лікування частка ША і ПА з явищами розпаду в легеневій тканині зменшилась в 3 і 2 рази відповідно ($P > 0,05$).

відносно вихідного рівня. Водночас процеси розсмоктування на моменти виписки зі стаціонару спостерігались у 84,8 % ША і 86,8 % ПА – на початку лікування ці явища були відсутні взагалі ($P < 0,05$; $\chi^2 = 48,63$ і $\chi^2 = 81,27$ відповідно).

За даними мікроскопії бактеріовиділення на момент виписки зі стаціонару було відсутнім у 100 % ПА і 97,0% ША (рис. 5.16). Припинення бактеріовиділення при цьому відбулось у 93,8 % ША і 100 % ПА, тривалість конверсії для першої групи склало 60 днів, для другої – 67 днів (табл. 5.22). Згідно даних культурального методу наприкінці стаціонарного лікування бактеріовиділення спостерігалось приблизно у 40 % хворих незалежно від генотипу ацетилювання, припинення бактеріовиділення відбувалось у 35 % хворих. При цьому для ПА припинення бактеріовиділення було в 1,2 разу швидшим, ніж для ША (67 проти 82 днів, $P < 0,05$; СІ 2,25...28,81).

Якщо на початку лікування понад 90 % хворих незалежно від генотипу *NAT2* належала до 1 або 3 категорії, то наприкінці лікування 33,3 % ША і 9,4 % ПА належали до 4 категорії ($P < 0,05$; $\chi^2 = 13,20$ і $\chi^2 = 5,25$ відповідно відносно початку лікування), до якої відносяться хворі з хіміорезистентним туберкульозом (табл. 5.21). Причому, «швидкі ацетилятори» в 3,5 рази частіше відносились до 4 категорії і мали мультирезистентну форму туберкульозу, ніж «повільні ацетилятори» ($P < 0,05$; $\chi^2 = 7,67$).

Отже, на початку лікування хворі на ТБ легень, що належали до ША, в 3 рази частіше мали ознаки дисемінації, ніж ПА, водночас у останніх туберкульозний процес частіше мав вогнищевий характер. Під час стаціонарного лікування у ПА в 1,3 разу швидше припинявся процес деструкції і в 1,2 разу - бактеріовиділення за даними культурального методу відносно ША. На момент виписки зі стаціонару ША в 2,2 разу частіше належали до 4 категорії туберкульозних хворих і мали мультирезистентну форму туберкульозу, ніж ПА.

Отримані дані співзвучні з літературними даними, згідно яких підбір дози ізоніазиду з урахуванням згідно генотипу ацетилювання зменшує токсичність і покращує ефективність лікування туберкульозу [126,333]. Менша ефективність

лікування ТБ легень у ША можливо пов'язана з меншою концентрацією ізоніазиду, що спостерігається під час лікування, ніж у ПА. Тому встановлення генотипу *NAT2* у хворих на туберкульоз може бути корисним як предиктор перебігу і наслідків лікування.

Відносно динаміки лабораторних показників у хворих на туберкульоз легень в залежності від генотипу *NAT2* було відзначено наступні зміни. На початку лікування рівень гемоглобіну не відрізнялись між ША і ПА, водночас кількість еритроцитів і МСНС були дещо вищими у ША, ніж ПА ($P > 0,05$) (табл. 5.23).

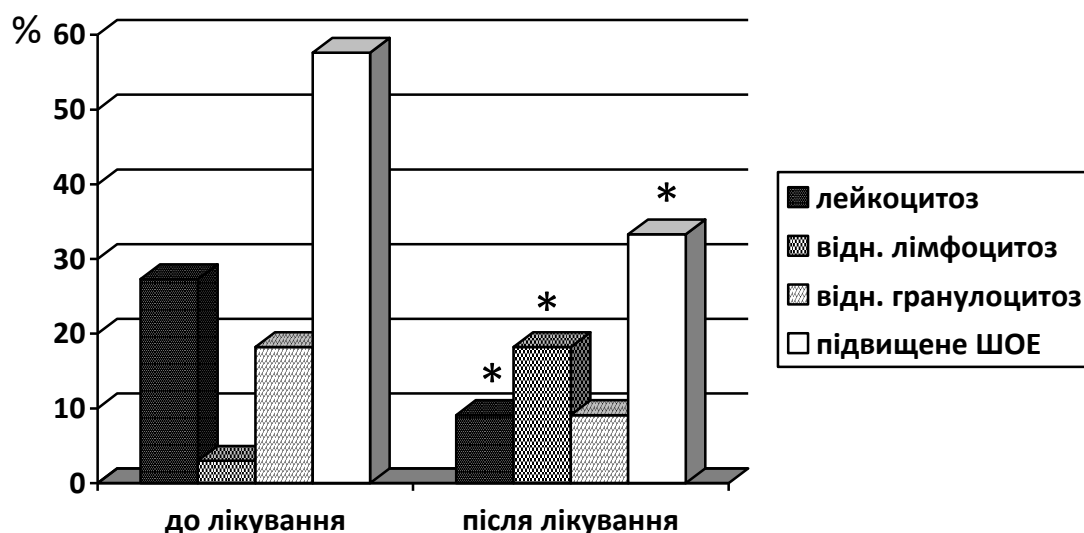
Таблиця 5.23

Показники «червоної крові» та ШОЕ до початку та після стаціонарного лікування в залежності від генотипу *NAT2* (Mean±SEM)

Група	n	Кількість еритроцитів, Т/л	Гемоглобін, г/л	МСНС	ШОЕ, мм/год
НА ПОЧАТКУ ЛІКУВАННЯ					
ША	33	4,75±0,06	123,33±1,74	277,52±1,37	19,75±2,23
ПА	53	4,70±0,04	123,51±1,59	274,59±0,96	24,28±2,33
ПІСЛЯ СТАЦІОНАРНОГО ЛІКУВАННЯ					
ША	33	4,77±0,07	125,18±1,88	283,00±3,93	10,86±1,34*
ПА	53	4,67±0,04	123,55±1,53	281,24±1,91*	9,83±0,91*

Примітка. * - $P < 0,05$ (відносно відповідної групи на початку лікування).

Також між двома групами майже не відрізнялись кількість та формула лейкоцитів в периферичній крові (табл. 5.24, рис. 5.17). Середній показник ШОЕ в обох групах був вищим від норми і дещо вищим у повільних ПА, ніж у ША ($P > 0,05$). Наприкінці стаціонарного лікування рівень гемоглобіну, еритроцитів і середня концентрація гемоглобіну в еритроцитів у «швидких ацетиляторів» мали тенденцію до зростання, водночас у «повільних ацетиляторів» вміст еритроцитів дещо знизився, але середня концентрація гемоглобіну в еритроциті, навпаки, зросла на 2,4 % ($P < 0,05$; CI= -10,89...-2,41).



* - $P < 0,05$ (відносно стану на початку лікування)

Рис. 5.17. Кількість хворих «швидких ацетиляторів» з патологічними зсувами у периферичній крові до і після проведення стаціонарного лікування.

Таблиця 5.24

Показники «білої крові» до початку та після стаціонарного лікування в залежності від генотипу *NAT2* (Mean \pm SEM)

Гено-тип	n	Кількість лейкоцитів, Г/л	Лімфоцити, %	Моноцити, %	Гранулоцити, %
НА ПОЧАТКУ ЛІКУВАННЯ					
ША	33	8,14 \pm 0,32	29,70 \pm 0,06	5,05 \pm 0,16	65,14 \pm 0,89
ПА	53	8,13 \pm 1,23	29,97 \pm 0,88	4,84 \pm 0,15	64,65 \pm 0,95
ПІСЛЯ СТАЦІОНАРНОГО ЛІКУВАННЯ					
ША	33	6,47 \pm 0,18*	34,70 \pm 0,97*	5,38 \pm 0,21	59,67 \pm 1,02*
ПА	53	6,53 \pm 0,25*	36,89 \pm 1,07*	4,79 \pm 0,12**	58,08 \pm 1,10*

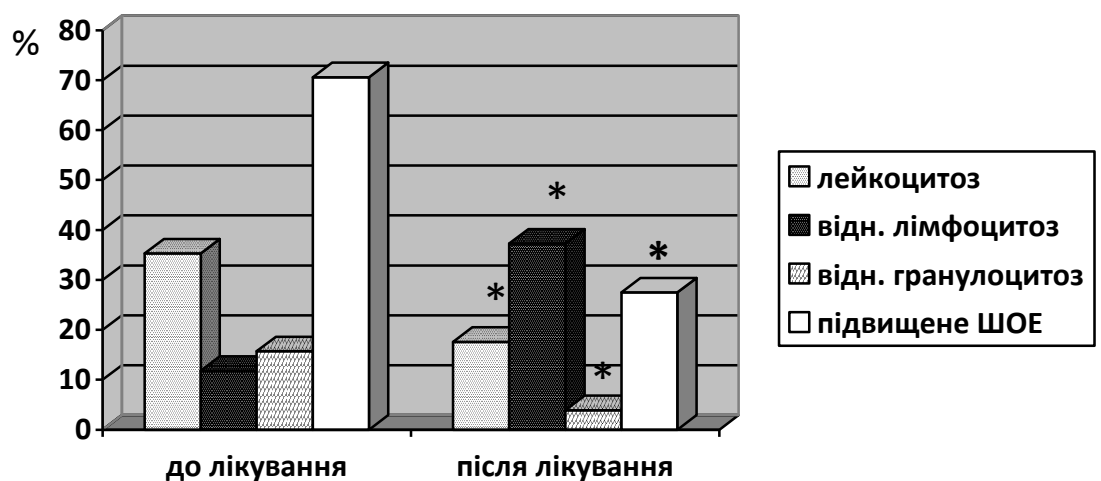
Примітки:

- * - $P < 0,05$ (відносно відповідної групи на початку лікування);
- ** - $P < 0,05$ (відносно групи РА після стаціонарного лікування).

Показник ШОЕ на момент виписки у ША зменшився в 1,8 разу ($P < 0,01$; $CI=3,70 \dots 14,08$), у ПА - майже в 2,5 рази ($P < 0,001$; $CI=9,48 \dots 19,42$). Вірогідної різниці між ШОЕ у швидких і повільних ацетиляторів наприкінці лікування не спостерігалось. В обох групах майже однаково знизилась кількість лейкоцитів в периферичній крові – на 20,5 % у «швидких ацетиляторів» ($P < 0,001$;

CI=0,88...2,46) і на 19,7 % у «повільних ацетиляторів» ($P<0,001$; CI=0,92...2,28). В лейкоцитарній формулі наприкінці стаціонарного лікування також відбулись певні зсуви (рис. 5.18).

По-перше, зріс відсоток лимфоцитів – на 16,8 % у ША ($P<0,001$; CI= -6,93...-3,07) і на 23,1 % у ПА ($P<0,001$; CI= -9,66...-4,18). По-друге, зменшився відсоток гранулоцитів – на 8,4 % у ША ($P<0,001$; CI=2,76...8,18) і на 10,2% у ПА ($P<0,001$; CI=3,69...9,45).



* - $P<0,05$ відносно стану на початку лікування

Рис. 5.18. Кількість хворих «повільних ацетиляторів» з патологічними зсувами у периферичній крові до і після проведення стаціонарного лікування.

Відносно відсотка моноцитів наприкінці стаціонарного лікування спостерігалось різноспрямовані зміни у ША і ПА – у перших відсоток моноцитів дещо зріс, у других – зменшився ($P>0,05$). Причому, відсоток моноцитів у «повільних ацетиляторів» був на 11,0 % меншим, ніж у «швидких ацетиляторів» ($P<0,05$; CI=0,14...1,04).

Якщо на початку лікування явища лейкоцитозу спостерігались у 27,3 % ША і 35,3 % ПА, то наприкінці лікування у 9,1 і 17,6 % відповідно, причому у «повільних ацетиляторів» відбулось вірогідне зниження кількості лейкоцитів ($P<0,05$; $\chi^2=4,08$). Також в результаті проведеного лікування збільшилась кількість хворих з відносним лімфоцитозом серед ША (з 3,0 до 18,2 %, $P<0,05$; $\chi^2=3,99$) і ПА (з 11,8 до 37,3 %, $P<0,05$; $\chi^2=8,95$). Причому серед «повільних

ацетиляторів» кількість хворих з відносним лімфоцитозом наприкінці стаціонарного лікування була майже вдвічі вищою, ніж серед «швидких ацетиляторів» ($P < 0,05$; $\chi^2 = 4,15$).

На початку лікування вірогідна різниця між швидкими і повільними ацетиляторами щодо біохімічних показників крові була відсутня (табл. 5.25).

Таблиця 5.25

Біохімічні показники крові до початку та після стаціонарного лікування в залежності від генотипу *NAT2* (Mean \pm SEM)

Біохімічний показник	Група хворих, згідно генотипу <i>NAT2</i>	
	ША, n=33	ПА, n=53
НА ПОЧАТКУ ЛІКУВАННЯ		
Білірубін, мкМ/л	13,65 \pm 0,83	14,57 \pm 0,63
Тимолова проба, Од	1,75 \pm 0,30	2,18 \pm 0,13
АлАТ, Од/л	21,23 \pm 0,17	22,87 \pm 1,08
АсАТ, Од/л	26,33 \pm 1,54	25,62 \pm 1,15
ГГТ, Од/л	28,5 \pm 1,54	27,58 \pm 1,18
ПІСЛЯ СТАЦІОНАРНОГО ЛІКУВАННЯ		
Білірубін, мкМ/л	11,51 \pm 0,37*	13,53 \pm 0,54*#
Тимолова проба, Од	1,66 \pm 0,12	2,32 \pm 0,16#
АлАТ, Од/л	21,82 \pm 1,19	26,88 \pm 1,22*#
АсАТ, Од/л	24,05 \pm 0,72	30,40 \pm 1,50*#
ГГТ, Од/л	30,39 \pm 1,83	34,56 \pm 1,09*#

Примітки:

1. * - $P < 0,05$ (відносно відповідної групи на початку лікування);
2. # - $P < 0,05$ (відносно групи ША після стаціонарного лікування).

У ПА був дещо вищим рівень білірубіну, тимолова проба, АлАТ, ніж у ША, водночас у останніх були дещо більшими показники АсАТ, ГГТ ($P > 0,05$). На момент завершення стаціонарного лікування у ША на 18,6 % знизився рівень білірубіну ($P < 0,05$; CI=0,33...3,95 відносно початого рівня. Також у ША під час

лікування відзначалась тенденція до зростання активності АлАТ, ГГТ і, водночас до зменшення тимолової проби, активності АсАТ.

У ПА наприкінці лікування відбулось вірогідне зростання більшої частини біохімічних показників крові відносно початкового рівня, крім білірубіну, вміст якого дещо зменшився ($P > 0,05$). Так, активність АлАТ зросла на 17,5 % ($P < 0,05$; CI= -7,19...-0,83), АсАТ збільшилась на 18,7 % ($P < 0,05$; CI= -8,53...-1,03), рівень ГГТ – на 25,3 % ($P < 0,001$; CI= -10,17...-3,79).

На момент виписки зі стаціонару «повільні ацетилятори» мали більш високий рівень біохімічних показників, ніж «швидкі ацетилятори». Наприклад, рівень білірубіну був на 17,5 % більшим ($P < 0,01$; CI= -3,48...-0,55), тимолова проба – на 39,8 % ($P < 0,01$; CI= -1,10...-0,22), АлАТ і АсАТ – на 23,2 % ($P < 0,01$; CI= -8,56...-1,56) і 26,4 % ($P < 0,01$; CI= -10,24...-2,46) відповідно, ГГТ – на 13,7 % ($P < 0,05$; CI= -8,15...-0,19).

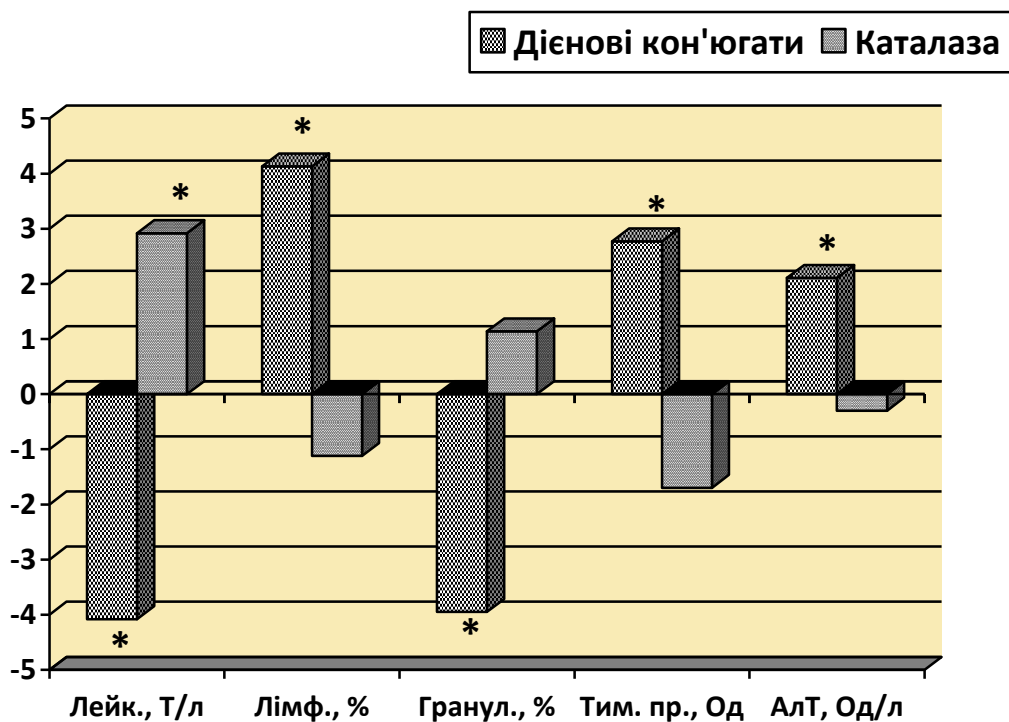
При порівнянні показників про- і антиоксидантної систем у хворих на ТБ легень з різними генотипами *NAT-2* було встановлено відсутність вірогідних відмінностей між ША і ПА.

З метою визначення зв'язку показників стану про-/антиоксидантної системи з показниками периферичної крові і біохімічними показниками було обраховано індекс кореляції між рівнем ДК, активності каталази, з одного боку, і рівнем лейкоцитів, маркерами цитолізу і детоксикуючої здатності печінки (АлАТ) і тимолової проби) на початку і при завершенні стаціонарного лікування.

На початку лікування було встановлено, що активність каталази плазми знаходяться в прямій кореляції з відносною кількістю гранулоцитів і оберненій кореляції з відносною кількістю лімфоцитів (розрахункове значення t-критерію становило 2,525 і -2,419 відповідно при критичному значенні t-критерію тут і далі 1,988) (рис. 5.19).

При завершенні стаціонарного лікування у хворих на ТБ легень кількість лейкоцитів була в оберненій кореляції з рівнем ДК і прямій кореляції з активністю каталази на початку лікування (розрахункове значення t-критерію

становило -4,082 і 2,916 відповідно) (рис. 5.19). Початковий рівень ДК був в прямій кореляції з відносною кількістю лімфоцитів і оберненій кореляції з відносною кількістю гранулоцитів наприкінці стаціонарного лікування (розрахункове значення t-критерію становило 4,130 і -3,950 відповідно). Також рівень ДК на початку лікування був у прямій залежності з показниками тимолової проби і рівнем АлАТ наприкінці стаціонарного лікування (обчислене значення t-критерію становило 2,771 і 2,108 відповідно).



* - обчислений t-критерій більше критичного значення t-критерію 1,988 по осі ординат – розрахунковий t-критерій

Рис. 5.19. Кореляція між рівнем про-/антиоксидантних маркерів на початку лікування і кількістю лейкоцитів, біохімічними показниками при завершенні стаціонарного лікування.

Важливо, що рівень ДК на початку лікування ТБ не мав кореляції з лейкоцитарною формулою або печінковими пробами. В той же час, рівень ДК був у прямій кореляції з маркерами гепатотоксичності, кількістю лімфоцитів і процента нейтрофілів в крові наприкінці стаціонарного лікування. Таким чином, вміст ДК на початку лікування ТБ виступає як маркер ризику

гепатотоксичності, з одного боку, і ступеня нормалізації кількості лейкоцитів і лейкоцитарної формули, з іншого боку.

Отже, було встановлено, що в результаті стаціонарного лікування в незалежності від генотипу ацетилювання у хворих туберкульозом відзначалось зниження ШОЕ, кількість лейкоцитів, відносної кількості гранулоцитів. В той час зросла насиченість еритроцитів гемоглобіном (МСНС) і відносна кількість лімфоцитів, що може розцінюватись як ознака ефективного лікування [331]. Зменшення відносного моноцитозу під час лікування, що характеризує ефективну терапію, відзначалось у ПА.

Маркери токсичного ураження печінки (АлАТ, АсАТ, ГГТ, тимолова проба) практично не змінилось у ША, в той час вірогідно зросли у ПА. Якщо на початку лікування вірогідна різниця між групами ацетиляторів була відсутня, то наприкінці стаціонарного лікування маркери гепатотоксичності були більш високими у ПА, ніж у ША, що відображає більш високий ризик ураження печінки під час хіміотерапії туберкульозу у ПА, що можливо пов'язано зі швидкістю біотрансформації ізоніазиду [126].

Результати досліджень даного розділу знайшли відображення:

1. Антоненко П. Б. Динамика лабораторных показателей у пациентов с туберкулезом в зависимости от генотипа NAT2 / П. Б. Антоненко // Журнал Гродненского государственного медицинского журнала (Беларусь). – 2013. – № 4. – С. 61–64.

2. Антоненко П. Б. Особливості перебігу туберкульозу легень залежно від генотипу NAT2 / П. Б. Антоненко // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – 2014. – № 1 (16). – С. 40–44.

3. Антоненко П. Б. Биохимические показатели и клеточный состав периферической крови у больных туберкулезом в зависимости от генотипа CYP2C9 / П. Б. Антоненко // Кубанский научный медицинский вестник (РФ). – 2014. – № 2 (144). – С. 12–16.

4. Антоненко П. Б. Лабораторні показники крові у хворих на туберкульоз залежно від генотипу *CYP2E1* / П. Б. Антоненко // Одеський медичний журнал. – 2014. – № 3. – С. 62–67.

5. Antonenko P. B. Results of intensive phase treatment of tuberculosis treatment according to *CYP2E1* genotype / P. B. Antonenko, V. I. Kresyun, K. O. Antonenko // Journal of Health Sciences. – Radom, Poland, 2014. – Vol. 4, N 3. – P. 27–37.

6. Антоненко П. Б. Эффективность лечения туберкулеза легких в зависимости от генотипа *CYP2C9* / П. Б. Антоненко, В. И. Кресюн // Дальневосточный медицинский журнал (РФ). – 2014. – № 2. – С. 31–34.

7. Antonenko P. B. Outcome of tuberculosis treatment depending on *CYP2C19* genotype / P. B. Antonenko, V. I. Kresyun // Клінічна фармація. – 2014. – Т. 18, № 3. – С. 17–21.

8. Антоненко П. Б. Поліморфізм генотипу цитохрому-450 2E1 у хворих на туберкульоз / В. Й. Кресюн, В. В. Філюк, П. Б. Антоненко, Ю. М. Даниленко, Г. В. Мозолевич // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2014. – № 3. – С. 77–81.

9. Антоненко П. Б. Особливості перебігу туберкульозу серед хворих з різним генотипом N-ацетилтрансферази 2 / В. Й. Кресюн, В. В. Філюк, П. Б. Антоненко, К. К. Рогач, Ю. М. Даниленко, Г. В. Мозолевич // Український пульмонологічний журнал. – 2013. – № 3 (додаток). – С. 152–153 (V З'їзд фтизіатрів і пульмонологів України, 6–8 листопада 2013 р., Київ : тези доп.).

10. Антоненко П. Б. Динаміка маркерів функції печінки у хворих на туберкульоз в залежності від генотипу *NAT2* / П. Б. Антоненко, В. Й. Кресюн, К. О. Антоненко // Сучасні аспекти медицини і фармації Півдня України : наук.-практ. конф., присвячена 110-річчю з дня становлення фармацевтичної освіти на Півдні України, 6–7 грудня 2013 р., Одеса : матеріали. – Одеса, 2013. – С. 18–20.

11. Антоненко П. Б. Эффективность лікування туберкульозу легень в залежності від генотипу *CYP2C19* / П. Б. Антоненко, К. О. Антоненко, А. В. Ничипорчук, С. О. Тимчишин // Актуальні проблеми внутрішньої медицини –

класичні уявлення та сучасні тенденції : IX Південноукраїнська наук.-практ. конф., 2 квітня 2014 р., Одеса : тези доп. – Одеса, 2014. – С. 93–94.

12. Антоненко П. Б. Лабораторные показатели крови у больных туберкулезом в зависимости от генотипа *CYP2C9* / П. Б. Антоненко, В. И. Кресюн, Е. А. Антоненко // Медицинский журнал Западного Казахстана. – 2014. – № 1 (41). Приложение. – С. 45–46 (Актуальные вопросы медицины : междунар. науч.-практ. конф. Актобе, Казахстан, 17 апреля 2014 : материалы).

13. Антоненко П. Б. Динаміка лабораторних показників у хворих на туберкульоз легень в залежності від генотипу *CYP2C19* / В. Й. Кресюн, П. Б. Антоненко, В. В. Філюк, К. О. Антоненко, Ю. М. Даниленко, Г. В. Мозолевич // Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів : XXXI наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 22 травня 2014 р., Харків : матеріали. – Харків, 2014. – С. 75–76.

14. Антоненко П. Б. Перебіг туберкульозу легень в залежності від генотипу *NAT2* / П. Б. Антоненко // Наукові дослідження – теорія та експеримент '2014 : X міжнар. наук.-практ. конф., 26–28 травня 2014 р., Полтава : тези доп. – Полтава, 2014. – Т. 4. – С. 7–10.

15. Антоненко П. Б. Изменения лабораторных показателей у больных туберкулезом с учетом генотипа ацетилирования / П. Б. Антоненко // XIII чтения В. В. Подвысоцкого : науч. конф., 19–20 июня 2014 г., Одесса. – Одесса, 2014. – С. 21–22.

16. Антоненко П.Б. Изменения лабораторных показателей у больных туберкулезом с учетом генотипа ацетилирования / П.Б. Антоненко // XIII-е чтения В.В. Подвысоцкого : бюллетень материалов научной конференции, 19-20 июня 2014 г., Одесса. – Одесса: УкрНИИ медицины транспорта, 2014. – С. 21-22.

РОЗДІЛ 6

ЕФЕКТИВНІСТЬ ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ ЛЕГЕНЬ
ЗАЛЕЖНО ВІД КОНЦЕНТРАЦІЇ ІЗОНІАЗИДУ І РИФАМПІЦИНУ В КРОВІ

6.1. Ефективність лікування туберкульозу легень в залежності від концентрації ізоніазиду в крові

На першому етапі ми виокремили групу хворих, які мали субефективну концентрацію ізоніазиду через 2 год (<3 мкг/мл), 4 год ($<1,5$ мкг/мл), 6 год і 24 год ($<0,5$ мкг/мл) [329]. Але виявилось, що лише близько 20 % хворих мали субефективну концентрацію на відрізку часу 2-6 год, що ускладнило їх статистичне порівняння з хворими, які мали терапевтичну концентрацію.

Тому вирішено було розділити хворих на дві групи згідно концентрації ізоніазиду порівню. Попередньо було встановлено, що найбільш наочною була різниця щодо вмісту ізоніазиду через 4 год після прийому препарату.

Відповідно до концентрації ізоніазиду через 4 год після його введення 42 хворих (48,8 %) мали концентрацію менш, ніж 2 мкг/мл (0,48-1,99 мкг/мл) (НКІ), решта – 44 хворих (51,2 %) мали концентрацію понад 2 мкг/мл (2,02-6,54 мкг/мл) (ВКІ). На початку стаціонарного лікування процеси деструкції спостерігались майже у половини всіх хворих, незалежно від концентрації ізоніазиду в крові (табл. 6.1). У хворих з НКІ дещо частіше спостерігався інфільтративний туберкульоз, ніж у хворих з ВКІ ($P>0,05$). Водночас в групі ВКІ у 22,7 % хворих відзначалась вогнищеве ураження легень, при цьому серед хворих з НКІ така форма взагалі була відсутня ($P<0,05$; $\chi^2=7,64$ при критичному значенні тут і далі $\chi^2=3,84$) (рис. 6.1). Близько половини хворих з НКІ на початку лікування мали ураження обох легень, серед групи ВКІ цей показник склав 36,4 %. Серед обох груп, що було утворено, процеси інфільтрації в легеневій тканині спостерігались у половини хворих, процеси розпаду – у 16-17 % і, нарешті, обсіменіння мали місце приблизно у третини всіх хворих – 33,3 НКІ і 29,5 % ВКІ.

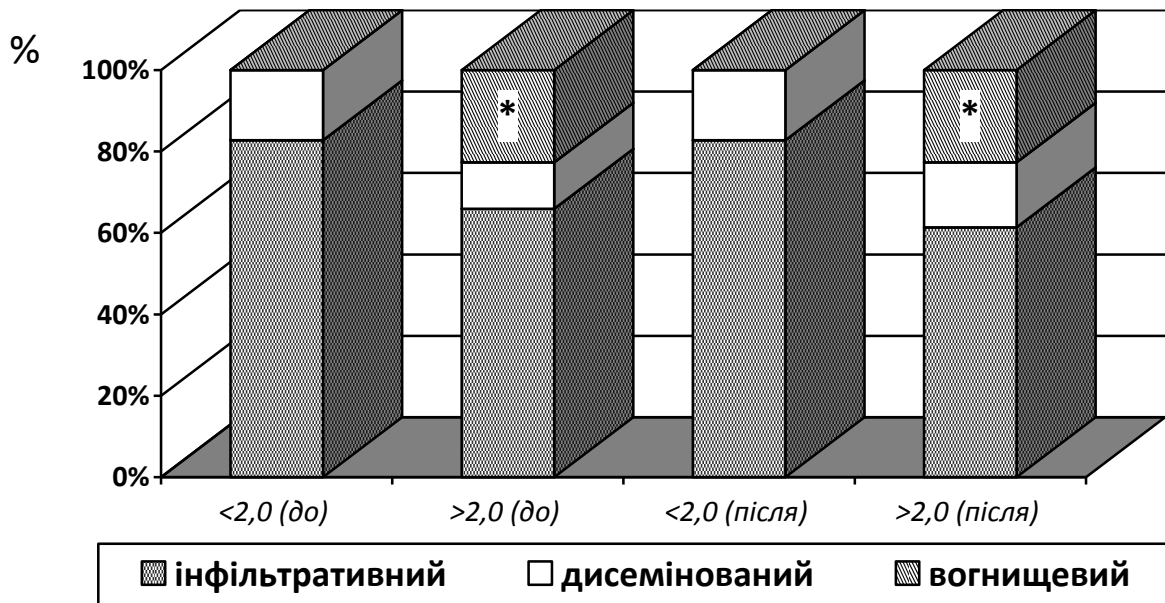
Таблиця 6.1

Характеристика туберкульозного процесу в залежності від концентрації ізоніазиду (через 4 год)

Характеристика туберкульозного процесу		На початку лікування, (%)		Наприкінці стаціонар. лікування, (%)	
		<2,00 мкг/мл, n=42	>2,00 мкг/мл, n=44	<2,00 мкг/мл, n=42	>2,00 мкг/мл, n=44
Поширення	обидві легені	20 (47,6)	16 (36,4)	20 (47,6)	11 (25,0)
	частини легені	22 (52,4)	28 (63,6)	22 (52,4)	33 (75,0)*
Деструкція	є	19 (45,2)	19 (43,2)	14 (33,3)	8 (18,2)@
	нема	23 (54,8)	25 (56,8)	28 (66,7)	36 (81,8)
Стадія ураження	інфільтрація	21 (50,0)	24 (54,5)	4 (9,5)@	1 (2,3)@
	розпад	7 (16,7)	7 (15,9)	6 (14,3)	-*@
	обсіменіння	14 (33,3)	13 (29,5)	1 (2,4)@	-@
	розсмоктування	-	-	31 (73,8)@	43 (97,7)*@
Категорія хворих	1	32 (76,2)	30 (68,2)	23 (54,8)@	35 (79,5)
	2	3 (7,1)	5 (11,4)	2 (4,8)	2 (4,5)
	3	7 (16,7)	9 (20,5)	5 (11,9)	3 (6,8)@
	4	-	-	12 (28,6)@	4 (9,1)*@

Примітки:

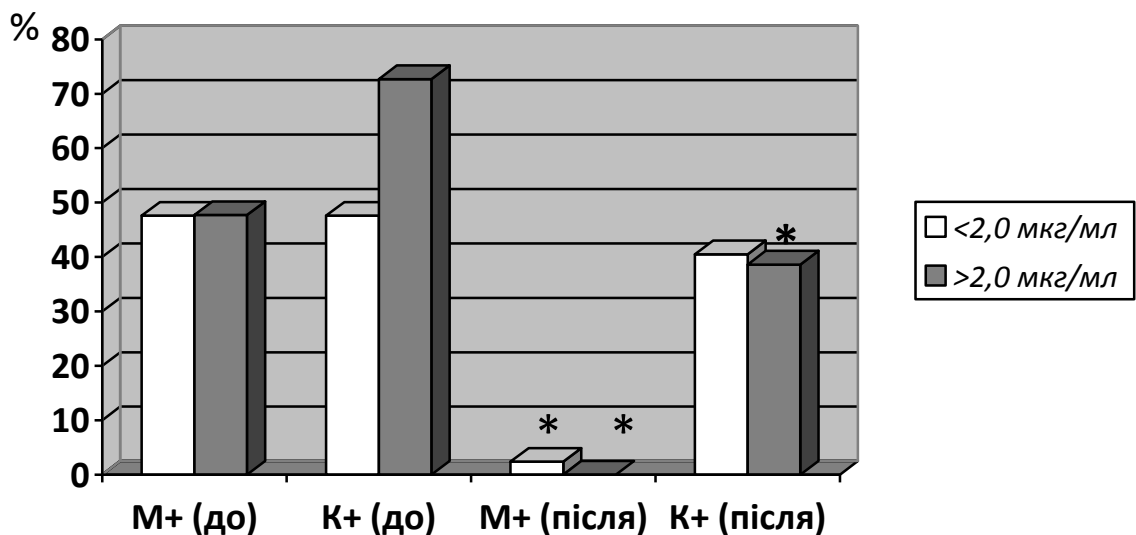
1. * - $P < 0,05$ (відносно відповідної групи <2,00 мкг/мл);
2. @ - $P < 0,05$ (відносно відповідної групи на початку лікування).



* - $P < 0,05$ (відносно хворих з концентрацією ізоніазиду $< 2,00$ мкг/мл)

Рис. 6.1. Характер ураження легень з урахуванням концентрації ізоніазиду через 4 год після введення ($<$ або $> 2,00$ мкг/мл) на початку (до) і наприкінці (після) стаціонарного лікування.

На початку стаціонарного лікування за даними мікроскопії бактеріовиділення відзначалось приблизно у 47 % хворих з високою і низькою концентрацією ізоніазиду. Згідно посіву 47,6 % хворих з НКІ і 72,7 % хворих з ВКІ виділяли збудника туберкульозу (рис. 6.2).



* - $P < 0,05$ (відносно відповідної групи на початку лікування)

Рис. 6.2. Кількість хворих, які виділяли збудника туберкульозу згідно бактеріоскопії (M+) або культурального методу (K+) залежно від концентрації ізоніазиду через 4 год. після введення ($<$ або $> 2,00$ мкг/мл) на початку (до) або наприкінці (після) стаціонарного лікування.

Більшість хворих з НКІ або ВКІ належали до I або III категорії – 92,9 і 88,7 % відповідно. Таким чином, на початку лікування хворі, які мали різну концентрацію ізоніазиду, не мали істотних відмінностей щодо важкості і особливостей перебігу ТБ легень на початку лікування. Тривалість стаціонарного лікування у хворих з високою і низькою концентрацією ізоніазиду практично не відрізнялись між собою ($91,37 \pm 3,69$ і $94,70 \pm 5,26$ дня).

Наприкінці стаціонарного лікування процеси деструкції зберігались у 33,3 % хворих з НКІ і 18,2 % хворих з ВКІ. Отже, явища деструкції зустрічались дещо частіше у хворих з НКІ, ніж у індивідів з ВКІ. В останній групі в результаті стаціонарного лікування відбулось скорочення кількості хворих з явищами деструкції майже в 2,4 разу ($P < 0,05$; $\chi^2 = 6,47$). Припинення деструкції спостерігалось у 57,9 % хворих з ВКІ і у 26,3 % хворих з НКІ. Отже, конверсія процесів деструкції у хворих з високою концентрацією ізоніазиду відбувалась в 1,6 разу частіше ($P < 0,05$; $\chi^2 = 3,89$), при цьому тривалість припинення бактеріовиділення практично не відрізнялась (табл. 6.2).

Як і на початку, так і при завершенні стаціонарного лікування у більшості хворих з ВКІ і НКІ (61,4 і 82,8 % відповідно) спостерігалась інфільтративна форма туберкульозного процесу. Серед хворих з ВКІ вогнищева форма ТБ спостерігалась у 22,7 %, водночас серед хворих з НКІ ця форма взагалі була відсутня ($P < 0,05$; $\chi^2 = 7,64$) (рис. 6.1).

Наприкінці стаціонарного лікування у хворих з високою концентрацією ізоніазиду в 1,4 разу рідше спостерігалось ураження обох легень, ніж у хворих з низькою концентрацією ($P < 0,05$; $\chi^2 = 4,77$).

В результаті проведеного стаціонарного лікування кількість хворих з НКІ і ВКІ з явищами інфільтрації знизилось в 5,3 разу ($P < 0,05$; $\chi^2 = 16,46$) і 23,7 разу ($P < 0,05$; $\chi^2 = 24,64$) відповідно; припинились явища обсіменіння в групі з ВКІ ($P < 0,05$; $\chi^2 = 15,25$); серед хворих з НКІ явища обсіменіння зменшились в 13,9 разу відносно початкового рівня ($P < 0,05$; $\chi^2 = 13,72$). У хворих з ВКІ в результаті стаціонарного лікування припинились явища розпаду, причому різниця була вірогідною як відносно початкового показника ($P < 0,05$; $\chi^2 = 7,60$), так і групи НКІ

($P < 0,05$; $\chi^2 = 6,76$). В той же час явища розсмоктування і ущільнення в легеневій тканині спостерігалось у 73,8 % пацієнтів з НКІ і 97,7 % пацієнтів з ВКІ ($P < 0,05$; $\chi^2 = 49,13$ і $\chi^2 = 84,09$ відповідно). Таким чином, процеси розсмоктування при високій концентрації ізоніазиду спостерігались в 1,3 разу частіше, ніж при низькій концентрації ізоніазиду ($P < 0,05$; $\chi^2 = 10,24$).

Таблиця 6.2

Припинення процесів деструкції і бактеріовиділення в залежності від концентрації ізоніазиду

Концентрація ізоніазиду	Кількість хворих, у яких припинились процеси деструкції (%)	Припинення бактеріовиділення за даними			
		мікроскопії		посіву	
		кільк. хворих (%)	тривалість (днів) \pm SEM	кільк. хворих (%)	тривалість (днів) \pm SEM
<2,00 мкг/мл, n=42	5/19 (35,7)	19/20 (95,0)	59,0 \pm 1,6	3/20 (15,0)	65,1 \pm 2,8
>2,00 мкг/мл, n=44	11/19 (57,9)*	21/21 (100)	60,9 \pm 4,0	15/32 (46,9)*	64,3 \pm 7,3

Примітка. * - $P < 0,05$ (відносно відповідної групи <2,00 мкг/мл).

Протягом стаціонарного лікування кількість хворих з НКІ, які належали до I категорії зменшилась в 1,4 разу, до 4-ої категорії – збільшилась на 28,6% ($P < 0,05$; $\chi^2 = 4,27$ і $\chi^2 = 14,00$ відповідно). В групі ВКІ зросла кількість хворих 4-ої категорії на 9,1% ($P < 0,05$; $\chi^2 = 4,19$). Також наприкінці лікування хворих з низкою концентрацією ізоніазиду, які належали до 4-ої категорії (тобто мали хіміорезистентну форму туберкульозу), було в 3,1 рази більше, ніж серед хворих з високою концентрацією ізоніазиду ($P < 0,05$; $\chi^2 = 5,38$).

За даними мікроскопії бактеріовиділення на момент виписки зі стаціонару було відсутнім у 100 % хворих з ВКІ і 97,6 % хворих з НКІ (рис. 6.2). Припинення бактеріовиділення при цьому відбулось у 95,0% хворих з НКІ і

100 % хворих з ВКІ ($P < 0,05$; $\chi^2 = 22,92$ і $\chi^2 = 27,58$ відповідно відносно вихідного стану). При цьому тривалість конверсії бактеріовиділення склала близько 60 днів.

Згідно даних культурального методу наприкінці стаціонарного лікування бактеріовиділення спостерігалось приблизно у 40 % хворих на ТБ легень незалежно від концентрації ізоніазиду. Причому лише у хворих з ВКІ відбулось вірогідне зменшення бактеріовиділення в 1,9 разу ($P < 0,05$; $\chi^2 = 10,89$). Припинення бактеріовиділення спостерігалось в 3,1 разу частіше у хворих з високою концентрацією ізоніазиду, ніж в групі з низькою концентрацією ізоніазиду (46,9 проти 15,0 %; $P < 0,05$; $\chi^2 = 5,53$). Тривалість припинення бактеріовиділення вірогідно не відрізнялась між групами і була близько 65 днів.

Таким чином, на початку лікування хворі на ТБ легень, які у подальшому мали різну концентрацію ізоніазиду, практично не відрізнялись щодо особливостей туберкульозного процесу. Наприкінці стаціонарного лікування у хворих з високою концентрацією ізоніазиду конверсія процесів деструкції відбувалась в 1,6 разу частіше, а процеси розсмоктування спостерігались в 1,3 разу частіше, ніж у хворих з низькою концентрацією ізоніазиду. Згідно культурального методу на момент завершення лікування припинення бактеріовиділення спостерігалось в 3,1 разу частіше у хворих з ВКІ, а розвиток хіміорезистентного туберкульозу відзначався в 3,1 разу частіше, ніж в групі з НКІ. Таким чином, визначення концентрації ізоніазиду через 4 год після прийому препарату може допомогти у прогнозуванні наслідків лікування ТБ і можливої корекції терапії захворювання.

6.2. Динаміка лабораторних показників у хворих на туберкульоз залежно від вмісту ізоніазиду в крові

На початку лікування у хворих з ВКІ рівень гемоглобіну і кількість еритроцитів були на 7,5 % ($P < 0,05$; $CI = 3,84 \dots 13,64$) і 6,8 % ($P < 0,001$; $CI = 0,15 \dots 0,45$) вище, ніж у пацієнтів з НКІ відповідно (табл. 6.3).

Таблиця 6.3

Показники «червоної крові» та ШОЕ до початку та після стаціонарного лікування згідно концентрації ізоніазиду в крові (Mean±SEM)

Конц. ізоніазиду, мкг/мл	N	Кількість еритроц., Т/л	Гемоглобін, г/л	МСНС	Кількість лейкоцитів, Г/л	ШОЕ, мм/год
НА ПОЧАТКУ ЛІКУВАННЯ						
<2,00	42	4,44±0,07	117,64±1,24	276,58±2,10	9,09±0,38	27,00±3,40
>2,00	44	4,74±0,04*	126,38±1,82*	278,19±1,60	8,42±0,26	20,24±2,15
ПІСЛЯ СТАЦІОНАРНОГО ЛІКУВАННЯ						
<2,00	29	4,34±0,09	122,25±3,75	306,64±8,65 @	7,26±0,26 @	12,00±1,74 @
>2,00	44	4,74±0,05*	125,67±2,13	292,00±3,28 @	6,82±0,22 @	10,47±1,16 @

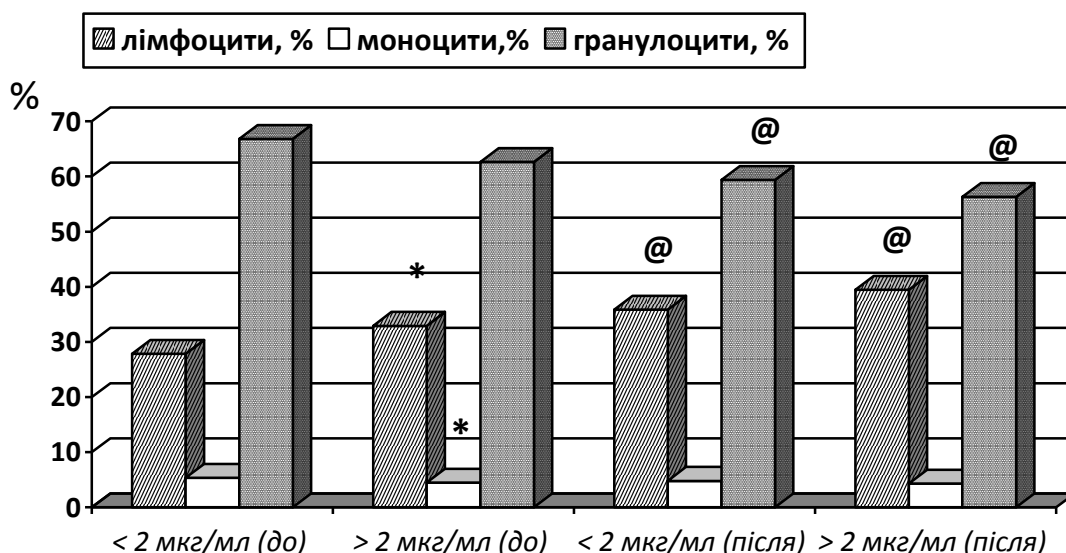
Примітки:

1. * - $P < 0,05$ (відносно відповідної групи <2,00 мкг/мл);
2. @ - $P < 0,05$ (відносно відповідної групи на початку лікування).

Водночас середня концентрація гемоглобіну в еритроциті (МСНС) вірогідно не відрізнялась між групами хворих на туберкульоз ($P > 0,05$). У хворих з НКІ відзначалась дещо більша кількість лейкоцитів в периферичній крові і вища швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ), ніж у пацієнтів з ВКІ ($P > 0,05$). Причому середній показник ШОЕ в усіх групах був вищим від норми.

Серед хворих з НКІ на початку лікування спостерігалась менша на 18,2% ($P < 0,05$; CI=0,52...9,62) частка лімфоцитів і більша на 19,2 % ($P < 0,01$; CI=-1,48...-0,24) частка моноцитів в лейкоцитарній формулі, ніж у пацієнтів з ВКІ (рис. 6.3). Також серед хворих з ВКІ було дещо менший відсоток гранулоцитів, ніж у пацієнтів з НКІ ($P > 0,05$).

Наприкінці стаціонарного лікування рівень гемоглобіну і еритроцитів у хворих на туберкульоз практично не змінився у порівнянні з початковими показниками (табл. 6.3).



* - $P < 0,05$ (відносно групи з вмістом ізоніазиду < 2 мкг/мл)

@ - $P < 0,05$ (відносно відповідної групи на початку лікування)

Рис. 6.3. Склад (%) лейкоцитарної формули на початку (до) і при завершенні (після) стаціонарного лікування згідно концентрації ізоніазиду в крові.

Як і на початку лікування у хворих з ВКІ рівень еритроцитів був на 9,2 % вищим, ніж у пацієнтів з НКІ ($P < 0,01$; $CI = 0,21 \dots 0,59$). В результаті стаціонарного лікування відбулось зростання МСНС як в групі з НКІ (+10,9 %; $P < 0,01$; $CI = -49,84 \dots -10,28$), так і в групі з ВКІ (+5,0 %; $P < 0,001$; $CI = -21,07 \dots -6,55$).

Показник ШОЕ на момент виписки у хворих з низьким вмістом ізоніазиду зменшився майже в 2,3 разу ($P < 0,001$; $CI = 7,35 \dots 22,65$), у хворих з високою концентрацією ізоніазиду - майже в 2 рази ($P < 0,001$; $CI = 4,29 \dots 14,62$) відносно початкового рівня (табл. 6.3). Наприкінці стаціонарного лікування у обох групах середній рівень ШОЕ був в межах норми. Серед хворих з низькою і високою концентрацією майже однаково на чверть знизилась кількість лейкоцитів в периферичній крові ($P < 0,001$; $CI = 0,93 \dots 2,27$ і $CI = 0,91 \dots 2,75$ відповідно).

В результаті стаціонарного лікування відбулись певні зміни у лейкоцитарній формулі хворих на ТБ легень. Зокрема, зросла відносна кількість лімфоцитів – на 28,8 % ($P < 0,001$; $CI = -12,32 \dots -3,72$) в групі НКІ і на 19,9 % ($P < 0,01$; $CI = -11,58 \dots -1,52$) в групі ВКІ (рис. 6.3). На момент закінчення стаціонарного лікування зміни у кількості моноцитів у лейкоцитарній формулі

мали невіргодний характер - відбулось деяке зменшення в обох групах ($P>0,05$).

В результаті стаціонарного лікування знизилась кількість гранулоцитів на 12,6 % в групі з НКІ ($P<0,01$; $CI=3,32...11,60$) і на 11,3 % в групі з ВКІ ($P<0,01$; $CI=1,21...11,49$). Водночас як на початку, так і наприкінці стаціонарного лікування у хворих з низькою концентрацією ізоніазиду було дещо менше лімфоцитів, але більше - моноцитів і гранулоцитів в лейкоцитарній формулі, ніж у хворих з високою концентрацією ізоніазиду ($P>0,05$).

На початку лікування у хворих з НКІ рівень тімолової проби був на 37,8 % нижчий ($P<0,01$; $CI=0,11...1,07$), ніж у пацієнтів з ВКІ (табл. 6.4). За всіма іншими біохімічними показниками група з НКІ також мала дещо нижчі показники (загальний білірубін, АлАТ, АсАТ), ніж у ВКІ ($P>0,05$).

Таблиця 6.4

Біохімічні показники крові до початку та після стаціонарного лікування згідно концентрації ізоніазиду в крові (Mean±SEM)

Конц. ізоніазиду, мкг/мл	N	Білірубін, мкМ/л	Тимолова проба, Од	АлАТ, Од/л	ГГТ, Од/л
НА ПОЧАТКУ ЛІКУВАННЯ					
<2,00	42	13,30±0,79	1,56±0,09	19,80±2,32	29,42±2,27
>2,00	44	14,80±0,47	2,15±0,19*	22,46±1,63	27,27±1,47
ПІСЛЯ СТАЦІОНАРНОГО ЛІКУВАННЯ					
<2,00	42	10,62±0,23@	2,17±0,15@	24,08±1,67	31,50±1,28
>2,00	44	12,04±0,28* @	2,50±0,19	25,67±1,28	32,11±1,52@

Примітки:

1. * - $P<0,05$ (відносно групи з вмістом ізоніазиду <2 мкг/мл);
2. @ - $P<0,05$ відносно відповідної групи на початку лікування.

На момент завершення стаціонарного лікування у хворих як з низькою, так і з високою концентрацією ізоніазиду спостерігалось зниження загального

білірубін у – на 25,2 % ($P < 0,01$; $CI = 1,02 \dots 4,34$) і на 22,9 % ($P < 0,001$; $CI = 1,68 \dots 3,84$) відповідно. Також рівень загального білірубін у пацієнтів з НКІ був на 13,4 % меншим, ніж в групі ВКІ ($P < 0,001$; $CI = 0,64 \dots 2,20$).

В обох групах спостерігалось зростання показників тимолової проби, особливо у хворих з НКІ (+39,1 %; $P < 0,001$; $CI = -0,96 \dots -0,26$), у хворих з ВКІ зростання мало недостовірний характер. Під час стаціонарного лікування відбулось зростання активності маркерів цитолізу – АлАТ, АсАТ і ГГТ, причому найвищий рівень був у хворих з ВКІ, найнижчий – у хворих з НКІ. У хворих з високим вмістом ізоніазиду рівень ГГТ в результаті стаціонарного лікування зріс на 17,7 % ($P < 0,05$; $CI = -9,04 \dots -0,64$).

Отже, було встановлено, що в результаті стаціонарного лікування незалежно від концентрації ізоніазиду у хворих на ТБ легень відбулось зниження ШОЕ, кількості лейкоцитів, відносної кількості гранулоцитів, водночас зросла відносна кількість лімфоцитів, що розцінюється як ознака ефективного лікування [331].

Причому у хворих з низькою концентрацією ізоніазиду як на початку, так і наприкінці лікування відзначався найбільший рівень ШОЕ, найбільша кількість лейкоцитів водночас і найнижча кількість лімфоцитів в лейкоцитарній формулі, що свідчать про більш виражені патологічні зсуви і меншу ефективність лікування. Це було підтверджено позитивною кореляцією концентрації ізоніазиду в крові з відносною кількістю лімфоцитів і негативною кореляцією з відсотком моноцитів (табл. 6.5).

Також підтверджено наявність прямої кореляції між вмістом ізоніазиду і рівнем еритроцитів, водночас негативної кореляції з вмістом гемоглобіну в еритроцитах (МСН). Під час стаціонарного лікування у всіх категорій хворих на туберкульоз легень зросли маркери функціонування печінки (АлАТ, АсАТ, ГГТ, тимолова проба), водночас вміст білірубін у дещо знизився. Спостерігалась вірогідна позитивна кореляція між вмістом ізоніазиду і показником тимолової проби, рівнем білірубін у (рис. 6.4). Важливо, що найбільші показники ураження печінки – АлАТ і особливо ГГТ спостерігались у хворих з ВКІ.

Кореляція між концентрацією ізоніазиду і лабораторними показниками на початку і при завершенні стаціонарного лікування

Показники	Розрахункове значення t-критерію	
	на початку лікування	при завершенні лікування
Кількість еритроцитів	1,286	3,283*
Вміст гемоглобіну	-1,445	-0,671
МСН	-3,139*	-3,215*
МСНС	-1,882	-1,396
Кількість лейкоцитів	-0,953	-1,149
Кількість лімфоцитів, %	2,084*	1,199
Кількість моноцитів, %	-2,310*	-0,428
Кількість гранулоцитів, %	-1,760	-1,137
ШОЕ	0,384	-1,643
Загальний білірубін	0,457	3,267*
Тимолова проба	3,007*	3,527*
АлТ	1,408	1,567
АсТ	1,495	2,331*
ГГТ	1,771	0,991

Примітка. * $P < 0,05$ (при критичному значенні t-критерію – 1,9876).

Таким чином, у хворих з низькою концентрацією ізоніазиду як на початку, так і наприкінці лікування відзначались більш виражені патологічні зсуви з боку периферичної крові відносно групи з високою вмістом препарату, що свідчить про більшу тяжкість перебігу туберкульозу і меншу ефективність лікування. Найвищий рівень білірубину, тимолової проби наприкінці лікування асоціювався з високою концентрацією ізоніазиду, що свідчить про більший ризик ураження печінки у хворих на туберкульоз. Визначення вмісту ізоніазиду може допомогти у прогнозуванні ефективності і токсичності протитуберкульозної терапії.

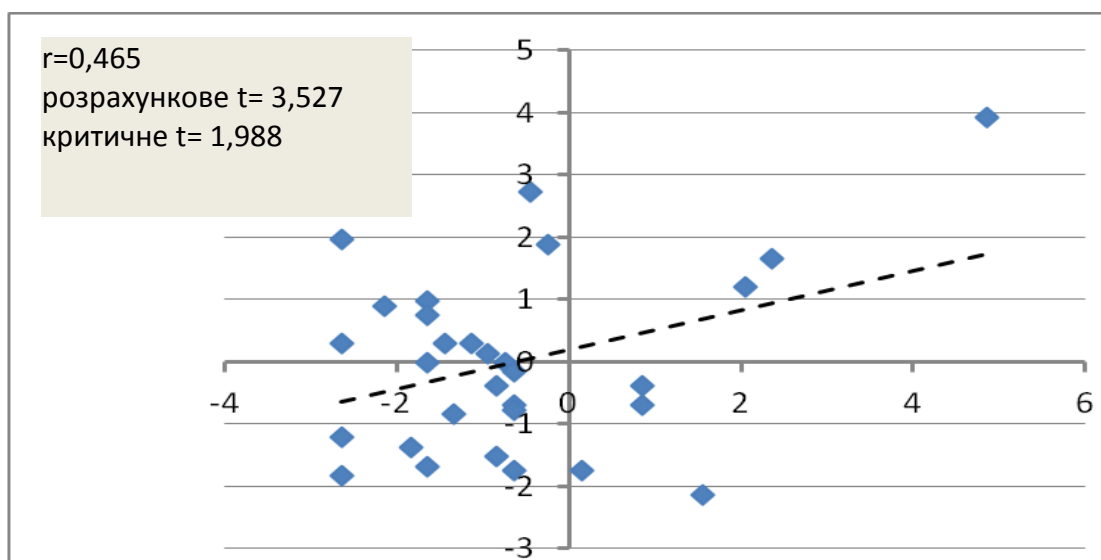


Рис. 6.4. Кореляція між вмістом ізоніазиду та показником тимолової проби наприкінці стаціонарного лікування (штрихом позначено лінію тренду; по осі абсцис – рівень тимолової проби, по осі ординат – концентрація ізоніазиду).

Стосовно впливу ізоніазиду на стан перекісного окиснення ліпідів (ПОЛ) у хворих на туберкульоз легень слід відзначити наступне. Через 2 год після прийому ізоніазиду відзначалась максимальна концентрація ДК – 1,663 моль/л (рис. 6.5). У наступних часових відрізках вміст ДК поступово знижувався і досягнув свого мінімуму – 1,521 моль/л через 1 добу. Відносно активності каталази відзначалась зворотна закономірність – мінімальна активність через 2 год після прийому препарату 0,151 мкат/л - з поступовим зростанням і максимумом через 24 год – 0,168 мкат/л. Аналогічно до каталази змінювався і антиоксидантний індекс, який мав найнижчий показник через 2 год – 0,092 з поступовим збільшенням вказаного показника протягом доби з досягненням максимального рівня через 24 год – 0,120. Таким чином, протягом доби відбувалось поступове зменшення рівня ДК і зростання активності каталази і антиоксидантного індексу на тлі поступового зменшення концентрації ізоніазиду, починаючи з 4 години (рис. 6.5). Водночас вірогідна різниця між показниками про-/антиоксидантної систем на різних часових відрізках була відсутня.

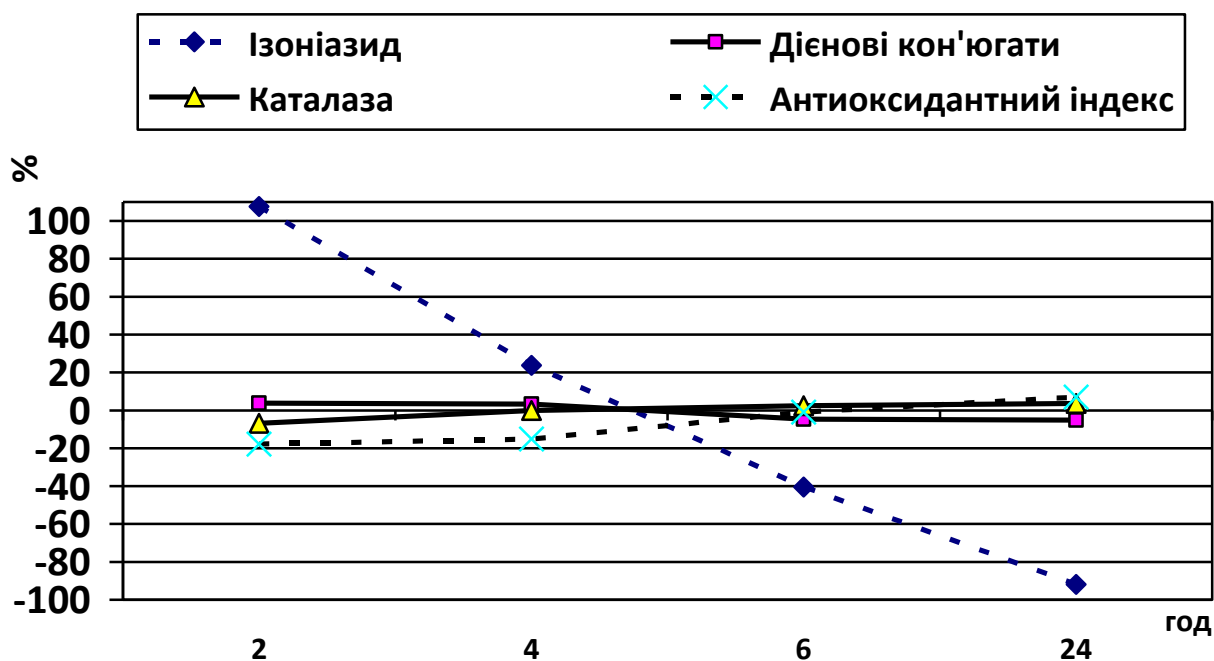
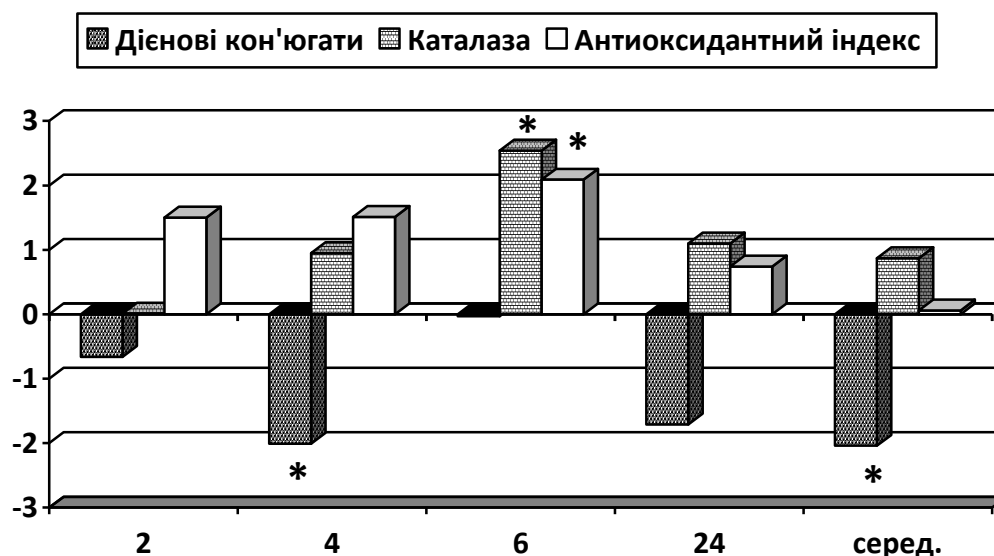


Рис. 6.5. Динаміка концентрації ізоніазиду і показників про-/антиоксидантної систем у хворих на туберкульоз (відносно середньодобового рівня відповідного показника, %).

Зважаючи на зростання показників антиоксидантної системи (каталаза) і зменшення вмісту продуктів прооксидантної системи (ДК) на тлі зменшення вмісту ізоніазиду в крові хворих на туберкульоз було доцільним дослідити наявність кореляції між показниками про-/антиоксидантної систем і концентрацією ізоніазиду. Для цього було проаналізовано зв'язок між вказаними показниками в кожному окремому часовому відрізку – 2, 4, 6, 24 год (рис. 6.6).

Через 4 год після введення ізоніазиду спостерігалась обернена кореляція між концентрацією протитуберкульозної речовини і вмістом ДК (розрахункове значення t-критерію 2,011 при критичному значенні t-критерію 1,988) з одного боку, і через 6 год - пряма кореляція з активністю каталази і антиоксидантним індексом (розрахункове значення t-критерію 2,544 і 2,086 при критичному значенні t-критерію 1,988). Також середньо добовий рівень ізоніазиду обернено корелював з вмістом ДК. Таким чином, отримані результати засвідчили обернену кореляцію між концентрацією ізоніазиду і вмістом ДК, а також пряму кореляцію з активністю каталази і рівнем антиоксидантного індексу.



* - розрахунковий t-критерій більше від критичного значення t-критерію 1,988

по осі абсцис – час після введення ізоніазиду (серед. – середньодобовий показник); по осі ординат – розрахунковий t-критерій

Рис. 6.6. Кореляція між концентрацією ізоніазиду та відповідними часовими показниками про-/антиоксидантної систем.

Також були обраховані такі інтегральні показники як період напіввиведення ($T_{1/2}$) в часових інтервалах 2-4, 4-6 год. (інтенсивна елімінація) і 6-24 год. (термінальна елімінація) за формулою:

$$T_{1/2} = \ln 2 / k_{el},$$

де k_{el} – константа елімінація, яка обчислювали за допомогою тангенсу кута, утвореного прямою лінією кінетики ізоніазиду і горизонтальною лінією, що є паралельною до осі абсцис. Показники AUC («площа під кривою») для ізоніазиду була обрахована за допомогою позамодельного методу трапецій.

Згідно отриманих даних, $T_{1/2}$ (2-4 год) ізоніазиду становив $2,34 \pm 0,48$ год; $T_{1/2}$ (4-6 год.) - $2,72 \pm 0,43$ год; $T_{1/2}$ (6-24 год) – $4,42 \pm 0,34$ год; AUC – $24,43 \pm 5,12$ мкг/мл*год. Середньо добовий рівень ДК і рівень через 2, 24 год після прийому ізоніазиду обернено корелював з AUC ізоніазиду (розрахункове значення t-критерію становило -2,271, -2,030 і -3,080 відповідно при критичному значенні t-критерію – 1,988) (табл. 6.6).

Отримані дані засвідчили, що зменшення концентрації ізоніазиду протягом доби після введення асоціювалось з певним зменшенням вмісту

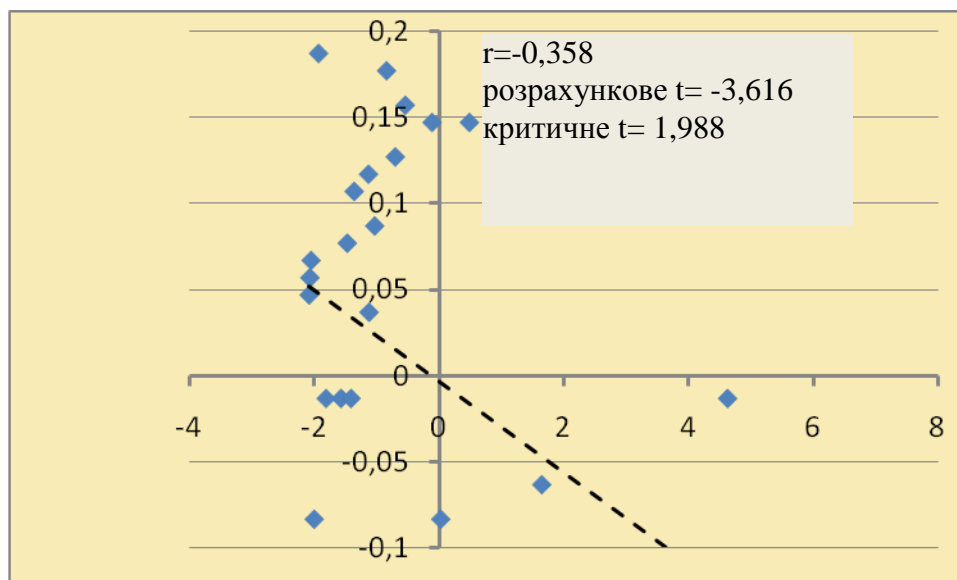
продуктів ПОЛ (ДК) і зростанням активності ферменту АОС – каталази, а також антиоксидантного індексу. Це узгоджується з літературними даними, згідно яких ізоніазид характеризується системною токсичністю, зокрема гепато- і нейротоксичністю [334].

Таблиця 6.6

Кореляція між показниками фармакокінетики ізоніазиду та про-/антиоксидантної систем

Показники про- та антиоксидантної системи		Розрахункове значення t-критерію			
		AUC ізоніазиду	T _{1/2} ізоніазиду (2-4 год.)	T _{1/2} ізоніазиду (4-6 год.)	T _{1/2} ізоніазиду (6-24 год.)
Дієнові кон'югати	2 год.	-2,030*	-1,477	-2,183*	-1,759
	4 год.	-1,658	-0,335	-2,922*	-1,933
	6 год.	-0,7065	-0,373	-1,130	-0,804
	24 год.	-3,080*	-1,298	-3,616*	1,359
	Серед.	-2,271*	-1,095	-3,034*	-1,274
Каталаза	2 год.	-0,092	0,637	0,165	0,735
	4 год.	1,424	1,227	-0,4577	-1,221
	6 год.	2,112*	2,687*	-0,074	-3,010*
	24 год.	-0,993	0,395	-0,681	-0,052
	Серед.	0,640	1,380	-0,308	-1,135
Антиоксидантний індекс	2 год.	0,615	1,030	1,122	0,604
	4 год.	1,993*	1,270	0,671	-0,553
	6 год.	1,943	2,202*	0,306	-2,517*
	24 год.	-0,238	0,433	0,167	-0,611
	Серед.	-0,612	0,006	-0,572	0,619

Примітка. * - розрахунковий t-критерій більше від критичного значення t-критерію 1,988.



штрихом позначено лінію тренду, по осі абсцис – $T_{1/2}$ (4-6 год) ізоніазиду, по осі ординат – вміст дієнових кон'югатів.

Рис. 6.7. Кореляція між $T_{1/2}$ (4-6 год.) ізоніазиду та вмістом дієнових кон'югатів через 24 год після введення препарату.

Водночас досить неочікуваною була пряма кореляція між концентрацією ізоніазиду і активністю каталази, антиоксидантним індексом, з одного боку, і обернена кореляція з вмістом ДК. Тобто вища концентрація ізоніазиду асоціювалась з більшою активністю АОС (каталази) і низьким вмістом продуктів ПОЛ (ДК). Вище згадані результати знайшли підтвердження при дослідженні АУС ізоніазиду, що відбиває вміст препарату в крові. Так, виявлено пряму кореляцію АУС ізоніазиду з активністю каталази і антиоксидантним індексом, та обернену кореляцію з вмістом ДК. Швидкість елімінації ізоніазиду, яка виражалась через період напіввиведення також корелювала з станом про-/антиоксидантної систем. Так, чим повільніше виводився ізоніазид з організму в інтервалі 2-4 і 4-6 год після введення, тим вище була активність АОС (каталази, антиоксидантний індекс) і нижчим був вміст продуктів ПОЛ (ДК). Для періоду напіввиведення ізоніазиду в інтервалі 6-24 год спостерігались зворотні закономірності, оскільки швидке виведення препарату в цьому інтервалі асоціювалось з повільним виведенням препарату в інтервалах 2-4 год (розрахункове значення t-критерію -2,742).

Неочікувана кореляція концентрації ізоніазиду з показниками про- і антиоксидантної систем можливо пов'язана з особливостями впливу метаболітів ізоніазиду, що утворюються в організмі людини (ацетилізоніазиду, гідразину).

Отже, зменшення концентрації ізоніазиду у хворих на туберкульоз легень асоціювалась зі зменшенням рівня ДК і збільшенням активності каталази. Вірогідної різниці в стані про- і антиоксидантної систем у носіїв різних генотипів ацетилювання під час застосування ізоніазиду не спостерігалось. Концентрація ізоніазиду у хворих на туберкульоз обернено корелювала з рівнем ДК і прямо корелювала з активністю каталази. Період напіввиведення ізоніазиду (2-4 і 4-6 год.) і АUC корелювали прямо з активністю каталази і антиоксидантним індексом, водночас обернено корелювали з вмістом ДК.

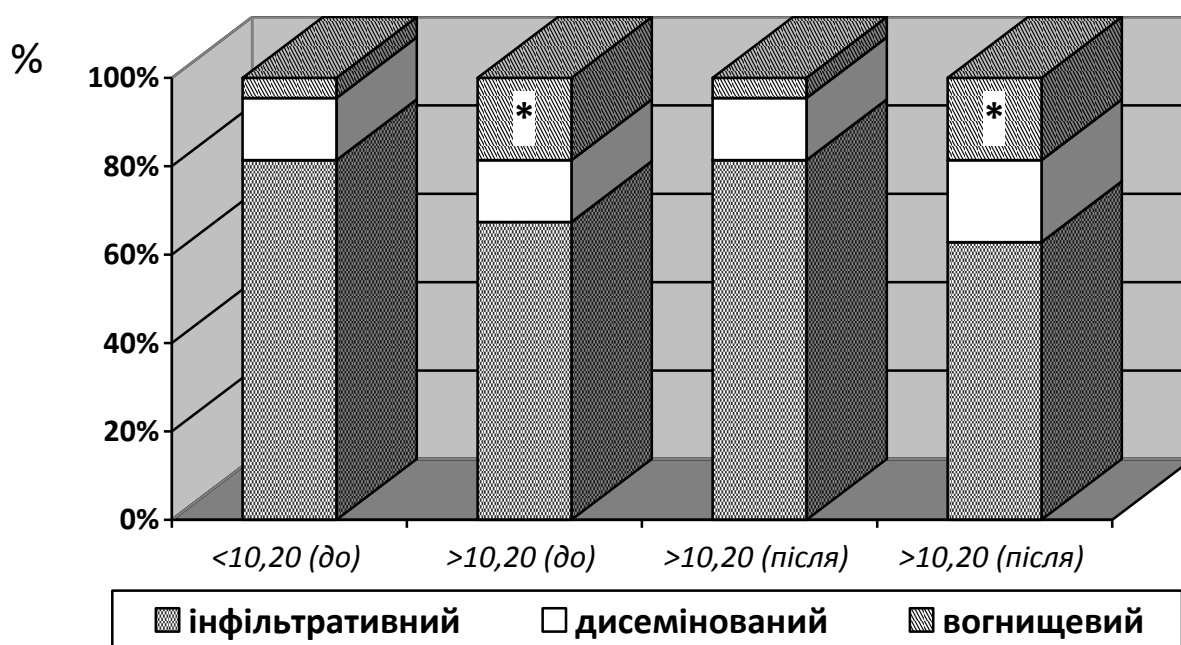
6.3. Результати лікування туберкульозу легень в залежності від концентрації рифампіцину в крові

Згідно концентрації рифампіцину, яку вимірювали через 6 год після введення препарату, хворих поділили порівну на групу з високою концентрацією рифампіцину ($>10,20$ мкг/мл; ВКР) і групу з низькою концентрацією рифампіцину ($<10,20$ мкг/мл; НКР). В обох групах опинилось по 43 хворих. Вибір часового відрізка пов'язаний з тим, що саме через 6 год. концентрація знижується, тобто процеси елімінації препарату переважають над його надходженням в кров.

На початку стаціонарного лікування процеси деструкції спостерігались у 39,5 % хворих з НКР і 48,8 % хворих з ВКР (табл. 6.7). У хворих з НКР дещо частіше спостерігався інфільтративний туберкульоз, ніж у хворих з ВКР ($P>0,05$). Водночас в групі ВКР майже в 4 рази частіше спостерігався вогнищевий туберкульоз, ніж у хворих з НКР (18,6 проти 4,7 %, $P<0,05$; $\chi^2=4,07$ при критичному значенні тут і далі $\chi^2=3,84$) (рис. 6.8).

Ураження обох легень спостерігалось у третини хворих з НКР і половини хворих з ВКР. Процеси інфільтрації були присутні у 55,8 і 48,8 % хворих з НКР

і ВКР відповідно, ознаки розпаду легеневої тканини – у 7,0 і 25,6 % відповідно, ознаки туберкульозного обсіменіння – у 37,2 і 25,6 % відповідно. Отже, процес розпад в тканин легень спостерігались серед хворих з високою концентрацією рифампіцину в 3,7 разу частіше, ніж в групі з низькою концентрацією рифампіцину ($P < 0,05$; $\chi^2 = 5,46$). На початку стаціонарного лікування незалежно від генотипу за даними мікроскопії бактеріовиділення відзначалось у 51,2 і 44,2 % хворих з високою і низькою концентрацією рифампіцину відповідно. Згідно посіву майже половина хворих з НКР і дещо більше – 67,4 % - хворих з ВКР виділяли збудника туберкульозу (рис. 6.9). Більшість хворих з НКР або ВКР належали до I або III категорії – 86,0 і 93,0 % відповідно. Таким чином, на початку лікування хворі, що мали різну концентрацію рифампіцину, не мали істотних відмінностей щодо важкості і особливостей перебігу туберкульозу. Тривалість стаціонарного лікування у хворих з високою і низькою концентрацією рифампіцину практично не відрізнялись між собою ($94,37 \pm 4,29$ і $89,73 \pm 4,16$ днів).



* - $P < 0,05$ (відносно хворих з концентрацією рифампіцину $< 10,20$ мкг/мл)

Рис. 6.8. Характер ураження легень з урахуванням концентрації рифампіцину через 6 год після введення ($<$ або $> 10,20$ мкг/мл) на початку (до) і наприкінці (після) стаціонарного лікування.

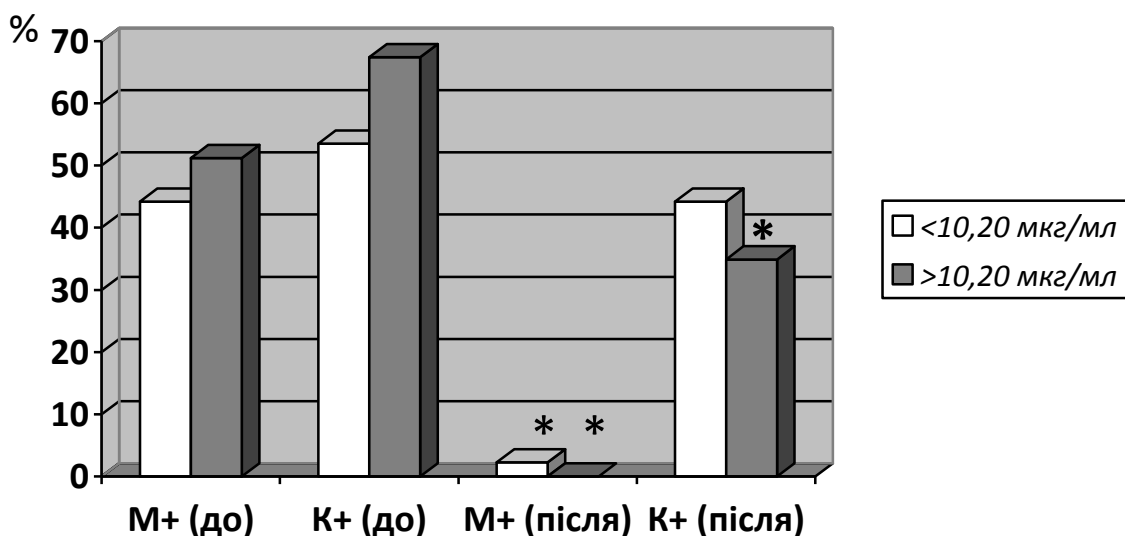
Таблиця 6.7

Характеристика туберкульозного процесу в залежності від концентрації рифампіцину (через 6 год)

Характеристика туберкульозного процесу		На початку лікування, (%)		Наприкінці стаціонар. лікування, (%)	
		<10,20 мкг/мл, n=43	>10,20 мкг/мл, n=43	<10,20 мкг/мл, n=43	>10,20 мкг/мл, n=43
Поширення	обидві легені	14 (32,6)	22 (51,2)	14 (32,6)	17 (39,5)
	частини легені	29 (67,4)	21 (48,8)	29 (67,4)	26 (60,5)
Деструкція	є	17 (39,5)	21 (48,8)	10 (23,3)	12 (27,9)#
	нема	26 (60,5)	22 (51,2)	33 (76,7)	31 (72,1)
Стадія ураження	інфільтрація	24 (55,8)	21 (48,8)	1 (2,3)#	4 (9,3)#
	розпад	3 (7,0)	11 (25,6)*	3 (7,0)	3 (7,0)#
	обсіменіння	16 (37,2)	11 (25,6)	1 (2,3)#	-#
	розсмоктування	-	-	38 (88,4)#	36 (83,7)#
Категорія хворих	1	35 (81,4)	27 (62,8)	31 (72,1)	27 (62,8)
	2	6 (14,0)	3 (7,0)	4 (9,3)	-
	3	2 (4,6)	13 (30,2)	-	8 (18,6)
	4	-	-	8 (18,6)#	8 (18,6)#

Примітки:

- * - $P < 0,05$ (відносно відповідної групи <10,20 мкг/мл);
- # - $P < 0,05$ (відносно відповідної групи на початку лікування).



* - $P < 0,05$ (відносно відповідної групи на початку лікування)

Рис. 6.9. Кількість хворих, які виділяли збудника туберкульозу згідно бактеріоскопії (M+) або культурального методу (K+) залежно від концентрації рифампіцину через 6 год. після введення (< або >10,20 мкг/мл) на початку (до) або наприкінці (після) стаціонарного лікування.

Наприкінці стаціонарного лікування процеси деструкції зберігались у 23,3 хворих з НКР і 27,9 % хворих з ВКР, тобто відбулось зниження поширення деструкція легеневої тканини, але лише у хворих з ВКР це процес мав вірогідний характер ($P < 0,05$; $\chi^2 = 3,98$). В обох групах процеси деструкції припинились приблизно у 41-43% хворих; тривалість припинення деструкції також вірогідно не відрізнялась між групами (табл. 6.8).

Як і на початку, так і при завершенні стаціонарного лікування у більшості хворих з високою і низькою концентрацією рифампіцину (62,8 і 81,4 % відповідно) спостерігалась інфільтративна форма туберкульозного процесу. В той же час, як і на початку лікування, у 18,6 % хворих з ВКР спостерігалась вогнищева форма ТБ, що у 4 рази перевищувало показник групи з НКР ($P < 0,05$; $\chi^2 = 4,07$) (рис. 6.8). Наприкінці стаціонарного лікування у хворих з високою концентрацією рифампіцину дещо зменшилась частота білатерального ураження легень (з 51,2 до 39,5 %, $P > 0,05$), і водночас не змінилась у хворих з НКР (табл. 6.7).

Таблиця 6.8

Припинення процесів деструкції легеневої тканини і бактеріовиділення в залежності від концентрації рифампіцину

Рівень рифампіцину	Припинення процесу деструкції		Припинення бактеріовиділення за даними			
	кільк. хворих (%)	тривалість (днів) ± SEM	мікроскопії		посіву	
			кільк. хворих (%)	тривалість (днів) ± SEM	кільк. хворих (%)	тривалість (днів) ± SEM
<10,20 мкг/мл	7/17 (41,2)	56,0±5,3	18/19 (94,7)	57,4±2,8	4/23 (17,4)	66,3±3,5
>10,20 мкг/мл	9/21 (42,9)	62,7±5,5	22/22 (100)	62,3±3,5	14/29 (48,3)*	63,2±4,9

Примітка. * - $P < 0,05$ (відносно відповідної групи <10,20 мкг/мл).

В результаті проведеного стаціонарного лікування кількість хворих з НКР і ВКР з явищами інфільтрації знизилось в 24,3 разу ($P < 0,05$; $\chi^2 = 29,83$) і 5,2 разу ($P < 0,05$; $\chi^2 = 16,30$) відповідно; припинились явища обсіменіння в групі з ВКР ($P < 0,05$; $\chi^2 = 12,61$); серед хворих з НКР явища обсіменіння зменшились в 16,2 разу відносно початкового рівня ($P < 0,05$; $\chi^2 = 16,50$). У хворих з ВКР в результаті стаціонарного лікування явища розпаду зменшились в 3,7 разу ($P < 0,05$; $\chi^2 = 5,46$), при цьому у хворих з НКР частота явищ не змінилась. В той же час явища розсмоктування і ущільнення в легеневій тканині спостерігалось у 88,4 % пацієнтів з НКР і 83,7 % пацієнтів з ВКР ($P < 0,05$; $\chi^2 = 68,08$ і $\chi^2 = 61,92$ відповідно). Протягом стаціонарного лікування кількість хворих, яка належали до 4-ої категорії, в обох групах зросла до 18,6 % ($P < 0,05$; $\chi^2 = 8,82$ для обох груп).

За даними мікроскопії бактеріовиділення на момент виписки зі стаціонару було відсутнім у 100 % хворих з ВКР і 97,7 % хворих з НКР (табл. 6.8, рис. 6.9). Припинення бактеріовиділення при цьому відбулось у 94,7 % хворих з НКР і 100 % хворих з ВКР ($P < 0,05$; $\chi^2 = 21,11$ і $\chi^2 = 26,56$ відповідно

відносно вихідного стану) (табл. 6.8). При цьому тривалість конверсії бактеріовиділення склало близько 57 і 62 дні відповідно.

Згідно даних культурального методу наприкінці стаціонарного лікування бактеріовиділення спостерігалось приблизно у 44,2% хворих з високою концентрацією рифампіцину і у 34,9% хворих з низькою концентрацією рифампіцину. Причому лише у хворих з ВКР відбулось вірогідне зменшення бактеріовиділення в 1,9 разу ($P < 0,05$; $\chi^2 = 10,48$). Припинення бактеріовиділення спостерігалось в 2,8 рази частіше у хворих з високою концентрацією рифампіцину, ніж в групі з низькою концентрацією рифампіцину (48,3 проти 17,4 %; $P < 0,05$; $\chi^2 = 5,41$). Тривалість припинення бактеріовиділення вірогідно не відрізнялась між групами і була близько 63 і 66 днів відповідно.

Отримані дані засвідчили, що на початку лікування у хворих з різним вмістом рифампіцину розбіжностей щодо характеру і тяжкості туберкульозного процесу (поширеність деструкції, бактеріовиділення тощо) не відзначались, тобто обидві групи на початку лікування були тотожними. Наприкінці стаціонарного лікування процеси розсмоктування, припинення деструкції, розвиток хіміорезистентного туберкульозу (тобто приналежність до 4-ої категорії) спостерігались однаково в обох групах. В той же час у хворих з концентрацією рифампіцину понад від 10,20 мкг/мл частіше припинялось бактеріовиділення згідно культурального методу, ніж у хворих з низькою концентрацією рифампіцину. Отже, отримані дані засвідчили, що визначення концентрації рифампіцину на початку лікування мало пов'язано з ефективністю та наслідками хіміотерапії ТБ.

6.4. Лабораторні показників у хворих на туберкульоз в залежності від вмісту рифампіцину в крові

На початку лікування значних відмінностей у рівні еритроцитів, лейкоцитів, лейкоцитарної формули не спостерігалось, за виключенням середньої концентрації гемоглобіну в еритроциті, яка була у хворих з НКР вище на 3 %, ніж в групі з ВКР ($P < 0,05$; $CI = 1,61..14,37$) (табл. 6.9; 6.10).

Таблиця 6.9

Показники «червоної крові» та ШОЕ на початку та після стаціонарного лікування в залежності від концентрації рифампіцину (через 6 год) ($M \pm sem$)

Концентрація рифампіцину	n	Кількість еритроцитів, Г/л	Гемоглобін, г/л	МСНС	ШОЕ
НА ПОЧАТКУ ЛІКУВАННЯ					
<10,20 мкг/мл	43	4,60±0,10	123,73±3,45	281,07±2,31	24,27±1,03
>10,20 мкг/мл	43	4,59±0,05	116,71±3,68	273,08±2,15*	23,00±1,07
ПІСЛЯ СТАЦІОНАРНОГО ЛІКУВАННЯ					
<10,20 мкг/мл	43	4,48±0,09	126,93±4,06	303,21±9,80#	12,27±0,91#
>10,20 мкг/мл	43	4,65±0,10	120,92±3,14	293,58±6,16#	9,83±0,76#*

Примітки (табл. 6.9 – 6.11):

- * - $P < 0,05$ (відносно відповідної групи з НКР);
- # - $P < 0,05$ (відносно відповідної групи на початку лікування).

Таблиця 6.10

Показники «білої крові» до початку та після стаціонарного лікування в залежності від концентрації рифампіцину (через 6 год) ($M \pm sem$)

Концентрація рифампіцину	n	Кількість лейкоцитів, Г/л	Лімфоцити, %	Моноцити, %	Гранулоцити, %
НА ПОЧАТКУ ЛІКУВАННЯ					
<10,20 мкг/мл	43	8,72±0,49	30,73±2,01	4,86±0,32	64,39±2,03
>10,20 мкг/мл	43	7,79±0,65	31,08±1,33	4,94±0,28	63,99±2,25
ПІСЛЯ СТАЦІОНАРНОГО ЛІКУВАННЯ					
<10,20 мкг/мл	43	7,03±0,39#	37,73±1,18#	4,75±0,29	57,53±2,17#
>10,20 мкг/мл	43	5,91±0,38#*	38,38±1,45#	4,29±0,29	57,32±1,93#

В результатів стаціонарного лікування зросла середня концентрація гемоглобіну в еритроциті у хворих з НКР на 7,9 % ($P < 0,05$; $CI = -42.49 \dots -1.79$) і у хворих з ВКР на 7,5 % ($P < 0,05$; $CI = -33.69 \dots -7.31$). При завершенні

стаціонарного лікування відзначалось зниження ШОЕ як у хворих з НКР – в 2 рази ($P < 0,001$; $CI = 9,22 \dots 14,78$), так і у хворих з ВКР - в 2,3 разу ($P < 0,001$; $CI = 10,52 \dots 15,82$); зниження рівня лейкоцитів – на 24,0 % ($P < 0,05$; $CI = 0,42 \dots 2,96$) і на 31,8 % ($P < 0,05$; $CI = 0,36 \dots 3,40$). При цьому у хворих з ВКР рівень ШОЕ і кількість лейкоцитів були на 24,8 % ($P < 0,05$; $CI = 0,04 \dots 4,84$) і 19,0 % ($P < 0,05$; $CI = 0,02 \dots 2,22$) нижче, ніж у пацієнтів з НКР. Також в обох групах збільшилась відносна кількість лімфоцитів – на 22,8 % у хворих з НКР ($P = 0,005$; $CI = -2,29 \dots -11,71$) і на 23,5 % з ВКР ($P < 0,001$; $CI = -11,28 \dots -3,32$), водночас зменшилась відносна кількість гранулоцитів – на 11,9 % ($P < 0,05$; $CI = 0,85 \dots 12,87$) і на 11,6 % ($P < 0,05$; $CI = 1,40 \dots 12,56$) відповідно.

Вже на початку стаціонарного лікування хворі, які мали високу концентрацію рифампіцину в крові, також мали більший рівень білірубину і ГГТ – на 22,3 % ($P < 0,05$; $CI = -5,46 \dots -0,16$) і 18,0 % ($P < 0,01$; $CI = -6,60 \dots -1,54$) відповідно, відносно хворих з низькою концентрацією рифампіцину (табл. 6.11).

Таблиця 6.11

Біохімічні показники крові до початку та після стаціонарного лікування в залежності від концентрації рифампіцину (через 6 год.) ($M \pm sem$)

Концентрація рифампіцину	n	Білірубин, мкМ/л	Тимолова проба, Од	АлАТ, Од/л	АсАТ, Од/л
НА ПОЧАТКУ ЛІКУВАННЯ					
<10,20 мкг/мл	43	12,59±0,99	1,56±0,24	20,52±1,12	26,60±1,57
>10,20 мкг/мл	43	15,40±0,89*	2,15±0,33	21,75±1,63	29,95±1,77
ПІСЛЯ СТАЦІОНАРНОГО ЛІКУВАННЯ					
<10,20 мкг/мл	43	9,86±0,28#	1,72±0,16	29,13±1,44#	29,75±1,42
>10,20 мкг/мл	43	12,91±0,37# *	3,01±0,25#*	30,04±1,69#	33,87±1,51*

При завершенні стаціонарного лікування спостерігалось зменшення вмісту білірубину як серед хворих з ВКР, так і з НКР – на 19,3 % $P < 0,05$

(CI=0,57...4,41) і 27,7% $P<0,05$ (CI=0,68...4,78) відповідно; відзначалось також збільшення активності АЛАТ – на 38,1 % ($P<0,001$; CI=-12,96...-3,62) і на 42,0 % ($P<0,001$; CI=-12,24...-4,98) відповідно; збільшення активності АсАТ – на 17,2 % ($P<0,001$; CI=-3,97...-2,13) і на 36,5 % ($P<0,001$; CI=-11,07...-5,43) відповідно.

Також у хворих з високою концентрацією рифампіцину в результаті стаціонарного лікування відбулось зростання тимолової проби на 40,0 % ($P<0,05$; CI=-1,68...-0,04) відносно початкового рівня. На момент виписування зі стаціонару хворі з ВКР мали більш високий рівень білірубину, тимолової проби і ГГТ – на 30,9 % ($P<0,05$; CI=0,58...4,68), на 75,0 % ($P<0,001$; CI=-1,88...-0,70) і на 13,8 % ($P<0,05$; CI=-8,24...0,00).

Отже, було встановлено, що хворі на туберкульоз, у яких концентрація була вищою від 10,20 мкг/мл через 6 год після введення препарату, при завершенні стаціонарного лікування мали вищу концентрація білірубину, показник тимолової проби, активність ГГТ, ніж хворі з концентрацією рифампіцину менше від 10,20 мкг/мл. Це свідчить про більший ризик розвитку гепатотоксичності у хворих з більшим рівнем рифампіцину. Представлені дані засвідчили, що хворі з ВКР мали нижчий рівень ШОЕ і кількість лейкоцитів, ніж з низькою концентрацією антитуберкульозного антибіотика, що може свідчити про більшу успішність лікування за умови високої концентрації рифампіцину або може підтверджувати таку побічну дію рифампіцину, як пригнічення кровотворення.

Було досліджено наявність можливого зв'язку між фармакокінетикою рифампіцину і станом ПОЛ у хворих на ТБ легень. Максимальна концентрація ДК – 1,663 моль/л спостерігалась через 2 год після прийому рифампіцину (табл. 6.12, рис. 6.10).

У подальшому вміст ДК поступово знижувався і досягнув свого мінімуму – 1,521 моль/л через 1 добу. Відносно активності каталази відзначалась зворотна закономірність – мінімальна активність через 2 год після прийому препарату 0,151 мкат/л - з поступовим зростанням і максимумом через 24 год – 0,168 мкат/л. Аналогічно до каталази змінювався антиоксидантний індекс, який

мав найнижчий показник через 2 год – 0,092 з поступовим збільшенням вказаного показника на протязі доби з досягненням максимального рівня через 24 год. – 0,120. Таким чином, протягом доби відбувалось поступове зменшення рівня ДК і зростання активності каталази і антиоксидантного індексу на тлі поступового зменшення концентрації рифампіцину, починаючи з 6 години (рис. 6.10). Водночас вірогідна різниця між показниками про-/ антиоксидантної систем на різних часових відрізках була відсутня.

Табл. 6.12

Вміст рифампіцину та показники про-/антиоксидантної систем у хворих на туберкульоз легень на протязі доби

Час, год	Концентрація рифампіцину, мкг/мл	Дієнові кон'югати, моль/л	Каталаза, мкат/л	Антиоксидантний індекс
2	12,07±1,49	1,663±0,120	0,151±0,024	0,092±0,018
4	16,16±1,40	1,655±0,105	0,162±0,034	0,095±0,020
6	11,38±1,38	1,526±0,095	0,166±0,025	0,111±0,018
24	7,42±1,29	1,521±0,104	0,168±0,032	0,120±0,023
Серед.	11,67±1,28	1,602±0,096	0,162±0,023	0,112±0,020

Зважаючи на зростання показників АОС (каталаза) і зменшення вмісту продуктів ПОЛ (ДК) на тлі зменшення вмісту рифампіцину в крові хворих на туберкульоз легень було доцільним дослідити наявність кореляції між показниками про-/ антиоксидантної систем і концентрацією рифампіцину. Для цього було проаналізовано зв'язок між вказаними показниками в кожному окремому часовому відрізку – 2, 4, 6, 24 год (рис. 6.11). Лише у часовому відрізку «6 год» спостерігалась незначна, але вірогідна кореляція між концентрацією рифампіцину і ДК (розрахункове значення t-критерію 2,556 при критичному значенні t-критерію 1,988) з одного боку, і зворотна кореляція з активністю каталази і антиоксидантним індексом (розрахункове значення t-

критерію $-1,991$ і $-2,685$ при критичному значенні t -критерію $1,988$). Таким чином, отримані результати засвідчили пряму кореляцію між концентрацією рифампіцином і вмістом ДК, а також зворотну кореляцію з активністю каталази і рівнем антиоксидантного індексу.

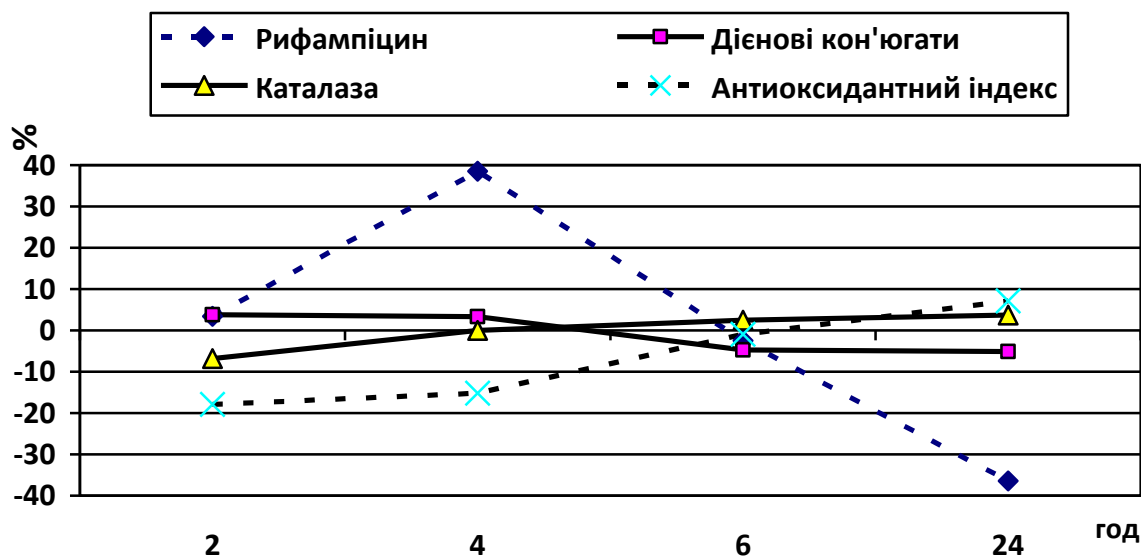


Рис. 6.10. Динаміка концентрації рифампіцину і показників про-/антиоксидантної систем у хворих на туберкульоз (відносно середньодобового рівня відповідного показника, %).



* - розрахунковий t -критерій більше від критичного значення $1,988$
 по осі абсцис – час після введення рифампіцину (серед. – середньодобовий показник), по осі ординат – розрахунковий t -критерій

Рис. 6.11. Кореляція між концентрацією рифампіцину та відповідними часовими показниками про-/антиоксидантної системи.

Також були обраховані такі інтегральні показники як період напіввиведення ($T_{1/2}$) в часових інтервалах 4-6 год. (інтенсивна елімінація) і 6-24 год. (термінальна елімінація) за формулою:

$$T_{1/2} = \ln 2 / k_{el},$$

де k_{el} – константа елімінація, яка обчислювали за допомогою тангенсу кута, утвореного прямою лінією кінетики рифампіцину і горизонтальною лінією, що є паралельною до осі абсцис. Показники AUC («площа під кривою») була обрахована за допомогою позамоделного методу трапецій (табл. 6.13). Згідно отриманих даних, $T_{1/2}$ (4-6 год) рифампіцину становив $6,76 \pm 2,03$ год; $T_{1/2}$ (6-24 год) – $36,23 \pm 13,51$ год; AUC – $245,63 \pm 51,64$ мкг/мл*год.

Середньодобовий рівень ДК і рівень через 24 год після прийому рифампіцину позитивно корелював з AUC рифампіцину (розрахункове значення t-критерію становило 2,439 і 2,657 відповідно при критичному значенні t-критерію – 1,988). Також вміст ДК корелював з $T_{1/2}$ (4-6 год) і $T_{1/2}$ (6-24 год). Причому, якщо з першим показником корелювала концентрація ДК через 4 і 6 год після введення рифампіцину (розрахункове значення t-критерію становило 2,426 і 4,191), то з другим показником – через 24 год і середньодобовий показник (розрахункове значення t-критерію становило 3,281 і 2,424 відповідно).

Активність каталази через 24 год після введення рифампіцину, а також середньо добова активність каталази характеризувались оберненою кореляцією з AUC рифампіцину - розрахункове значення t-критерію становило -2,104 і -2,018 відповідно. Також активність каталази відзначалась оберненою кореляцією з $T_{1/2}$ (4-6 год) рифампіцину. Так, розрахункове значення t-критерію через 2 і 24 год після введення рифампіцину становило -3,530 і -1,991 відповідно; для середньодобової активності каталази -2,905. Водночас між активністю каталази і $T_{1/2}$ (6-24 год) рифампіцину спостерігалась пряма кореляція, яка відзначалась через 6, 24 год після застосування рифампіцину, а також у середньо добовому значенні - розрахункове значення t-критерію становило 2,591; 2,082 і 2,662 відповідно.

Табл. 6.13

Кореляція між показниками фармакінетики рифампіцину та про-
/антиоксидантної систем

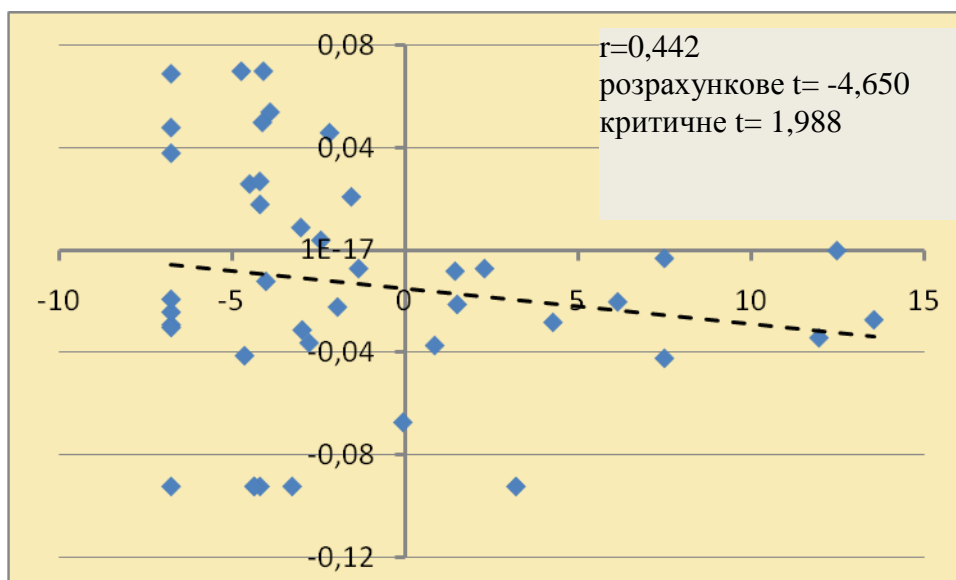
Показники про- та антиоксидантн ої системи		Розрахункове значення t-критерію		
		AUC рифампіцину	T _{1/2} рифампіцину (4-6 год)	T _{1/2} рифампіцину (6-24 год)
Дієнові кон'югати	2 год	1,225	0,799	0,557
	4 год	0,725	2,426*	1,128
	6 год	1,666	4,191*	1,780
	24 год	2,657*	-0,147	3,281*
	Серед.	2,439*	1,516	2,424*
Кагалаза	2 год	-1,835	-3,530*	1,081
	4 год	-1,350	-1,689	0,284
	6 год	-1,760	-0,217	2,591*
	24 год	-2,104*	-1,991*	2,082*
	Серед.	-2,018*	-2,905*	2,662*
Антиоксидантний індекс	2 год	-1,194	-4,650*	1,427
	4 год	-0,078	-3,329*	0,278
	6 год	-2,605*	-1,743	1,379
	24 год	-3,210*	-2,508*	1,299
	Серед.	-2,764*	-2,652*	0,804

Примітка. * - розрахунковий t-критерій більше від критичного значення t-критерію 1,988.

Після обчислення антиоксидантного індексу для кожного хворого на туберкульоз було встановлено наявність оберненої кореляції між цим індексом і вмістом ДК через 6, 24 год після прийому рифампіцину і середньо добовим рівнем (розрахункове значення t-критерію становило -2,605; -3,210 і -2,764

відповідно). Період напіввиведення рифампіцину в часовому інтервалі 4-6 год обернено корелював з антиоксидантним індексом майже на протязі доби після прийому препарату. Так, розрахункове значення t-критерію через 2 год становило -4,650, через 4 год -3,329, через 24 год -2,508, в середньому на протязі доби -2,652 (рис. 6.12). Вірогідної кореляції між $T_{1/2}$ (6-24 год) рифампіцину і антиоксидантним індексом не відзначалось.

Отримані дані засвідчили, що зменшення концентрації рифампіцину протягом доби після введення асоціювалось з певним зменшенням вмісту продуктів ПОЛ (ДК) і зростанням активності ферменту АОС – каталази, а також антиоксидантного індексу. Також була відзначена пряма кореляція між концентрацією рифампіцину в крові хворих і рівнем ДК, а також обернена кореляція з активністю каталази і антиоксидантним індексом через 6 год. після застосування рифампіцину. Взаємозв'язок між вмістом рифампіцину і вмістом продуктів ПОЛ підтвердився наявністю прямої кореляції між АUC і вмістом ДК і оберненої кореляції між АUC і активністю каталази і антиоксидантним індексом.



по осі абсцис позначено $T_{1/2}$ (4-6 год) рифампіцину, по осі ординат – антиоксидантний індекс, штрихом позначено лінію тренду

Рис. 6.12. Кореляція між $T_{1/2}$ (4-6 год.) рифампіцину та антиоксидантним індексом через 2 год після введення препарату.

Швидкість елімінації рифампіцину, яка виражалась через період напіввиведення також корелювала з станом про-/антиоксидантної систем. Так, чим повільніше виводився рифампін з організму в інтервалі 4-6 год. після введення, тим вище був вміст продуктів ПОЛ (ДК) і нижче активність каталази і рівень антиоксидантного індексу.

Отже, вміст рифампіцину в крові у хворих на ТБ легень є фактором, що прямо корелює з рівнем продуктів ПОЛ і обернено корелює із активністю АОС, що може бути фактором розвитку токсичних ефектів рифампіцину під час лікування туберкульозу.

Отже, зменшення концентрації рифампіцину у хворих на туберкульоз асоціювалась зі зменшенням рівня ДК і збільшенням активності каталази. Концентрація рифампіцину у хворих на туберкульоз через 6 год після прийому препарату прямо корелювала з рівнем ДК і обернено корелювала з активністю каталази. Період напіввиведення рифампіцину (4-6 год.) і АUC прямо корелювали з вмістом ДК і обернено – з активністю каталази і антиоксидантним індексом.

Отримані дані засвідчили, що у хворих на туберкульоз з високою концентрацією ізоніазиду (понад 2 мкг/мл через 4 год після введення) частіше спостерігались процеси розсмоктування, відсутність деструкції, рідше частіше зберігалось бактеріовиділення і розвивався мультирезистентний туберкульоз при завершенні лікування, що свідчить про кращу ефективність лікування, ніж у хворих з низькою концентрацією ізоніазиду. З іншого боку, висока концентрація ізоніазиду у хворих на туберкульоз асоціювалась з більшим рівнем білірубину, тимолової проби, що підтверджує вищий ризик розвитку ураження печінки у цих хворих, ніж серед хворих з низьким рівнем ізоніазиду. Зменшення концентрації ізоніазиду у хворих на туберкульоз асоціювалась зі зменшенням рівня ДК і збільшенням активності каталази, водночас концентрація ізоніазиду у хворих на туберкульоз обернено корелювала з рівнем ДК і прямо корелювала з активністю каталази, що можливо пов'язане з

тим, що токсичну дію справляють в більшій мірі метаболіти ізоніазиду, ніж сам протитуберкульозний препарат.

На відміну від концентрації ізоніазиду, вміст рифампіцину не впливав на інтенсивність процесів розсмоктування, припинення деструкції і розвиток мультирезистентного туберкульозу. Водночас високий рівень рифампіцину (понад 10,20 мкг/мл через 6 год після введення) асоціювався з більш частим припиненням бактеріовиділення, нижчим рівнем ШОЕ, ніж у хворих з низькою концентрацією рифампіцину. З іншого боку, високий рівень рифампіцину супроводжувався більш високим рівнем білірубіну, тимолової проби, активністю ГГТ, що свідчить про більший ризик гепатотоксичності при високій концентрації рифампіцину, ніж за умов низької концентрації рифампіцину. Також високий рівень рифампіцину доповнювався підвищеним вмістом продуктів ПОЛ і пригнічення АОС. Отже, отримані дані засвідчили, що визначення концентрації в більшій мірі ізоніазиду і в меншій мірі рифампіцину на початку лікування може допомогти у прогнозі ефективності і наслідків лікування, що може сприяти своєчасній корекції хіміотерапії ТБ.

За матеріалами даного розділу були опубліковані такі роботи:

1. Антоненко П. Б. Зв'язок між фармакокінетикою рифампіцину і станом перекисного окиснення ліпідів у хворих на туберкульоз / П. Б. Антоненко // Актуальні проблеми сучасної медицини : Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2013. – Т. 13, № 3 (43). – С. 87–91.
2. Антоненко П. Б. Вплив ізоніазиду на стан перекисного окиснення ліпідів у хворих на туберкульоз / П. Б. Антоненко // Досягнення біології та медицини. – 2013. – № 2. – С. 53–56.
3. Антоненко П. Б. Динаміка лабораторних показників у хворих на туберкульоз в залежності від вмісту ізоніазиду в крові / П. Б. Антоненко // Український медичний альманах. – 2014. – Т. 17, № 1. – С. 10–13. (Аспекти розвитку фармацевтичних та медичних досліджень на сучасному етапі : IV Всеукраїнська наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 27–28 березня 2014 р., Луганськ : матеріали).

4. Антоненко П. Б. Ефективність лікування туберкульозу легень в залежності від рівня ізоніазиду в крові / П. Б. Антоненко // Вісник проблем біології і медицини. – 2014. – Вип. 2, Т. 3 (109). – С. 122–126.

5. Антоненко П. Б. Вплив ізоніазиду на стан перекисного окиснення ліпідів у хворих на туберкульоз / П. Б. Антоненко // Вітчизняна та світова медицина: вимоги сьогодення : міжнар. наук.-практ. конф., 4–5 жовтня 2013 р., Дніпропетровськ : матеріали. – Дніпропетровськ, 2013. – С. 27–29.

6. Антоненко П. Б. Вміст рифампіцину у хворих на туберкульоз / П. Б. Антоненко // Клінічна фармакологія та фармакотерапія захворювань : VII Всеукраїнська наук.-практ. конф. з міжнар. участю з клінічної фармакології, 25–26 листопада 2013 р., Вінниця : матеріали. – Вінниця, 2013. – С. 157–158.

РОЗДІЛ 7

МЕДИКАМЕНТОЗНА РЕЗИСТЕНТНІСТЬ І ГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ
ШТАМІВ *M.tuberculosis*, ОТРИМАНИХ ВІД ХВОРИХ ТУБЕРКУЛЬОЗОМ7.1. Фармакогенетичне дослідження медикаментозної резистентності
збудника туберкульозу

Загалом було вивчено результати культурального дослідження первинної медикаментозної чутливості 104 культури *M.tuberculosis* (МБТ), отриманих в 2012 р. Під час виконання роботи лише у половини хворих, залучених до даного дослідження, відзначався ріст культури МБТ на поживному середовищі. Зважаючи на малу чисельність отриманих культур додатково було залучено культури від інших хворих на ТБ легень, що вперше діагностовано.

Згідно отриманих даних, серед 104 культур *M.tuberculosis* близько 62 зразків (59,6 %) були чутливими до чотирьох препаратів першої лінії, що досліджувались; водночас, нечутливими до рифампіцину були 21,2 % культур, до етамбутолу – 13,5 % культур (табл. 7.1). Найбільша резистентність спостерігалась до стрептоміцину – 28,8 % культур зі 104 та до ізоніазиду – 32,7 % культур. Такі показники як мультирезистентність і резистентність до всіх чотирьох протитуберкульозних препаратів першої лінії спостерігалась відповідно в 22 (21,2 %) та 4 (3,8 %) випадках з 104, що досліджувались.

При порівнянні отриманих даних з аналогічними показниками, отриманими в 2006 р. в бактеріологічній лабораторії Одеської обласної клінічної протитуберкульозної лікарні (ООКПТЛ), було встановлено значне зменшення резистентності до окремих протитуберкульозних препаратів (табл. 7.1; рис. 7.1). Зокрема первинна резистентність до рифампіцину знизилась в 2,9 разу ($P < 0,05$; $\chi^2 = 25,01$ при критичному значенні тут і далі 3,84), до стрептоміцину – в 2,1 разу ($P < 0,05$; $\chi^2 = 13,79$), до етамбутолу – в 4,3 разу ($P < 0,05$; $\chi^2 = 33,70$). З іншого боку в 6,4 рази зросла кількість хворих, у яких

спостерігалась чутливість до всіх п'яти протитуберкульозних препаратів I^{го} ряду ($P < 0,05$; $\chi^2 = 36,90$).

Таблиця 7.1

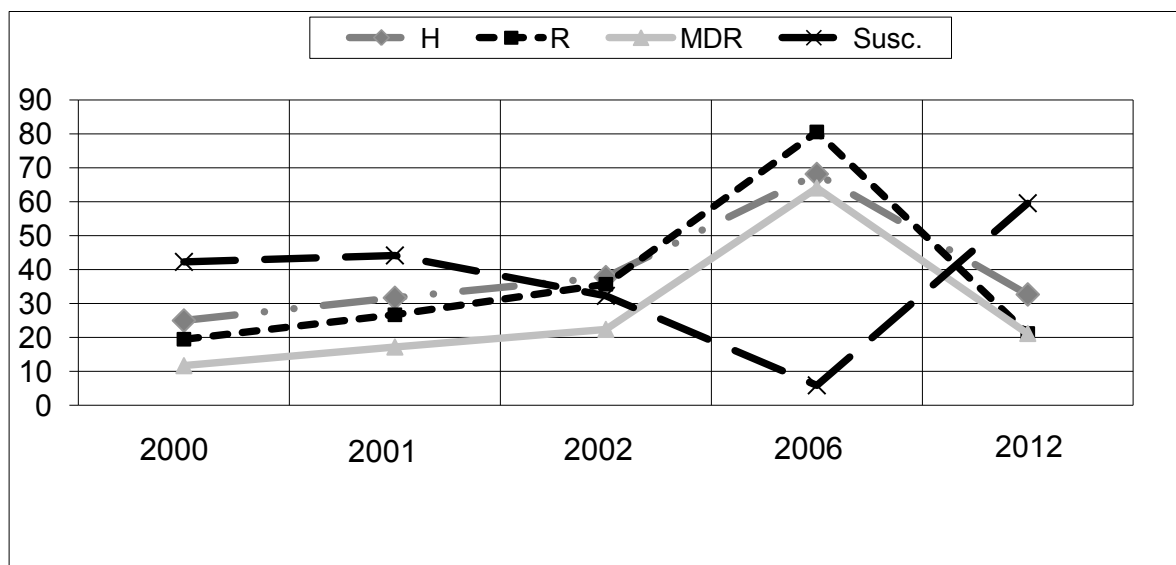
Порівняльні дані щодо первинної резистентності збудника туберкульозу до препаратів першого ряду в період 2006-2012 рр.

		2006 р.		2012 р.	
		кількість хворих	%	кількість хворих	%
Чутливість до всіх п'яти препаратів		5	9,3	62	59,6*
Резистентність до	ізоніазиду	19	35,2	34	32,7
	рифампіцину	33	61,1	22	21,2*
	стрептоміцину	32	59,3	30	28,8*
	етамбутолу	31	57,4	14	13,5*
	ізоніазиду і рифампіцину	12	22,2	22	21,2
	чотирьох препаратів I ^{го} ряду	3	5,6	4	3,8
Всього		54	100	104	100

Примітка. * - $P < 0,05$ (відносно даних 2006 р.).

Водночас майже не змінилась поширеність первинної мультирезистентності і одночасної резистентності до всіх чотирьох протитуберкульозних препаратів I^{го} ряду, що досліджувалась. Зменшення кількості резистентних штамів з медикаментозною резистентністю безумовно є позитивною ознакою у боротьбі з туберкульозом. Зменшення резистентності можливо із загальним поліпшенням ситуації з туберкульозом у період 2005-2012 рр., коли захворюваність і смертність від туберкульозу вперше за новітню історію України мала тенденцію до зниження. З іншого боку розбіжності у показниках медикаментозної резистентності можливо пов'язані із різною важкістю вперше діагностованого туберкульозу у хворих, які перебували на

лікуванні, а також поліпшенням методів діагностики медикаментозної резистентності.



по осі ординат - рівень резистентності, по осі абсцис - рік дослідження, Н - ізоніазид, R - рифапміцин, MDR – мультирезистентність, susc. - чутливість до 4-х препаратів першого ряду

Рис. 7.1. Динаміка первинної резистентності збудника туберкульозу до протитуберкульозних препаратів на протязі 2000-2012 рр. в Одеському регіоні.

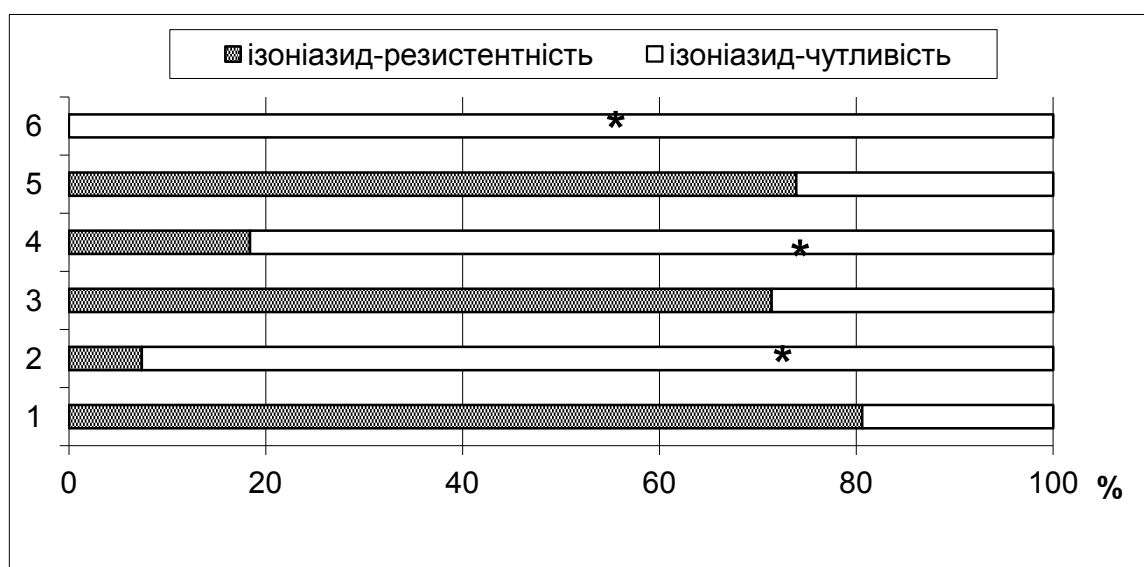
Водночас рівень первинної мультирезистентності за період 2006-2012 рр. практично не змінився і залишається на рівні 21-22 %. Згідно рекомендацій ВООЗ рівень первинної мультирезистентності не повинен перевищувати 5%, перевищення цього бар'єру асоціюється з більш агресивним перебігом захворювання і складностями у підборі ліків для хіміотерапії.

Аналізуючи вищенаведені дані, а також результати раніш проведених досліджень про частоту виявлення медикаментозно резистентних штамів *M.tuberculosis* в Одеському регіоні [335], можна зробити висновок про виражену тенденцію до збільшення частки резистентних і мультирезистентних штамів протягом 2000-2006 рр. з наступним їх зниженням на відрізку 2006-2012 рр. Отже, у 2012 р. рівень первинної резистентності до найбільш ефективних

протитуберкульозних препаратів після підйому в 2006 р. зараз наблизився до рівня 2000-2002 рр.

Згідно проведених досліджень у 2012 році зі 104 виділених культур МБТ 57 (54,8 %) належали до родини *Beijing*. У 2006 і 2003 році при аналогічному дослідженні на базі ООКПТЛ поширеність даної родини складала 43,0 і 39,6 %. Тобто спостерігається подальше поширення штамів родини *Beijing*, що характеризується несприятливим перебігом захворювання і високою медикаментозною резистентністю.

Із загального числа культур МБТ 34 зразки були резистентні до ізоніазиду (32,7 %) і 70 зразків був чутливим до ізоніазиду (67,3 %). Серед 34 культур МБТ з резистентністю до ізоніазиду 85,3 % мали мутацію в кодоні 315 гена *katG* і 14,7 % не мали такої мутації (рис. 7.2; табл. 7.2). З 70 культур МБТ, що були ізоніазид-чутливі, 90,0 % не мали мутації, що досліджувалась і 10,0 % мали таку мутацію, тобто мутація в гені *katG* зустрічалась в 8,5 рази частіше у ізоніазид-резистентних штамів, ніж серед ізоніазид-чутливих штамів ($P < 0,05$; $\chi^2 = 57,32$).



* - $P < 0,05$ (відносно хворих, що з мутацією в гені *katG*)

по осі ординат - мутації в гені *katG* наявні (1) або відсутні (2); мутації в гені *inhA* наявні (3) або відсутні (4); мутації в гені *katG* і/або *inhA* наявні (5) або відсутні (6)

Рис. 7.2. Рівень ізоніазид-резистентності серед хворих на туберкульоз з урахуванням гена *katG* (2012 рік).

Таблиця 7.2

Поширеність мутації в гені *katG*, гені *inhA* і гені *rpoB* у збудника туберкульозу

Мутації	Дані культурального методу	
	Наявність мутації	Відсутність мутації
Мутації в гені <i>katG</i>		
Ізоніазид-резистентність, n=34	29*	5
Ізоніазид-чутливість, n=70	7	63
Мутації в гені <i>inhA</i>		
Ізоніазид-резистентність, n=34	20*	14
Ізоніазид-чутливість, n=70	8	62
Мутації в гені <i>katG</i> і/або <i>inhA</i>		
Ізоніазид-резистентність, n=34	34*	0
Ізоніазид-чутливість, n=70	14	56
Мутації в гені <i>rpoB</i>		
Рифампіцин-резистентність, n=22	20*	2
Рифампіцин-чутливість, n=82	2	80

Примітка. * - $P < 0,05$ (відносно хворих, які виділяли ізоніазид-чутливі або рифампіцин-чутливі штами збудника туберкульозу).

Серед 36 ізолятів МБТ, що мали мутацію в гені *katG*, 29 (80,1 %) були резистентними, згідно з даними культурального методу, водночас 7 (19,9 %) були чутливими до дії ізоніазиду. Далі, серед 68 ізолятів, що не мали мутації, 63 культури (92,6 %) були чутливими до дії ізоніазиду, а 5 (7,4 %) - було резистентними. Отже, специфічність методу визначення резистентності до ізоніазиду шляхом визначення мутації в гені *katG* склала 80,1 %, чутливість – 85,3%.

На рис. 7.3 зображено результати електрофорезу визначення мутації в кодоні 315 гена *katG*. Літерою **М** позначено маркери молекулярної ваги, які дозволяють визначити молекулярну вагу фрагментів, що ампліфікуються. У випадку відсутності мутації ампліфікується фрагмент з молекулярною вагою

292 п.н. за допомогою зовнішнього прямого праймеру *katg0F* та внутрішнього зворотного праймеру *katg5R* (доріжки 2,3,5). Якщо мутація (AGC→ACC) має місце – внутрішній праймер *katg5R* не приєднується і фрагмент з молекулярною вагою 292 п.н. не ампліфікується. Замість цього два зовнішні праймера *katg0F* та *katg4R* фланкують весь регіон гена *katG*, що досліджується. У цьому випадку ампліфікується фрагмент з молекулярною вагою 435 п.н. (доріжки 1,4,6-8). Таким чином, фрагмент 435 п.н. ампліфікується тільки у штамів з *katG*-мутаціями та є обраним як індикатор медикаментозної резистентності до ізоніазиду [316].

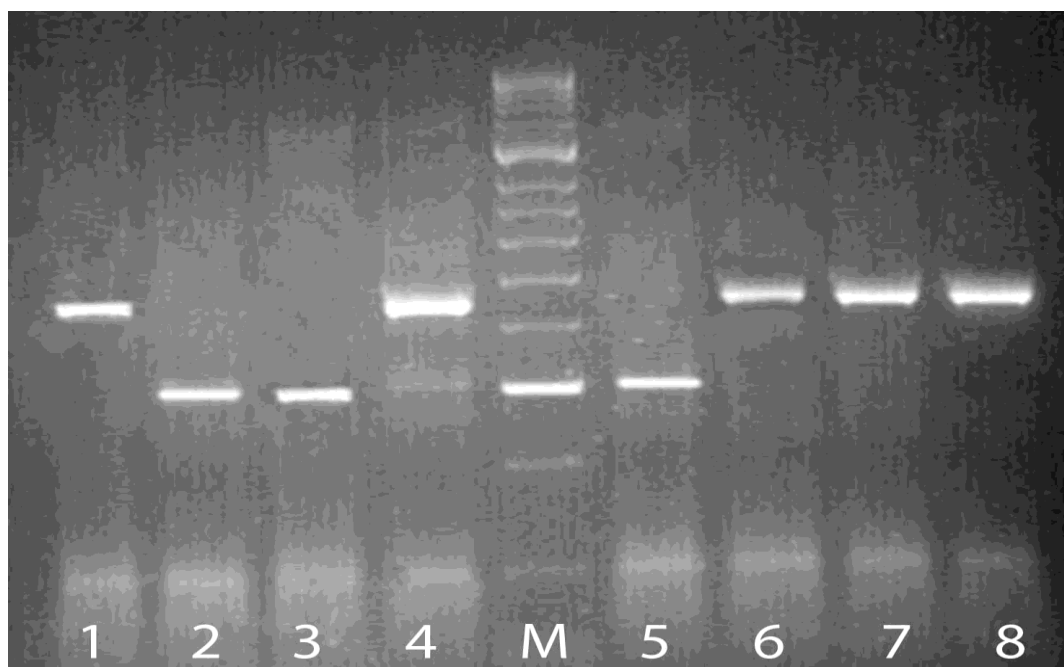


Рис. 7.3. Результати електрофорезу ДНК-ізолятів збудника туберкульозу для визначення мутацій в гені *katG* (пояснення у тексті).

Згідно попередніх даних, отриманих в 2006 році, серед ДНК-ізолятів культур МБТ мутація в кодоні 315 гена *katG* була виявлена в 54,2 %, згідно даних 2012 р. – 34,6 %. Треба враховувати, що в 2006 році більша частина культур збудника туберкульозу була отримана від хворих, які знаходились на

лікуванні понад 2 місяці, водночас в 2012 році культури були отримані від хворих, у яких вперше діагностовано ТБ легень і щойно розпочато лікування.

Мутація в гені *inhA* зустрічались у 58,8 % ізоніазид-резистентних штамів МБТ і у 11,4 % ізоніазид-чутливих штамів (табл. 7.2; рис. 7.2). Отже, мутація в гені *inhA* відзначалась у ізоніазид-резистентних штамів в 5,2 разу частіше, ніж серед штамів МБТ, що були чутливими до ізоніазиду ($P < 0,05$; $\chi^2 = 58,93$). З числа 28 ізолятів, що мали мутацію в гені *inhA* 20 зразків (71,4 %) були фенотипічно резистентними до дії ізоніазиду, решта – 8 зразків (28,6 %) – були чутливими до ізоніазиду. Водночас серед 76 культур, що не мали мутації в гені *inhA*, 18,4 % були резистентними до ізоніазиду, 81,6 % - чутливими до ізоніазиду. Таким чином, специфічність визначення резистентності до ізоніазиду за допомогою детекції мутації в гені *inhA* становила 71,4 %, чутливість – 58,8 %.

На рис. 7.4 зображено результати електрофорезу одночасного визначення мутації в кодні 315 гена *katG* і гені *inhA*.

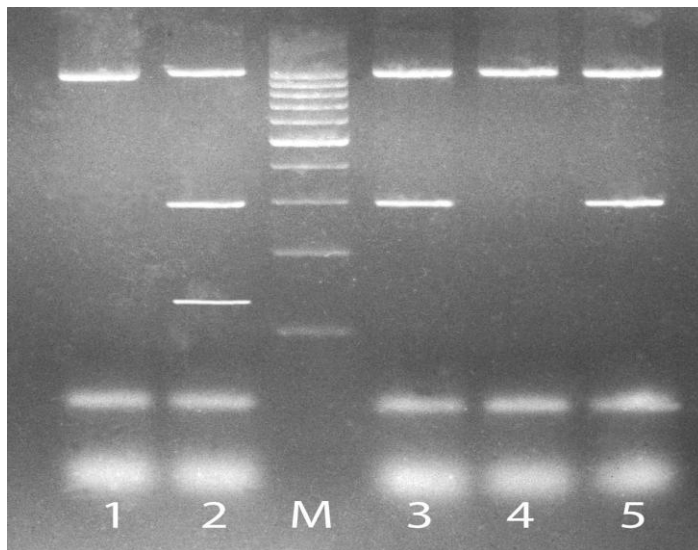


Рис. 7.4 Результати електрофорезу ДНК-ізолятів збудника туберкульозу для визначення мутацій в гені *katG* і/або *inhA* (пояснення у тексті).

Літерою **М** позначено маркери молекулярної ваги, які дозволяють визначити молекулярну вагу фрагментів, що ампліфікуються [318]. При

наявності мутації AGC→ ACC в гені *katG* ампліфікується фрагмент з 296 п.н. за участю прямого праймера *katg0F* і зворотнього праймер *inhARmut* (доріжки 2,3,5). В разі мутації *inhA*^{C-15T} ампліфікується фрагмент в 146 п.н. за участю прямого праймера *tabAF* (доріжка 2). При відсутності мутації праймери MTUBf і MTUBr утворюють фрагмент в 1020 п.н. (доріжки 1,4).

Всі 34 культури з резистентністю до ізоніазиду мали мутацію в гені *katG* і/або гені *inhA* (табл. 7.2; рис. 7.2). З 70 культур, що були ізоніазид-чутливі, 76,7 % не мали мутацій, що досліджувалась, і 23,3 % мали мутацію в гені *katG* і/або гені *inhA*, тобто мутації, що досліджувались, зустрічались значно частіше у ізоніазид-резистентних штамів, ніж серед ізоніазид-чутливих штамів ($P < 0,05$; $\chi^2 = 58,93$).

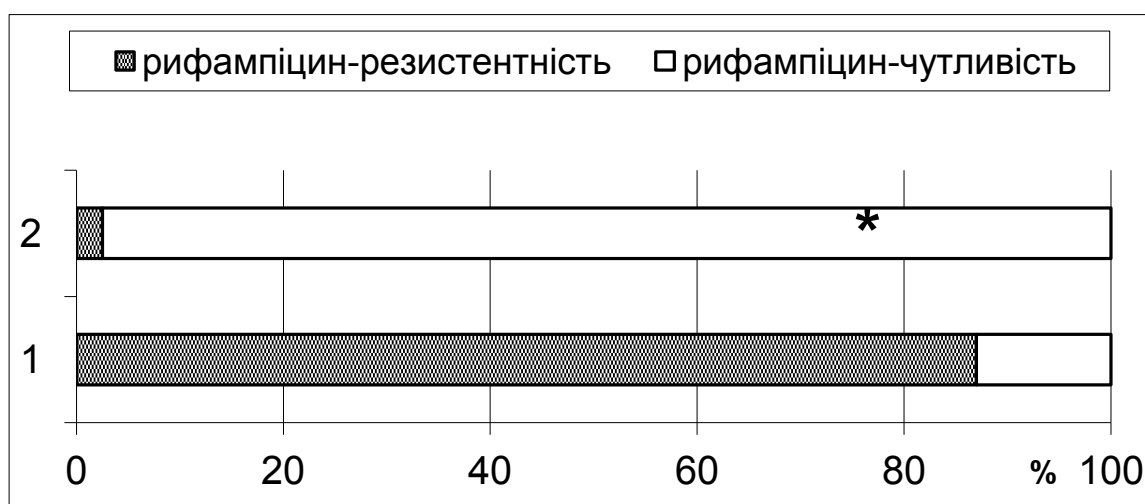
Серед 48 ізолятів, що мали мутацію в гені *katG* і/або гені *inhA*, 34 (70,8 %) були резистентними, згідно з даними культурального методу, водночас 14 (29,2 %) були чутливими до дії ізоніазиду. Далі, всі 68 ізоляти, що не мали мутацій, які досліджувались, були чутливими до дії ізоніазиду. Отже, специфічність методу визначення резистентності до ізоніазиду шляхом виявлення мутації в гені *katG* і/або гені *inhA* склала 70,8 %, чутливість – 100 %.

За даними ПЛР у 2012 році поширеність мутацій в гені *rpoB*, що досліджувались, зустрічалась у 23 ізолятів з 104 штамів (22,1 %). Згідно попередніх даних отриманих в 2006 році серед ДНК-ізолятів культур МБТ мутація в гені *rpoB* була виявлена в 44,9 %, згідно даних 2012 р. – майже вдвічі менше. Як і в випадку з геном *katG* треба враховувати, що в 2006 році більша частина культур збудника туберкульозу була отримана від хворих, які знаходились на лікуванні понад 2 місяців, водночас в 2012 році культури були отримані від хворих, у яких вперше діагностовано ТБ легень і щойно розпочато лікування.

За даними 2006 року з числа мутацій в гені *rpoB* 4,2 % складала мутації в кодоні 516 гена *rpoB*; 14,6 % - мутації в кодоні 526, і решта – 81,3 % - мутації в кодоні 531. В 2012 році серед мутованих штамів МБТ ізольована мутація в кодоні 516 зустрічалась у 8,7 %; в кодоні 526 – у 4,3 %; в кодоні 531 – у 73,9 %;

також в 13,1 % випадках зустрічались поєднанні комбінації в кодонах 516/526/531. Таким чином, як в 2006 р., так і в 2012 р. більшість мутацій в гені *rpoB* складала заміни в кодоні 531. Водночас, на відміну від 2006 р., в 2012 р. відзначались одночасні мутації відразу в усіх трьох локусах 516/526/531 ($P < 0,05$; $\chi^2 = 6,84$).

За даними 2012 року 20 культур з резистентністю до рифампіцину мали мутацію в гені *rpoB* (табл. 7.2; рис. 7.5). Мутація в гені *rpoB* зустрічалась у 90,2 % рифампіцин-резистентних штамів і у 3,6 % рифампіцин-чутливих штамів. З числа 82 культур, що були рифампіцин-чутливі, 97,6 % не мали мутацій, що досліджувалась. Отже, мутації МБТ, що вивчались, зустрічались значно частіше у рифампіцин-резистентних штамів, ніж серед ізоніазид-чутливих штамів ($P < 0,05$; $\chi^2 = 77,64$).



* - $P < 0,05$ (відносно хворих, що з мутацією в гені *rpoB*)

по осі ординат - мутації в гені *rpoB* наявні (1) або відсутні (2)

Рис. 7.5. Рівень рифампіцин-резистентності серед хворих на туберкульоз з ураженням мутацій в кодонах 516, 526 і 531 гена *rpoB*.

Серед 22 ізолятів, що мали мутацію в гені *rpoB*, 87,0 % були резистентними, згідно з даними культурального методу, водночас 13,0 % залишались чутливими до дії рифампіцину. Отже, специфічність методу визначення резистентності до рифампіцину шляхом виявлення мутації в гені *rpoB* склала 87,0%, чутливість – 90,2%.

Таким чином, протягом 2000-2006 рр. в Одеському регіоні спостерігалось збільшення частки резистентних і мультирезистентних штамів з наступним зниженням у 2012 р. Причому показники медикаментозної резистентності МБТ до найбільш ефективних протитуберкульозних препаратів у 2012 р. наблизився до рівня 2000-2002 рр. У 2012 році 54,8 % виділених культур належали до родини *Beijing*. У 2006 і 2003 році поширеність штамів даної родини складала 43,0 39,6%. Тобто спостерігається подальше поширення штамів родини *Beijing*, що характеризується несприятливим перебігом захворювання і високою медикаментозною резистентністю.

При визначенні медикаментозної резистентності МБТ до ізоніазиду за допомогою ПЛР найбільшу чутливість мала детекція в гені *katG* і/або гені *inhA* (100%), найбільшу специфічність – ізольоване визначення мутації в гені *katG* (80,1%). Специфічність методу визначення резистентності до рифампіцину шляхом виявлення мутацій в гені *rpoB* склала 87,0 %, чутливість – 90,2 %. Отже, запропоновані молекулярно-генетичні експрес-методи визначення резистентності МБТ до ізоніазиду і рифампіцину довели свою високу достовірність і інформативність.

7.2. Особливості туберкульозу легень, викликаного мультирезистентними штамми *M. tuberculosis*

На початку стаціонарного лікування процеси деструкції легеневої тканини спостерігались приблизно у 62,5 % хворих, які на момент виписки зі стаціонару виділяли штами МБТ з мультирезистентності, і у 40,0 %, в яких мультирезистентність не відзначалась (табл. 7.3). Близько 62,5 і 37,1 % хворих на ТБ, які виділяли МБТ з і без мультирезистентністю, мали ураження обох легень. Згідно клінічної форми, дисемінація туберкульозного процесу спостерігалась у 18,7 % носіїв МБТ з мультирезистентністю (MDR) і у 12,9 % індивідів з МБТ без мультирезистентності (non-MDR). У більшості хворих з і без мультирезистентності відзначалась інфільтративна форма туберкульозного процесу – 62,5 і 77,1 % відповідно (рис. 7.6).

Таблиця 7.3

Характеристика туберкульозного процесу в залежності від наявності мультирезистентної форми

Характеристика туберкульозного процесу		На початку лікування, (%)		Наприкінці стаціонар. лікування, (%)	
		MDR, n=16	non-MDR, n=70	MDR, n=16	non-MDR, n=70
Поширення	обидві легені	10 (62,5)	26 (37,1)	9 (56,3)	22 (31,4)
	частини легені	6 (37,5)	44 (62,9)	7 (43,7)	48 (68,6)
Деструкція	є	10 (62,5)	28 (40,0)	10 (62,5)	12 (17,1)*#
	нема	6 (37,5)	42 (60,0)	6 (37,5)	58 (82,9)

Примітки:

1. # - $P < 0,05$ (відносно вихідного рівня відповідної групи);
2. * - $P < 0,05$ (відносно хворих з мультирезистентністю - MDR).

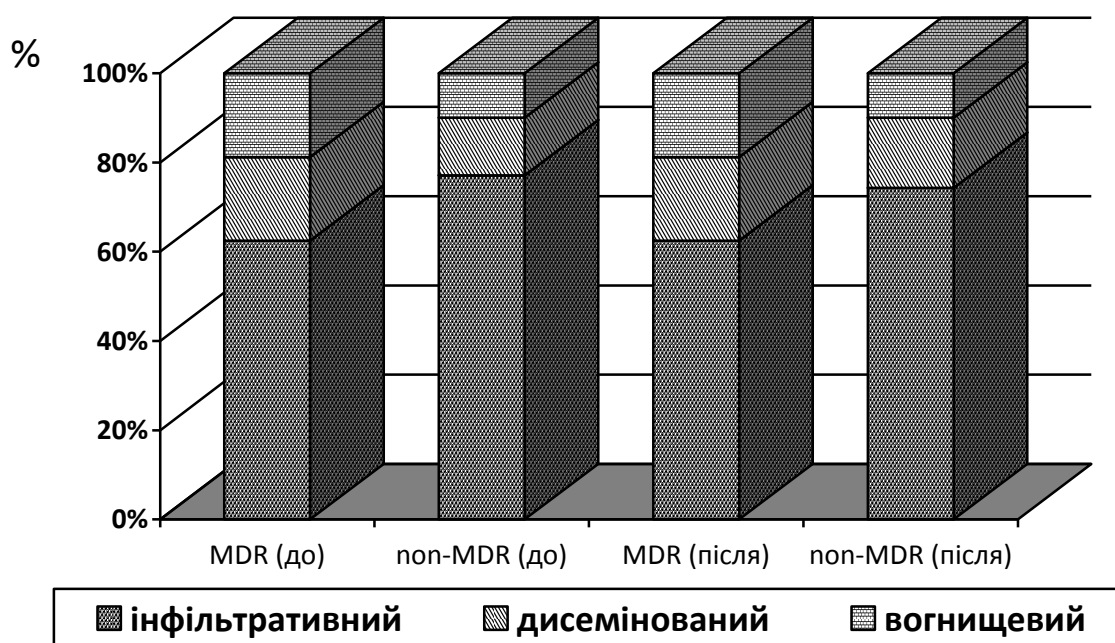


Рис. 7.6. Характер ураження легень у хворих на ТБ з (MDR) або без (non-MDR) мультирезистентної форми на початку (до) і наприкінці (після) стаціонарного лікування.

Вогнищева форма зустрічалась лише у 18,8 % носіїв мультирезистентних штамів МБТ і у 10,0 % хворих без ознак мультирезистентності. На початку лікування серед хворих, які виділяли мультирезистентні штами на момент завершення стаціонарного лікування, 18,8% мали процеси інфільтрації, а половина мала ознаки розпаду (табл. 7.4).

Таблиця 7.4

Характеристика туберкульозного процесу за наявності мультирезистентної форми (продовження)

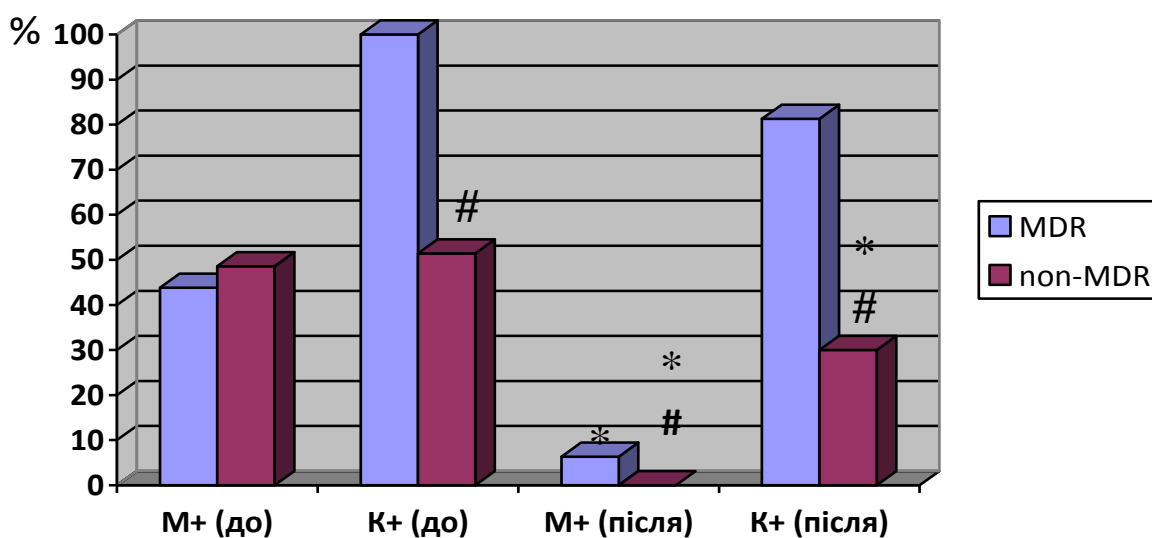
Характеристика туберкульозного процесу		На початку лікування, (%)		Наприкінці стаціонар. лікування, (%)	
		MDR, n=16	non-MDR, n=70	MDR, n=16	non-MDR, n=70
Стадія ураження	інфільтрація	3 (18,8)	42 (60,0)*	-	5 (7,1)#
	розпад	8 (50,0)	6 (8,6)*	4 (25,0)#	2 (2,9)*
	обсіменіння	5 (31,2)	22 (31,4)	1 (6,2)	-#
	розсмоктування	-	-	11 (68,8)#	63 (90,0)*#
Категорія хворих	1	8 (50,0)	54 (77,2)*	-#	58 (82,9)*
	2	3 (18,8)	5 (7,1)	-	4 (5,7)
	3	5 (31,2)	11 (15,7)	-#	8 (11,4)
	4	-	-	16/16 (100)#	-*

Примітки:

1. # - $P < 0,05$ (відносно вихідного рівня відповідної групи);
2. * - $P < 0,05$ (відносно хворих з MDR).

В той же час серед хворих без мультирезистентності вказані процеси спостерігались у 60,0 і 8,6 % пацієнтів. Отже, на початку лікування серед носіїв

мультирезистентних штамів МБТ процеси розпаду зустрічались в 5,8 разу частіше ($P < 0,05$; $\chi^2 = 16,40$), а процес інфільтрації – в 3,2 разу рідше, ніж у хворих з штамми МБТ без мультирезистентності ($P < 0,05$; $\chi^2 = 8,88$ при критичному значенні $\chi^2 = 3,84$ тут і далі). На початку стаціонарного лікування незалежно від чутливості МБТ за даними мікроскопії бактеріовиділення відзначалось приблизно у половини хворих з мультирезистентністю або без неї (43,8 і 48,6 % відповідно) (рис. 7.7).



* - $P < 0,05$ (відносно відповідної групи на початку лікування)

- $P < 0,05$ (відносно хворих з MDR)

Рис. 7.7. Кількість хворих, які виділяли МБТ з (MDR) або без (non-MDR) мультирезистентності згідно бактеріоскопії (M+) або культурального методу (K+) на початку (до) або наприкінці (після) стаціонарного лікування.

Згідно посіву всі хворі, у яких в подальшому зафіксовано мультирезистентний ТБ, і лише половина хворих, у яких мультирезистентний ТБ не розвинувся, виділяли збудника туберкульозу на початку лікування. Отже, хворі, у яких розвивався мультирезистентний ТБ вже на початку лікування майже в два рази частіше була бактеріовиділювачами за даними посіву вже на початку лікування ($P < 0,05$; $\chi^2 = 12,85$). Таким чином, на початку лікування хворі, у яких розвивався мультирезистентний туберкульоз, частіше мали явища деструкції, розпаду і бактеріовиділення, ніж у хворих, у яких не

розвинувся мультирезистентний туберкульоз. Тривалість стаціонарного лікування була більшою в 1,9 разу у хворих з мультирезистентним ТБ, ніж при відсутності мультирезистентного ТБ ($169,6 \pm 7,0$ проти $90,4 \pm 2,9$ дня, $P < 0,001$; $CI = 65,52 \dots 92,78$).

Наприкінці стаціонарного лікування процеси деструкції зберігались у 62,5 % хворих з мультирезистентним ТБ, водночас серед носіїв чутливих до ізоніазид і/або рифампіцину штамів МБТ деструкції зустрічались у 17,1 % (табл. 7.3). Отже, явища деструкції зустрічались в 3,7 разу частіше у хворих з мультирезистентною формою ТБ, ніж при відсутності таких штамів ($P < 0,05$; $\chi^2 = 14,07$); якщо у хворих без мультирезистентного ТБ відбулось зменшення деструкції в 2,3 разу ($P < 0,05$; $\chi^2 = 8,96$) або у 57,1 % і це потребувало в середньому близько 2 місяців, то у хворих з мультирезистентною формою взагалі не відбулось зменшення явищ деструкції ($P < 0,05$; $\chi^2 = 9,87$; табл. 7.5).

Таблиця 7.5

Припинення процесу деструкції і бактеріовиділення у хворих з мультирезистентною формою ТБ легень

Група хворих	Припинення процесу деструкції		Припинення бактеріовиділення за даними			
			мікроскопії		посіву	
	кількість хворих (%)	тривалість (днів) \pm SEM	кількість хворих (%)	тривалість (днів) \pm SEM	кількість хворих (%)	тривалість (днів) \pm SEM
MDR, n=16	0/10 (0)	-	6/7 (85,7)	$60,3 \pm 2,3$	3/16 (18,8)	$152,8 \pm 8,3$
non-MDR, n=70	16/28* (57,1)	$59,3 \pm 2,1$	34/34* (100)	$59,5 \pm 1,7$	15/36 (41,7)	$83,7 \pm 2,00^*$

Примітка. * - $P < 0,05$ (відносно хворих з мультирезистентним ТБ).

Як і на початку, так і при завершенні стаціонарного лікування у більшості хворих при наявності або відсутності мультирезистентного ТБ (62,5 і 74,3 %

відповідно) спостерігалась інфільтративна форма туберкульозного процесу. Отже, змін у структурі форм ТБ під час лікування в групах не відбулось.

В результаті проведеного стаціонарного лікування кількість хворих на мультирезистентний ТБ з явищами розпаду знизилось вдвічі ($P < 0,05$; $\chi^2 = 4,57$), а також зросли процеси розсмоктування на 68,8 % ($P < 0,05$; $\chi^2 = 16,76$). У хворих, які виділяли збудника ТБ без мультирезистентності, в 8,5 разів зменшились явища інфільтрації ($P < 0,05$; $\chi^2 = 55,30$), припинились явища обсіменіння ($P < 0,05$; $\chi^2 = 26,10$), на 90 % зросли явища розсмоктування ($P < 0,05$; $\chi^2 = 114,54$). При порівнянні двох груп наприкінці стаціонарного лікування встановлено, що наявність мультирезистентного ТБ зменшує вірогідність процесів розсмоктування в 1,3 разу ($P < 0,05$; $\chi^2 = 4,90$) і збільшує ймовірність збереження процесів розпаду в 8,6 разу ($P < 0,05$; $\chi^2 = 9,84$).

Незалежно від наявності чи відсутності мультирезистентних штамів МБТ співвідношення хворих з двостороннім і одностороннім ураженням легень майже не змінилось протягом стаціонарного лікування – як і на початку у хворих на мультирезистентний ТБ переважало двобічні ураження легень, у пацієнтів з відсутністю мультирезистентного ТБ – ураження однієї легені. Ще на початку лікування у хворих, у яких не виникло мультирезистентного ТБ, частіше спостерігалась приналежність до 1^{ої} категорії, ніж у пацієнтів другої групи ($P < 0,05$; $\chi^2 = 4,77$). Згідно DOTS-класифікації хворі з мультирезистентним ТБ належать до 4^{ої} категорії, тому логічно серед хворих з мультирезистентними МБТ зникли ті, що належать до 1^{ої} і 3^{ої} категорії ($P < 0,05$; $\chi^2 = 10,67$ і $\chi^2 = 4,57$ відповідно) і всі хворі перейшли до 4^{ої} категорії ($P < 0,05$; $\chi^2 = 28,24$). Зрозуміло, що наприкінці стаціонарного лікування хворі без мультирезистентних штамів частіше належали до 1^{ої} категорії, менше до 4^{ої} категорії, ніж хворі з мультирезистентними МБТ ($P < 0,05$; $\chi^2 = 40,72$ і $\chi^2 = 86,00$ відповідно).

За даними мікроскопії бактеріовиділення на момент виписки зі стаціонару було відсутнім у всіх хворих, інфікованими немультрезистентними штамми, і у 93,7 % - з мультирезистентними МБТ. Тобто в першій групі під час стаціонарного лікування відбулось зменшення бактеріовиділення на 48,6 %

($P < 0,05$; $\chi^2 = 44,91$), в другій групі – на 37,5 % ($P < 0,05$; $\chi^2 = 6,00$) помірних метаболізаторів. Отже, наявність мультирезистентних штамів збільшувало рівень бактеріовиділення на момент виписки на 6,3 % ($P < 0,05$; $\chi^2 = 4,43$) і зменшувало ймовірність припинення бактеріовиділення на 14,3 % ($P < 0,05$; $\chi^2 = 4,98$). При цьому тривалість конверсії бактеріовиділення в обох групах майже не відрізнялась і була близько 59 днів.

Згідно даних культурального методу наприкінці стаціонарного лікування бактеріовиділення спостерігалось у більшості носії мультирезистентних штамів МБТ – 81,3% і майже третини пацієнтів з немультрезистентними штамми – 30,0 %; в другій групі відбулось вірогідне зниження бактеріовиділення в 1,7 разу ($P < 0,05$; $\chi^2 = 6,67$). Отже, наприкінці стаціонарного лікування наявність мультирезистентних штамів збільшувало рівень бактеріовиділення в 2,7 рази ($P < 0,05$; $\chi^2 = 14,31$). Лише 18,8 % хворих з мультирезистентними штамми припинили бактеріовиділення проти 41,7 % хворих зі штамми МБТ, що були чутливими до ізоніазиду і/або рифампіцину. Термін припинення бактеріовиділення в першій групі був в 1,8 разу довший, ніж в другій групі ($P < 0,001$; $CI = 58,18 \dots 81,92$).

Отримані дані засвідчили, що факторами, які асоціювались з виникненням мультирезистентних штамів МБТ, були двобічне ураження легень, більше поширення процесів деструкції, розпаду і наявності бактеріовиділення. Наявність мультирезистентних штамів МБТ збільшувало тривалість стаціонарного лікування, сприяло збереженню процесів розпаду, деструкції і бактеріовиділення; уповільнювало і зменшувало ймовірність припинення бактеріовиділення відносно хворих, які виділяли немультрезистентні штами МБТ.

Відносно лабораторних показників у хворих на туберкульоз, що виділяли мультирезистентні штами *M.tuberculosis*, спостерігались наступні закономірності.

На початку лікування у хворих, у яких з'явилися мультирезистентні штами МБТ (MDR), і у хворих, у яких не з'явилися мультирезистентні штами

(non-MDR), різниці у показниках червоної крові і лейкоцитарній формулі практично були відсутні (табл. 7.6).

Таблиця 7.6

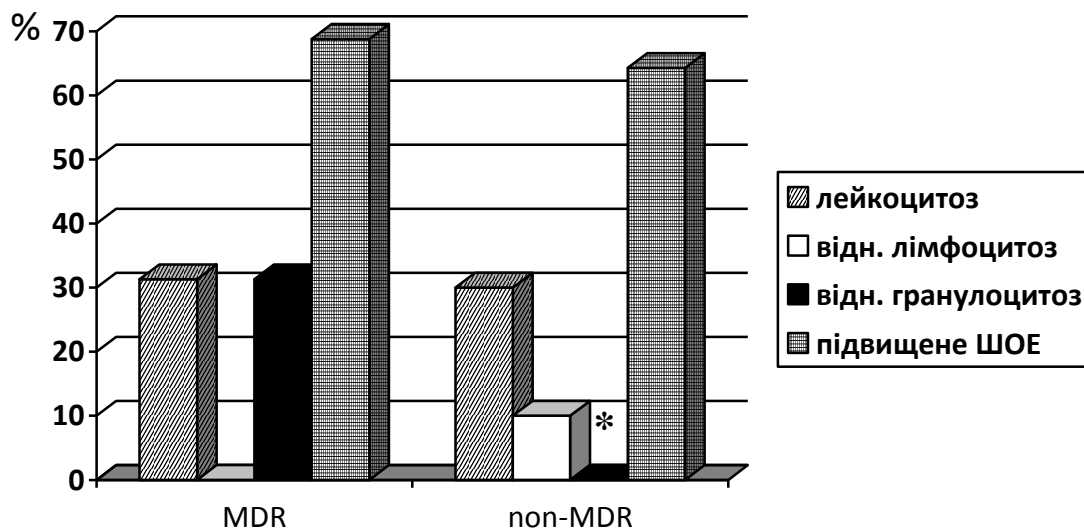
Показники «червоної крові» та ШОЕ до початку та після стаціонарного лікування (Mean±SEM)

Група	n	Кількість еритроцитів, Т/л	Гемоглобін, г/л	МСНС	ШОЕ, мм/год
НА ПОЧАТКУ ЛІКУВАННЯ					
MDR	16	4,67±0,05	119,00±1,69	274,86±1,14	25,29±1,74
non-MDR	60	4,75±0,04	124,30±1,56	275,84±1,05	21,07±1,58
ПІСЛЯ СТАЦІОНАРНОГО ЛІКУВАННЯ					
MDR	16	4,41±0,08#	119,75±1,59	306,50±6,73#	13,13±2,22#
non-MDR	60	4,76±0,05*	125,20±1,59	278,84±1,67*	9,42±0,73*#

Примітки:

1. # - $P < 0,05$ (відносно вихідного рівня відповідної групи);
2. * - $P < 0,05$ (відносно хворих з MDR).

Водночас, у хворих, у яких виявлялись мультирезистентні штами, вже на початку лікування кількість лейкоцитів була більше на 11,9 % ($P < 0,05$; $CI = -0,00 \dots -0,90$), кількість хворих з підвищеною кількістю гранулоцитів - на 31,3 % (31,3 проти 0 %, $P < 0,05$; $\chi^2 = 23,23$) і дещо вищим був рівень ШОЕ ($P > 0,05$), ніж у хворих, у яких зберігалась чутливість МБТ до ізоніазиду і/або рифампіцину (табл. 7.6; рис. 7.8). При завершенні стаціонарного лікування у хворих, у яких з'явилися мультирезистентні штами, відбулось зниження кількості еритроцитів на 5,9 % ($P < 0,05$; $CI = 0,07 \dots 0,45$), збільшення на 11,5 % концентрації гемоглобіну в еритроциті ($P < 0,001$; $CI = -45,58 \dots -17,70$) і на 23,6% частки лімфоцитів ($P < 0,05$; $CI = -11,92 \dots -1,70$), зменшилась на 92,6 % ШОЕ ($P < 0,001$; $CI = 6,40 \dots 17,92$), зменшилась на 24,3 % кількість лейкоцитів ($P < 0,01$; $CI = 0,58 \dots 2,90$) і на 11,2 % частка гранулоцитів в лейкоцитарній формулі ($P < 0,05$; $CI = 1,64 \dots 11,66$) (табл. 7.7).



* - $P < 0,05$ (відносно хворих з MDR)

Рис. 7.8. Кількість хворих з патологічними зсувами у периферичній крові на початку стаціонарного лікування у хворих з (MDR) або без (non-MDR) мультирезистентних штамів МБТ.

Таблиця 7.7

Показники «білої крові» до початку та після стаціонарного лікування (Mean \pm SEM)

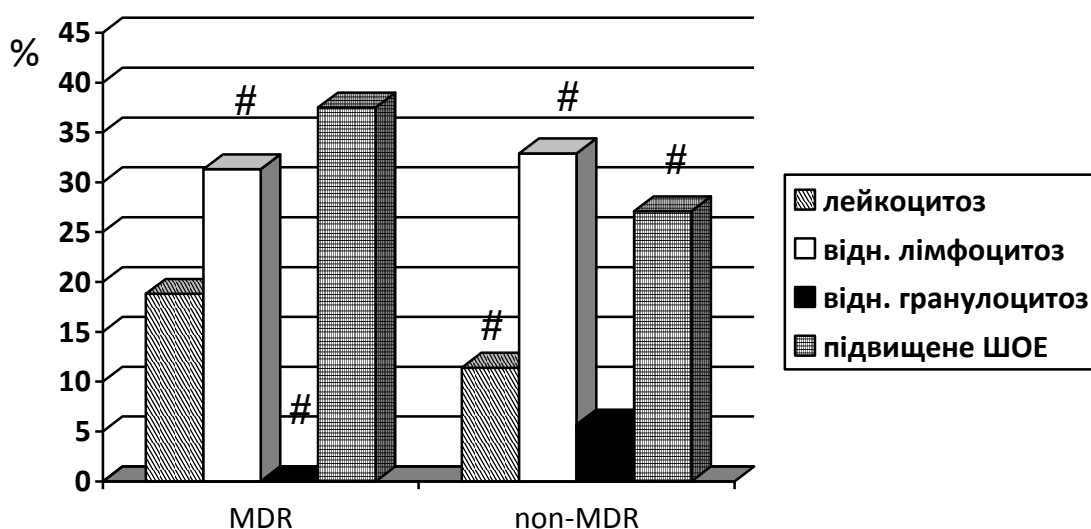
Група	n	Кількість лейкоцитів, Г/л	Лімфоцити, %	Моноцити, %	Гранулоцити, %
НА ПОЧАТКУ ЛІКУВАННЯ					
MDR	16	8,91 \pm 0,48	28,87 \pm 1,82	4,90 \pm 0,21	65,90 \pm 1,76
non-MDR	60	7,96 \pm 0,21*	30,27 \pm 0,76	4,94 \pm 0,14	64,34 \pm 0,81
ПІСЛЯ СТАЦІОНАРНОГО ЛІКУВАННЯ					
MDR	16	7,17 \pm 0,30#	35,68 \pm 1,72#	4,94 \pm 0,26	59,25 \pm 1,71#
non-MDR	60	6,30 \pm 0,21*#	36,48 \pm 0,92#	5,08 \pm 0,14	58,22 \pm 0,95#

Примітки:

1. # - $P < 0,05$ (відносно вихідного рівня відповідної групи);
2. * - $P < 0,05$ (відносно хворих з MDR).

У пацієнтів, які виділяли штами без мультирезистентності, показники червоної крові практично не змінились під час стаціонарного лікування,

водночас в 2,2 разу зменшилась ШОЕ ($P < 0,001$; $CI = 8,20 \dots 15,10$), в 1,3 разу кількість лейкоцитів ($P < 0,001$; $CI = 1,07 \dots 2,25$), на 10,5 % - кількість гранулоцитів ($P < 0,001$; $CI = 3,65 \dots 8,59$) і збільшився відсоток лімфоцитів на 20,5 % ($P < 0,001$; $CI = -8,58 \dots -3,84$); зменшилась в 2,4 разу кількість хворих з підвищеною ШОЕ ($P < 0,05$; $\chi^2 = 19,46$) і на 18,6 % хворих з лейкоцитозом ($P < 0,05$; $\chi^2 = 7,35$); зросла на 22,9 % кількість хворих з відносним лімфоцитозом ($P < 0,05$; $\chi^2 = 10,86$) (рис. 7.9).



- $P < 0,05$ (відносно вихідного рівня відповідної групи)

Рис. 7.9. Кількість хворих з патологічними зсувами у периферичній крові наприкінці стаціонарного лікування у хворих з (MDR) або без (non-MDR) мультирезистентних штамів МБТ.

У хворих, які виділяли мультирезистентні штами МБТ, в результаті стаціонарного лікування зникли хворі з підвищеною кількістю гранулоцитів (-31,3%; $P < 0,05$; $\chi^2 = 10,86$) і, навпаки, з'явилися особи з відносним лімфоцитозом (+31,3%; $P < 0,05$; $\chi^2 = 5,93$). При порівнянні результатів хворих, які виділяли або не виділяли мультирезистентні штами, встановлено, що в першій групі рівень лейкоцитів був більше на 13,8 % ($P < 0,05$; $CI = 0,02 \dots 1,72$), рівень еритроцитів, ШОЕ і середня концентрація гемоглобіну в еритроциті були вище

на 7,9 % ($P < 0,001$; $CI = 3,46 \dots 3,84$), на 39,4 % ($P < 0,05$; $CI = 0,10 \dots 7,32$) і на 9,9 % ($P < 0,001$; $CI = 18,29 \dots 37,03$) відповідно, ніж в другій групі.

На початку лікування у хворих, у яких у подальшому розвинувся мультирезистентний ТБ, активність АлАТ і АсАТ була вище в 2,0 рази ($P < 0,01$; $CI = -20,56 \dots -4,78$) і 1,2 разу ($P < 0,05$; $CI = -10,37 \dots -0,01$) відповідно, а рівень білірубину був нижче в 1,2 разу ($P < 0,05$; $CI = 0,73 \dots 6,17$) у порівнянні з хворими, у яких мультирезистентні штами не виділялись (табл. 7.8). Також у хворих з мультирезистентними штамами на початку лікування частіше відзначався підйом АлАТ і АсАТ ($P > 0,05$) (рис. 7.10). На момент завершення стаціонарного лікування у хворих з мультирезистентним ТБ відбулось зростання тимолової проби на 66,3 % ($P < 0,01$; $CI = -1,99 \dots -0,49$), АлАТ – на 29,8 % ($P < 0,01$; $CI = -5,80 \dots -1,54$), а також зменшення ГГТ на 25,3 % ($P < 0,05$; $CI = 0,04 \dots 11,62$) відносно початого рівня (табл. 7.7). У вище згаданій групі зросла кількість хворих з підвищеною тимоловою пробою відносно початкового рівня на 43,8 % ($P < 0,05$; $\chi^2 = 3,86$) (рис. 7.11).

Таблиця 7.8

Біохімічні показники крові до початку та після стаціонарного лікування з урахуванням медикаментозної чутливості МБТ (Mean \pm SEM)

Група	n	Білірубін, мкМ/л	Тимолова проба, Од.	АлАТ, Од/л	АсАТ, Од/л	ГГТ, Од/л
НА ПОЧАТКУ ЛІКУВАННЯ						
MDR	16	17,54 \pm 1,17	1,87 \pm 0,25	12,33 \pm 0,93	22,00 \pm 1,36	28,83 \pm 1,84
non-MDR	60	14,09 \pm 0,63 *	2,01 \pm 0,12	25,00 \pm 2,02*	27,19 \pm 1,29 *	27,54 \pm 2,11
ПІСЛЯ СТАЦІОНАРНОГО ЛІКУВАННЯ						
MDR	16	14,28 \pm 1,33	3,11 \pm 0,27#	16,00 \pm 0,47#	22,38 \pm 0,92	23,00 \pm 2,16#
non-MDR	60	12,57 \pm 0,39 #	1,96 \pm 0,13*	28,65 \pm 2,22*	29,09 \pm 1,33 *	33,43 \pm 1,71* #

Примітки:

1. # - $P < 0,05$ (відносно вихідного рівня відповідної групи);
2. * - $P < 0,05$ (відносно хворих з MDR).

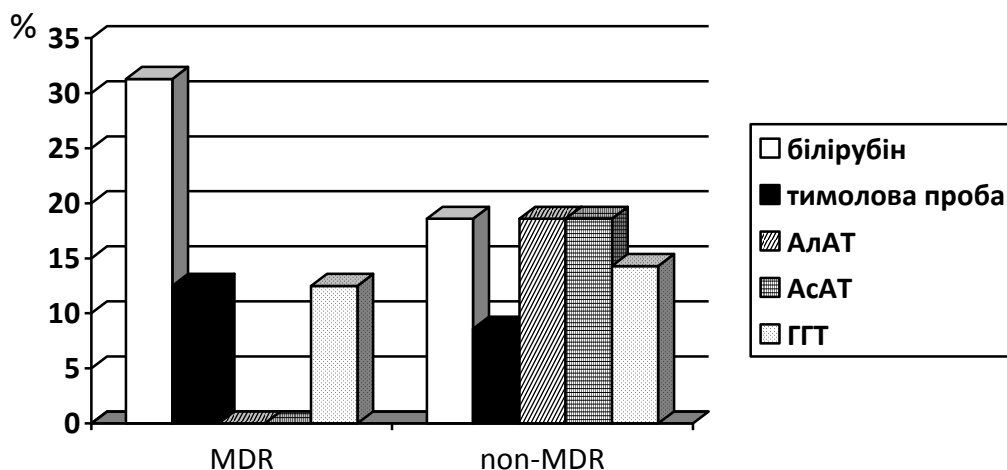
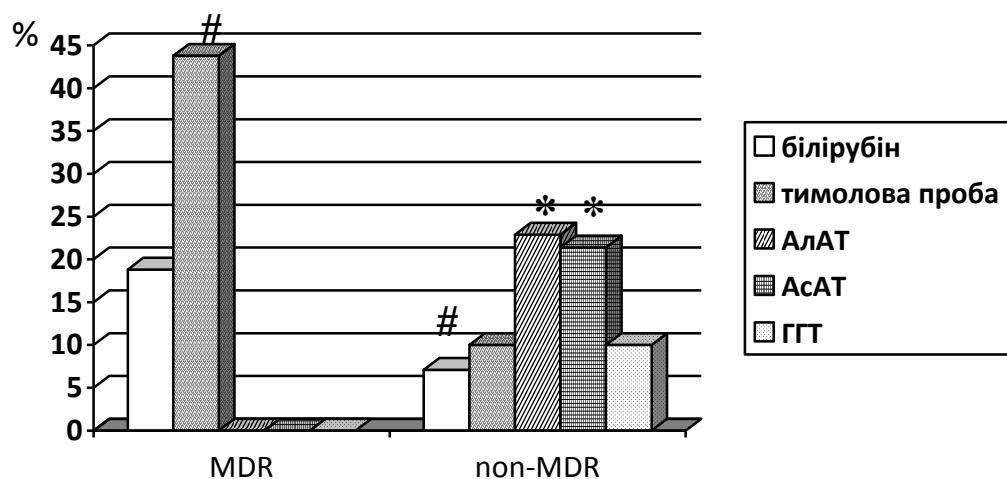


Рис. 7.10. Кількість хворих з патологічними зсувами біохімічних показників крові на початку стаціонарного лікування з урахуванням чутливості МБТ.



- $P < 0,05$ (відносно вихідного рівня відповідної групи)

* - $P < 0,05$ (відносно хворих з MDR)

Рис. 7.11. Кількість хворих з патологічними зсувами біохімічних показників крові при завершенні стаціонарного лікування у рахуванням медикаментозної чутливості.

Серед хворих, які не мали мультирезистентного ТБ, спостерігалось зниження рівня білірубину на 12,1 % ($P < 0,05$; $CI = 0,05 \dots 2,99$) і зменшення кількості хворих з гіпербілірубінемією на 11,5 % ($P < 0,05$; $\chi^2 = 4,08$), зростання активності ГГТ на 21,4 % ($P < 0,05$; $CI = -11,27 \dots -0,51$) у порівнянні з початковими показниками. На час завершення лікування хворі з

мультирезистентним ТБ мали вищий на 58,7 % показник тимолової проби ($P < 0,001$; $CI = 0,60 \dots 1,70$), нижчу активність АлАТ, АсАТ і ГГТ на 79,1 % ($P < 0,01$; $CI = -21,28 \dots -4,02$), на 30,0 % ($P < 0,05$; $CI = -11,97 \dots -1,45$) і на 45,3 % ($P < 0,01$; $CI = -17,50 \dots -3,36$) відповідно, відносно хворих без мультирезистентного ТБ. Також у 22,9 і 21,4 % хворих, які виділяли штами чутливі до ізоніазиду і/або рифампіцину, визначались підвищена активність АлАТ і АсАТ, при цьому у хворих з мультирезистентним ТБ такі пацієнти взагалі були відсутні ($P < 0,05$; $\chi^2 = 4,49$ і $P < 0,05$; $\chi^2 = 4,15$ відповідно).

Отже, вже на початку лікування у хворих, у яких подальшому розвинувся мультирезистентний ТБ, відзначалась більша кількість лейкоцитів, більша кількість хворих з відносним гранулоцитозом і дещо більш високий рівень ШОЕ, ніж у хворих без розвитку мультирезистентного ТБ. Це свідчить, що розвитку мультирезистентного ТБ передують більш виразний інфекційний процес. Про більш виразні деструктивні процеси серед хворих з ризиком мультирезистентним ТБ свідчить і вищий на 9,2 % рівень ДК ($P < 0,01$; $CI = 0,59 \dots 2,39$), нижча активність каталази і антиоксидантний індекс ($P > 0,05$), ніж у хворих з відсутністю у подальшому мультирезистентного ТБ (табл. 7.9)

Таблиця 7.9

Показники про- та антиоксидантної систем на початку лікування
(Mean \pm SEM)

Штам МБТ	n	Дієнові кон'югати, моль/л	Каталаза, мкат/л	Антиоксидантний індекс
MDR	16	1,765 \pm 0,069	0,153 \pm 0,018	0,088 \pm 0,011
non-MDR	86	1,616 \pm 0,015*	0,164 \pm 0,008	0,101 \pm 0,005

Примітка. * - $P < 0,05$ (відносно хворих з MDR).

При завершенні стаціонарного лікування у хворих з мультирезистентним ТБ зберігаються ознаки запалення у більшому ступені, ніж у хворих без мультирезистентного ТБ. Про це свідчить більш високий середній рівень ШОЕ

і лейкоцитів в першій групі, відносно другої. Також у пацієнтів з мультирезистентним ТБ виявляються більш виразні процеси інтоксикації (високий показник тимолова проба і низька кількість еритроцитів), ніж у хворих без мультирезистентного ТБ. Водночас, у хворих без мультирезистентного ТБ більш високі показники цитолізу гепатоцитів – АлАТ, АсАТ і ГГТ, ніж при наявності мультирезистентних МБТ, що свідчить про більший ризик ураження печінки в першій групі.

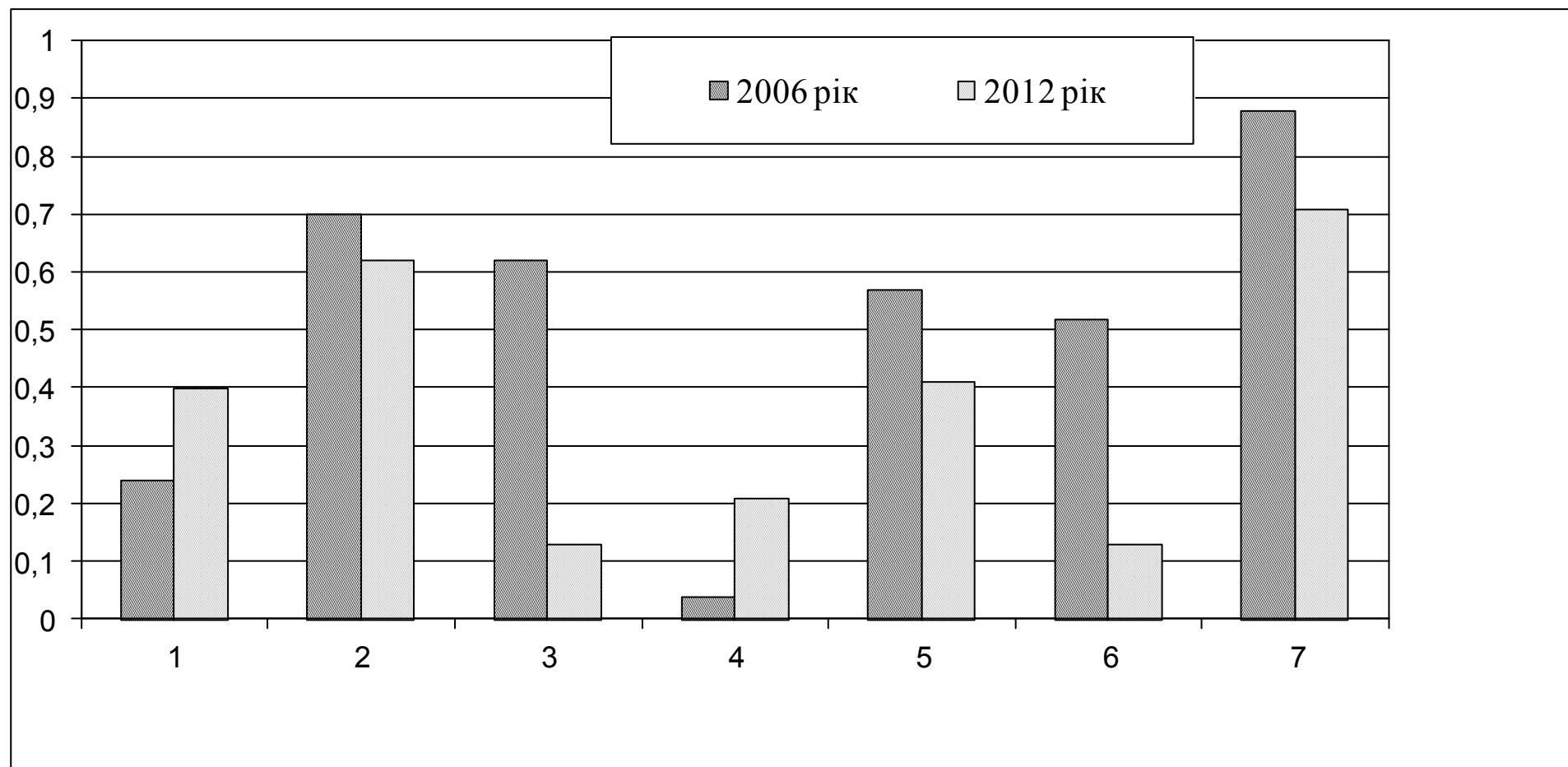
7.3. Генотипування штамів збудника *M.tuberculosis*, отриманих від хворих на туберкульоз

Були отримані дані щодо поширеності кількості повторів в шести локусах, що досліджувались (табл. 7.10). За кількістю повторів штами родини *Beijing* найбільш відрізнялись від штамів групи non-*Beijing* за локусами MIRU10, MIRU31, MIRU39 і ETRA. Для визначення ефективності методу VNTR типування шляхом визначення 6-ти локусів було проведено аналіз поліморфізму та роздільної здатності локусів, що досліджувались, в обох групах за допомогою обчислювання індексу Хантера-Гастона.

Таблиця 7.10

Кількість повторів за 6 локусами в генотипі збудника туберкульозу

Локус	Штами родини <i>Beijing</i>	Штами групи non- <i>Beijing</i>
MIRU10	3>4>2	4>3>5>7>2=9>6=8
MIRU26	5>6>7>1	5>1>2>4
MIRU31	5>4>6	3>2>4>5
MIRU39	3>4>1	2>3>1
MIRU40	3>4>5	4>3>2>1>5>6
ETR A	4>3	2>3=4



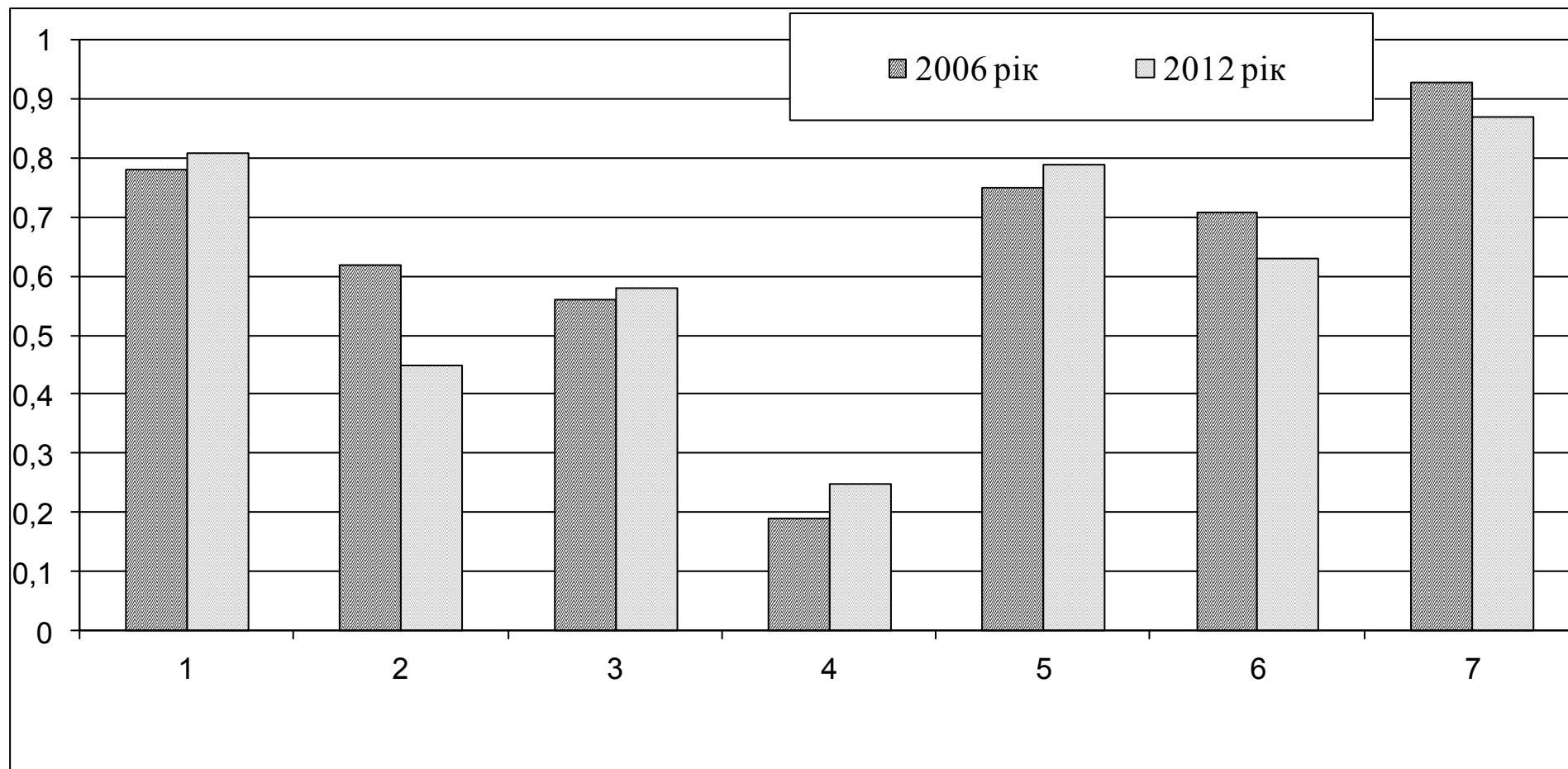
по осі абсцис – показник індекса Хантера-Гастона; по осі ординат – локуси, що досліджувались - 1-MIRU-10; 2-MIRU-26; 3-MIRU-31; 4-MIRU-39; 5-MIRU-40; 6-ETR-A; 7-разом всі шість локусів

Рис. 7.12. Порівняння роздільної здатності методу VNTR-типування для ізолятів збудника туберкульозу, що належать до родини *Beijing* (2006 р. і 2012 р.).

Значення індексу від 0,6 і більше відзначає високу чутливість методу генотипування, від 0,3 до 0,6 – помірну чутливість, менше 0,3 – низьку чутливість [336]. Так, серед ізолятів родини *Beijing*, низький поліморфізм (низька чутливість) спостерігався у MIRU31, MIRU39 та ETR-A та; помірний поліморфізм (помірна чутливість) – у MIRU10 і MIRU41; високий поліморфізм (висока чутливість) – у MIRU26 (рис. 7.12). У порівнянні з даними аналогічних досліджень 2006 року було встановлено, відбулось зменшення поліморфізму певних локусів - MIRU26, MIRU31, MIRU40 і ETRA водночас зріс поліморфізм локусів MIRU10 і MIRU39. Зокрема, якщо в 2006 році локуси MIRU31 і ETR A демонстрували високий і помірний поліморфізм, то в 2012 році обидва локуси мали низький поліморфізм.

В 2012 році, зазначений метод виявив більшу чутливість серед ізолятів групи non-*Beijing*, ніж серед штамів родини *Beijing* (рис. 7.13). Так, низький поліморфізм спостерігався у MIRU39; помірний поліморфізм – у MIRU26 і MIRU31; високий поліморфізм – у MIRU10, MIRU40 і ETR-A. При порівнянні з даними 2006 року відбулось певне зменшення поліморфізму MIRU26 і MIRU39 – так в 2012 році ці локуси високий і помірний поліморфізм відповідно, в 2006 році – помірний і низький поліморфізм відповідно.

За даними MIRU10-MIRU26-MIRU31-MIRU39-MIRU40-ETRA типування найбільш поширеними комбінаціями в групі штамів родини *Beijing* були 355334, 365334 і 465334 (по 6-7 культур в кожній групі), рідше зустрічались комбінації 375334, 355344 і 455334 (по 4-5 культур в кожній групі) (табл. 7.11). У 2003 і 2006 роках також поширеними були кластери 355344, 355334, 365334, 375334 [336]. Стабільна присутність цих кластерів серед штамів збудника туберкульозу свідчить про значну роль саме цих ізолятів для епідеміологічного процесу в Одеському регіоні. Загалом серед штамів родини *Beijing* було виявлено 17 кластерів, до яких належало 86 зразків. Решта – 34 зразки - належали до унікальних ізолятів. За даними 2012 року в групі non-*Beijing* найчастіше відзначались комбінації 553233 (5 культур), 353244, 452252, 712214, 913224 (по 3 культури кожної комбінації).



Примітка: по осі абсцис – показник індекса Хантера-Гастона; по осі ординат – локуси, що досліджувались - 1-MIRU-10; 2-MIRU-26; 3-MIRU-31; 4-MIRU-39; 5-MIRU-40; 6-ETR-A; 7-разом всі шість локусів.

Рис. 7.13. Порівняння роздільної здатності методу VNTR-типування для ізолятів збудника туберкульозу, що належать до групи non-Beijing (2006 р. і 2012 р.).

Таблиця 7.11

Поширеність медикаментозної резистентності і низки епідеміологічних факторів серед різних кластерів збудника туберкульозу (%)

VNTR-кластери (кількість ізолятів)	Рівень мутацій в гені			Культуральна мультирезистентність
	<i>katG</i>	<i>inhA</i>	<i>rpoB</i>	
Родина <i>Beijing</i>				
355334(6)	4/6	3/6	3/6	3/6
355344(5)	0/5	0/5	0/5	0/5
355444(4)	1/4	0/4	0/4	0/4
365334(7)	5/7	4/7	3/7	3/7
375334(5)	3/5	3/5	3/5	3/5
455334(5)	2/5	2/5	2/5	2/5
465334(6)	4/6	4/6	3/6	2/6
Всі штами (57)	26/57	22/57	19/57	18/57
Група non- <i>Beijing</i>				
353244(3)	0/3	1/3	0/3	0/3
353232(3)	0/3	0/3	0/3	-
452252(3)	1/3	0/3	0/3	0/3
553233(5)	4/5	3/5	2/5	2/5
712214(3)	0/3	0/3	0/3	0/3
913224(3)	0/3	0/3	0/3	0/3
Всі штами (47)	10/47*	6/47*	3/47*	4/47*

Примітка. * - $P < 0,05$ (відносно родини *Beijing*).

Загалом до вище згаданих 5 кластерів належало 24 ізоляти групи non-*Beijing*. Решта - 48 культур - належали до менш чисельних кластерів. За попередніми даними в 2006 році поширеними були 452242 562242, 712234. Тобто відбувалась певна зміна у поширеності штамів в групі non-*Beijing* в період 2006-2012 рр. в Одеському регіоні. Згідно міжнародної бази VNTR, що є

на сайті <http://www.MIRU-VNTRplus.org>, за даними MIRU10-MIRU26-MIRU31-MIRU39-MIRU40-ETR А кластери 353244 належать до групи *Cameroon* (Євро-Американська група); кластери 452252 і 452252 та їм подібні – до групи *LAM* (Євро-Американська група); найбільш численна група кластерів 553233 – є близьким до групи *Haarlem* (Євро-Американська група); кластер 712214 – до групи *URAL* (Євро-Американська група) [337]. В 2006 році дослідження в Одеському регіоні виявили поширеність майже тих самих груп кластерів.

Серед ізолятів родини *Beijing* 45,6 і 37,9% мали мутацію в гені *katG* і/або в гені *inhA*, відповідно; серед штамів групи non-*Beijing* рівень вище вказаних мутацій складав 21,2 і 12,8 %, відповідно. Тобто, у ізолятів родини *Beijing* мутації в гені *katG* і/або в гені *inhA* спостерігались в 2,2 разу ($\chi^2=6,74$) і в 3,0 рази ($\chi^2=8,41$) частіше, ніж у штамів групи non-*Beijing*. Близько 37,9 і 6,4 % штамів родини *Beijing* і групи non-*Beijing* мали мутацію в гені *proB*. Тобто, у ізолятів родини *Beijing* мутації в гені *proB* спостерігались в 5,9 разу частіше, ніж у штамів групи non-*Beijing* ($\chi^2=11,22$).

З числа 57 ДНК-ізолятів родини *Beijing*, 18 (31,6 %) були мультирезистентними (одночасно резистентні до ізоніазиду та рифампіцину), згідно культурального методу (табл. 7.11). В групі штамів non-*Beijing* рівень культуральної мультирезистентності склав 8,5 % (4 штами з 47). Тобто штами родини *Beijing* в 3,7 разу частіше мали культуральну мультирезистентність, ніж група non-*Beijing* ($\chi^2=8,22$).

З'ясувалось, що понад половина культур родини *Beijing* з комбінаціями 355334, 365334, 375344 і 465334 мали мутацію в гені *katG* і/або в гені *inhA*, а також в гені *proB*. Це частково співпадає з літературними даними, згідно яких ізоляти з профілем 375334 характеризувались високим рівнем мультирезистентності [338]. Водночас у ізолятів з кластером 355344 вище вказані мутації взагалі були відсутні. Серед ДНК-ізолятів групи non-*Beijing* найбільший рівень мутацій в гені *katG* і/або в гені *inhA*, а також в гені *proB* спостерігався у штамів з комбінацією 553233.

Таким чином, комбіноване визначення шести локусів MIRU10, MIRU26, MIRU31, MIRU39, MIRU40 і ETR-A для генотипування збудника туберкульозу було ефективним та інформативним. В Одеському регіоні спостерігається подальше поширення штамів родини *Beijing*, що характеризується несприятливим перебігом захворювання і високою медикаментозною резистентністю.

Поліморфізм деяких локусів *M.tuberculosis*, що досліджувались, знизився порівняно з 2006 роком, що свідчить про посилення домінування певних кластерів збудника туберкульозу. Найбільш рівень мутацій, що призводить до медикаментозної резистентності, спостерігався серед ізолятів родини *Beijing*, зокрема таких кластерів, як 355334, 365334, 375344 і 465334.

За матеріалами даного розділу були опубліковані такі роботи:

1. Antonenko P. B. Mutations leading to drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* infection in Ukraine / K. O. Antonenko, V. I. Kresyun, P. B. Antonenko // *Central European Journal of Medicine*. – Poland, 2010. – Vol. 5, N 1. – P. 30–35.

2. Антоненко П. Б. Генотипування *Mycobacterium tuberculosis* за шістьма локусами / П. Б. Антоненко, В. Й. Кресюн, Ю. І. Бажора, В. В. Годован, К. О. Антоненко // *Український пульмонологічний журнал*. – 2010. – № 4 (70). – С. 15–18.

3. Антоненко П. Б. Спосіб генотипування возбудителя туберкульозу / П. Б. Антоненко, В. И. Кресюн, Е. А. Антоненко // *Туберкулез и болезни легких (РФ)*. – 2011. – № 12. – С. 47–50.

4. Antonenko P. B. Alternative genotyping of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains / P. B. Antonenko, V. I. Kresyun, K. O. Antonenko // *Polish Journal of Microbiology*. – Poland, 2014. – Vol. 63 (2). – P. 249–253.

5. Антоненко П. Б. Сучасний стан медикаментозної резистентності збудника туберкульозу та можливості її генотипічного визначення / П. Б.

Антоненко, В. Й. Кресюн, В. В. Філюк, К. О. Антоненко, В. Г. Стокич, Н. Я. Коротич // Світ медицини та біології. – 2014. – № 3 (45). – С. 8–13.

6. Антоненко П. Б. Генотипічне визначення медикаментозної резистентності збудника туберкульозу та його інформативність / П. Б. Антоненко // Фармація України. Погляд у майбутнє : VII Національний з'їзд фармацевтів України, 15–17 вересня 2010 р., Харків : матеріали. – Харків, 2010. – Т. 2. – С. 167.

7. Антоненко П. Б. Сучасні методи визначення медикаментозної резистентності збудника туберкульозу / П. Б. Антоненко, В. Й. Кресюн, В. В. Годован, К. О. Антоненко // Спортивна медицина, лікувальна фізкультура та валеологія: 15-та ювілейна міжнар. наук.-практ. конф., 11–12 жовтня 2010 р., Одеса : матеріали. – С. 12–13.

8. Antonenko P. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* rifampicin resistance by polymerase chain reaction / P. Antonenko, V. Kresyun, K. Antonenko // The International Journal of Tuberculosis and Lung Diseases. – 2010. – Vol. 14, N 11 (suppl. 2). – S. 150 (41th World Conference on Lung Health of the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease (The Union). Berlin, 11–15 November 2010 : abstracts).

РОЗДІЛ 8

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

8.1. Особливості поліморфізму генів детоксикації у хворих на туберкульоз легень

Одним із перспективних шляхів підвищення ефективності і безпеки лікування є впровадження в клінічну практику персоніфікованої медицини, що базуються на врахуванні індивідуальних особливостей хворого, в тому числі і генетичного поліморфізму процесів біотрансформації ліків [1]. Підходи персоніфікованої медицини можуть використовуватись для лікування такої соціально значущого для України захворювання як ТБ [5,6]. Особливою проблемою є поширення мультирезистентних штамів МБТ [7,8]. Серед причин розвитку невдач лікування ТБ важливе місце займають генетичний поліморфізм хворих, що визначає резистентність організму і біотрансформацію лікарських препаратів; низька концентрація протитуберкульозних препаратів в крові пацієнтів; генетичні особливості штамів МБТ. Тому необхідні подальші дослідження комплексного взаємозв'язку між патогеном, організмом людини і дією протитуберкульозних препаратів, що дозволить впровадити генотипування як корисний інструмент оптимізації фармакотерапії ТБ [15-17]. Даній проблемі і присвячена ця робота.

Було проведено порівняння поширеності різних генотипів і алельної частоти *CYP2C19* у популяції Одеського регіону, відносно аналогічних показників інших країн (табл. 8.1). Як видно з таблиці, поширеність алелі *CYP2C19*1* в Одеському регіоні (89,3 %) були близькою до європейських країн та Ірану (83,7-89,7 %) і значно більшою від аналогічного показника досліджень, проведених на Далекому Сході (Південна Корея) (63,3 %) [325,339-343]. Поширеність поліморфних алелів в Одеському регіоні - *CYP2C19*2* і *CYP2C19*3* – склала 10,2 і 0,4% відповідно.

Таблиця 8.1

Поширеність генотипу і алелів гена *CYP2C19* в різних країнах (%)

Генотип / алель	Дане дослідження		Росія (n=290)	Словенія (n=119)	Італія (n=260)	Греція (n=283)	Іран (n=127)	Південна Корея (n=166)
	Контроль (n=122)	Хворі на ТБ (n=86)						
<i>Генотип CYP2C19</i>								
*1/*1	79,5	69,8	76,6	68,2	79,4	76,0	74,0	40,9
*1/*2	18,9	26,7	19,0	30,0	18,8	22,0	25,0	33,7
*1/*3	0,8	0	0,3	0,7	1,6	0	0,6	10,8
*2/*2	0,8	3,5	1,7	0,7	0	2,0	0,6	8,4
*2/*3	0	0	0,3	0	0	0	0	5,4
*3/*3	0	0	0	0	0	0	0	0,6
<i>Алель CYP2C19</i>								
*1	89,3	83,1	88,2	83,7	89,7	86,9	86,0	63,3
*2	10,2	16,9	11,3	15,9	9,4	13,0	13,0	28,0
*3	0,4	0	0,3	0,3	0,8	0	1,0	8,7
Джерело	-	-	[339]	[340]	[341]	[342]	[343]	[325]

Отримані дані були близькими до поширеності вказаних алелів в європейських країнах та Ірані - 9,4-15,9 % і 0-1 % відповідно, і значно нижчою від результатів досліджень в Південній Кореї – 28,0 і 8,7 % відповідно.

За результатами генотипування *CYP2C19*, проведеного в даній роботі та розподілом за генотипом *CYP2C19* на «швидких» (*1/*1), «помірних» (*1/*2, *1/*3) та «повільних метаболізаторів», 79,5 % індивідів були «швидкими метаболізаторами», 19,7 % - «помірними метаболізаторами» і 0,8 % - «повільними метаболізаторами». Найбільша поширеність «швидких метаболізаторів» відзначалась в Італії. Дослідження в інших європейських країнах і Ірані виявили близький до отриманих результатів рівень «швидких метаболізаторів» – від 68,2 до 76,6 %, і значно нижчий рівень в Південній Кореї – 40,9 %. Поширеність генотипу «помірних метаболізаторів» становила 19,7 %, що було близьким до результатів досліджень в Росії – 19,3 %, Італії – 20,4 %, Греції – 22,0 %, Ірані – 25,6 %, Словенії – 30,7 % і значно меншим від Південної Кореї – 44,5 %. За поширеністю повільних метаболізаторів країни були у такому порядку: Італія (0 %) < Іран (0,6 %) < Словенія (0,7 %) < Україна (0,8 %) < Росія, Греція (по 2 %) < Південна Корея (14,4 %). Отримані результати засвідчили генетичну спорідненість дослідженого регіону за поліморфізмом *CYP2C19* з європейськими країнами та Іраном, а також значну розбіжність із Південною Кореєю.

Відповідно до генотипу *CYP2C19* серед хворих на ТБ легень 69,8 % індивідів були носіями гомозиготного дикого типу гена *1/*1, 26,7% хворих були носіями гетерозиготного гену *1/*2. Носіями гомозиготного мутантного гена *2/*2 було 3,5 %, водночас хворих з гомозиготним мутантним геном *3/*3 або гетерозиготним мутантним геном *2/*3 не було зафіксовано. Зважаючи на малу кількість хворих з генотипом *2/*2, що не забезпечує достатньої достовірності, було вирішено виключити цю групу з подальших досліджень.

Проведений аналіз засвідчив, що у хворих на ТБ легень дещо частіше зустрічались носії мутантних алелів *2, *3 і рідше – носії дикого алеля *1, ніж серед здорових добровольців. Швидкі метаболізатори частіше спостерігались

серед жінок, ніж серед чоловіків, причому як здорових, так і хворих на ТБ. Зі збільшенням віку серед хворих відзначали збільшення кількості носіїв мутантного алеля *CYP2C19*2*, у порівнянні з контрольною групою. Згідно літературних даних, наявність мутантного алеля *CYP2C19*2* асоціюється зі збільшенням ризику атеросклерозу кровоносних судин і розвитку серцево-судинних захворювань [22]. Отже, можна зробити висновок, що приналежність до чоловічої статі, наявність туберкульозної інфекції і старший вік є факторами, що асоціюються з більшою поширеністю мутантних алелів алелів *CYP2C19*. Тому у цих категорій можна очікувати уповільнення метаболізму різних ксенобіотиків і збільшення їх токсичності. Зокрема це стосується антиагреганта клопідогрелу, антиаритмічного засобу терадоліну, інгібітору протонної помпи омепразолу тощо [31,325,344].

Відповідно до генотипу *CYP2C9* зі 122 здорових донорів 76,2 % індивідів були носіями гомозиготного дикого типу гену *CYP2C9*1/*1* («швидкі метаболізатори»), порівну по 10,7 % досліджених були носіями гетерозиготних генів *CYP2C9*1/*2* і *CYP2C9*1/*3* («помірні метаболізатори») відповідно. Згідно результатів генотипування лише 2,4 % індивідів належали до носіїв мутантних генів - *CYP2C9*2/*2*, **2/*3*, **3/*3* («повільні метаболізатори»). Вірогідність результатів була підтверджена формулою Харди-Вайнберга. Жодних вірогідних відмінностей у віці, статті, групі крові серед носіїв різних генотипів і алелів *CYP2C9* не спостерігалось.

Було проведено порівняння поширеності різних генотипів і алельної частоти *CYP2C9*, отриманими в даній роботі, відносно аналогічних показників інших країн (табл. 8.2). Поширеність алеля *CYP2C9*1* в Одеському регіоні (86,9 %) були близькою до європейських країн та Бразилії (79,0-82,7 %) і значно більшою від аналогічного показника досліджень, проведених в Ірані (64,8 %) [339,340,342,343,345]. Також отримані результати є близькими до результатів, отриманих Інститутом генетичної та регенеративної медицини НАМН України (Київ), згідно яких *CYP2C9*1* зустрічалась у 84,0 % [299].

Поширеність генотипу і алелів гена *CYP2C9* в різних країнах (%)

Генотип / алель	Дане дослідження (n=122)		Україна n=(918)	Росія (n=290)	Словенія (n=119)	Бразилія (n=100)	Греція (n=283)	Литва (n=83)	Іран (n=127)
	Здорові (n=122)	Хворі на ТБ (n=86)							
Генотип <i>CYP2C9</i>									
*1/*1	76,2	67,4	71,6	68,0	86,6	72,0	62,0	66,3	41,2
*1/*2	10,7	22,1	12,0	18,2	19,3	13,0	20,0	20,5	37,8
*1/*3	10,7	3,5	12,8	11,3	10,8	11,0	13,5	8,4	9,5
*2/*2	0,8	0	2,0	0,6	1,5	1,0	1,5	3,6	10,1
*2/*3	0,8	3,5	1,2	1,2	1,5	3,0	2,8	1,2	1,3
*3/*3	0,8	3,5	0,4	0,3	0	0	0	0	0
Алель <i>CYP2C9</i>									
*1	86,7	80,2	84,0	82,7	81,7	84,0	79,0	80,7	64,8
*2	6,6	12,8	8,6	10,5	12,0	9,0	12,8	14,5	25,3
*3	6,6	7,0	7,4	6,7	6,2	7,0	8,1	4,8	9,8
Джерело	-	-	[299]	[339]	[340]	[345]	[342]	[323]	[345]

Поширеність поліморфного алеля *CYP2C9*2* в Одеському регіоні склала 6,6 %, що було нижче від інших європейських країн, де цей показник складав 9,0-25,3 %, і близькою до результатів досліджень в м.Київ [299]. На жаль, автори київської наукової роботи не вказали мешканці яких саме регіонів України досліджувались, а також за якими критеріями відбирались люди - учасники дослідження. Поширеність іншого поліморфного алеля *CYP2C9*3* - 6,6% - була близькою до інших досліджень в європейських країнах - 6,2-9,8 %; київське дослідження дало результат 7,4 %. За результатами даного генотипування *CYP2C9*, 2,4 % індивідів було віднесено до «повільних метаболізаторів» (дані київських дослідників дають дещо інший результат – 7,0 %), в Росії цей показник склав 2,1 %, в Словенії – 3,0 %, Бразилії - 4,0 %, Греції – 4,3 %, Литві – 4,8 %, Ірані – 14,4 %.

Отримані результати засвідчили генетичну спорідненість за поліморфізмом гена *CYP2C9* Одеського регіону з європейськими країнами, а також значну розбіжність зі Східною Азією (зокрема, Іраном). Також отримані результати є близькими до іншого дослідження в Україні. Деякі розбіжності пов'язані з чисельністю учасників дослідження (918 осіб проти 122 осіб), а також категоріями хворих, які залучались до дослідження – в даній роботі це здорові донори, в київському дослідженні характер категорії учасників не відомий. Більшість досліджених – 76,2 % - індивідів були носіями гомозиготного дикого гена *CYP2C9*1/*1*, тобто вони не потребують зміни доз препаратів, що метаболізуються даним цитохромом. Решта індивідів – 23,8 % - можуть потребувати певної корекції дози.

Серед хворих на ТБ легень 80,2 % складав дикий алель *CYP2C9*1*, по 12,8 % і 7,0 % складалі мутовані алелі *CYP2C9*2* і *CYP2C9*3*, що асоціюються з уповільненням метаболізму ксенобіотиків. Мутантні алелі *CYP2C9*2* і *CYP2C9*3* зустрічались у хворих на ТБ легень чоловічої статі в 1,8 разу частіше, ніж серед здорових добровольців тієї ж статі. Хворі на туберкульоз віком понад 30 років майже в 3 рази частіше мали мутантний алель *CYP2C9*2*, ніж особи контрольної групи. Отже, можна зробити висновок, що приналежність до

чоловічої статті, наявність туберкульозної інфекції і старший вік є факторами, що пов'язані з більшою поширеністю мутантних алелів гена *CYP2C9* (це саме відзначалось і відносно поширеності мутантних алелів гена *CYP2C19*). Цікаво, що згідно даних літератури наявність алеля *CYP2C9*3* у чоловіків збільшує ризик розвитку інфаркту міокарду і знижує ризик колоректального раку [346,347]. Крім того у цих категорій можна очікувати уповільнення метаболізму різних ксенобіотиків і збільшення їх токсичності, зокрема це стосується пероральних антикоагулянтів (варфарин), багатьох нестероїдних протизапальних засобів (целекоксиб, диклофенак, ібупрофен тощо) [323].

Відповідно до генотипу *CYP2E1* зі 122 здорових донорів 82,0 % індивідів були носіями гомозиготного дикого типу гену *CYP2E1*DD*, решта – 17,2 % і 0,8 % мали генотип *CYP2E1*CD* і **CC*. Жодних вірогідних відмінностей у віці, статті, групі крові серед здорових донорів - носіїв різних генотипів і алелів *CYP2E1* не спостерігалось. Було проведено порівняння поширеності різних генотипів і алельної частоти *CYP2E1*, отриманими в даній роботі, відносно аналогічних показників інших країн (табл. 8.3). Як видно з таблиці, поширеність алеля *CYP2E1*D* в Одеському регіоні (90,6 %) були близькою до європейських країн, включаючи Російської Федерації (м. Томськ) і Туреччину (90,0-92,0 %) і значно більшою від аналогічного показника досліджень, проведених в Південно-Східній Азії (Китай, Малайзія) і США (78,0-81,1 %) [348-355]. Поширеність поліморфного алеля *CYP2E1*C* в Одеському регіоні склала 9,4 %, що також було близьким до поширеності вказаного алеля в європейських країнах (Франції, Великобританії, РФ, Туреччині) - 8,0-10,0 %, і значно нижчою від результатів досліджень в Малайзії, Китаї, США – 18,9-22,0 %.

За результатами генотипування *CYP2E1* та розподілом за генотипом *CYP2E1* на «швидких» (**DD*), «помірних» (**CD*) та «повільних метаболізаторів» (**CC*) [50], 82,0 % індивідів були «швидкими метаболізаторами», 17,2 % - «помірними метаболізаторами»; 0,8 % - «повільними метаболізаторами» (для зручності останні дві групи були об'єднані в одну).

Поширеність генотипу і алелів гена *CYP2E1**6 в різних країнах (%)

Генотип / алель	Дане дослідження		Індія n=124	Франція n=206	Турція n=206	РФ (Томск) n=125	Великоб ританія n=375	США n=452	Малайзія n=175	Китай n=510
	Здорові n=122	хворі на ТБ n=86								
<i>Генотип CYP2E1</i>										
<i>*DD</i>	82,0	89,0	98,4	84,9	84,0	81,1	81,0	67,7	63,4	62,3
<i>*CD</i>	17,2	9,8	1,6	14,3	15,5	17,9	18,0	26,8	31,4	31,4
<i>*CC</i>	0,8	1,2	0	0,8	0,5	1,0	1,0	5,5	5,2	6,3
<i>Алель CYP2E1</i>										
<i>*D</i>	90,6	94,2	99,2	92,0	91,7	90,0	90,0	81,1	79,1	78,0
<i>*C</i>	9,4	5,8	0,8	8,0	8,3	10,0	10,0	18,9	20,9	22,0
Джерело	-		[354]	[355]	[348]	[352]	[349]	[351]	[350]	[353]

Дослідження в інших європейських країнах (Великобританії, Франції, РФ, Туреччині) виявили близький рівень «швидких метаболізаторів» – від 81,0 до 84,9 %, і значно нижчий рівень в країнах Південно-Східної Азії і США – від 62,3 до 67,7 %. Поширеність генотипу «помірних метаболізаторів» становила 17,2 %, що було близьким до результатів досліджень у Франції – 14,3 %, Туреччині – 15,5 %, Росії – 17,9 %, Великобританії – 18,0 %, США (18,9%) і значно меншим від Малайзії і Китаю (по 31,4 %). За поширеністю генотипу «повільних метаболізаторів» країни були у такому порядку: Туреччина (0,5 %) < Франція (0,8 %) < Україна, РФ, Великобританія (1,0 %) < Малайзія (5,2 %) < США (5,5 %) < Китай (6,3%). Отримані результати засвідчили генетичну спорідненість за поліморфізмом *CYP2E1* Одеського регіону з європейськими країнами та країнами Передньої Азії (Туреччина), а також значну розбіжність з країнами Тихоокеанського регіону (Малайзія, Китай). Показники, отримані в Індії значно відрізняються від інших досліджень значним поширенням генотипу «швидких метаболізаторів» (98,4%).

При порівнянні поширеності генотипу *CYP2E1* серед здорових добровольців і хворих на ТБ легень відзначалось дещо менша частка носіїв генотипів, що відповідали за помірний тип метаболізму, серед хворих на ТБ (9,8 проти 17,2 %) і дещо більша частка осіб з генотипом «швидких метаболізаторів» серед хворих на туберкульоз (89,0 проти 82,0 %). Також відзначалось певне зростання кількості носіїв генотипу *CYP2E1*DD* серед хворих на туберкульоз і здорових добровольців зі збільшенням віку і також більше поширення вказаного генотипу серед чоловіків, особливо хворих на ТБ. Зокрема, пацієнти з генотипами **CD* і **CC* майже в 9,4 разу частіше мали вік до 30 років, ніж після 30 років. Отже, можна зробити висновок, що приналежність до чоловічої статі, наявність туберкульозної інфекції і старший вік є факторами, що пов'язані з більшою поширеністю генотипу *CYP2E1*DD* (це протилежна тенденція, тій що спостерігалась відносно поліморфізму генів *CYP2C19* і *2C9*). Зростання поширеності генотипу *CYP2E1*DD* може

обумовлювати збільшення ризику утворення токсичних метаболітів, в тому числі і при хіміотерапії ТБ.

Серед здорових добровольців згідно *NAT2* генотипу 8,2 % індивідів були «швидкими ацетиляторам» (ША), 37,7 % становили «помірні ацетилятори» (ІА) і 54,1 % індивідів були «повільними ацетиляторам» (ПА). У подальшому для зручності перші дві групи було об'єднано до однієї групи ША. Чоловіки в два рази частіше, ніж жінки, належали до ПА (57,1 проти 28,6 %, $P < 0,05$). Згідно даних Djordjevic N., et al. (2010) стать не впливала на активність ферменту *NAT2* [324]. Водночас, згідно отриманих в даній роботі результатів, серед жінок рідше спостерігали генотипи ПА, ніж серед представників чоловічої статі. Можна це пов'язати з тим, що у роботі Djordjevic N., et al. з'ясовували фенотип ацетилювання, а в даній роботі визначали генотип *NAT2*, що можуть надавати відмінні між собою результати. Також заслуговує на увагу тенденція до зниження відсотка ПА у здорових донорів зі збільшенням віку. Можливо, що у більш літніх людей (70 років і старше) має місце подальше зниження відсотка ПА, що відбиває певне значення поліморфізму *NAT2* для тривалості життя.

Згідно літературних даних від 40 до 70% мешканців в Європі і Північній Америці складають ПА. Отримані дані, щодо *NAT2* поліморфізму в Одеському регіоні, де ПА складають 54,1 %, співпадають з європейськими показниками, а також даними фенотипування у Львівській області і Вінницькій області, де відсоток носіїв фенотипу ПА складав 50,5 і 56,0 %, відповідно [356,357].

Серед хворих на ТБ легень згідно *NAT2* генотипу 3,5 % індивідів були ША, 34,9 % становили ІА і 61,6 % індивідів були ПА. Отже, серед хворих на ТБ легень дещо більше осіб з генотипом ПА, ніж серед здорових осіб, що може супроводжуватись повільною біотрансформацією низки лікарських препаратів – ізоніазиду, новокаїніаміду, сульфаніламідів тощо. Це, в свою чергу, призведе до зростання терапевтичного ефекту і токсичності цих препаратів. Співвідношення між швидкими і повільними метаболізаторами серед здорових

добровольців і хворих на ТБ згідно генотипу *NAT2* співпадає з особливостями поліморфізму генів *CYP2C9* і *2C19*.

Кількість жінок, які хворіли на ТБ легень і мали генотип ПА, складала 66,7 %, що було в 2,3 разу вище, ніж серед здорових донорів тієї ж статі. Водночас серед чоловіків, хворих на туберкульоз легень, 57,1 % індивідів мали генотип ПА. Отже, серед хворих на ТБ легень жінки частіше мають генотип ПА, ніж чоловіки, серед здорових донорів – навпаки. Зі збільшенням віку спостерігалась певна тенденція до зменшення частки ПА серед хворих на туберкульоз (те ж саме спостерігалось і серед здорових донорів). Зважаючи на участь ферментів NAT в утворенні канцерогенів можна пояснити зростання ризику раку із віком в тому числі і збільшенням відсотка ША (аналогічно *CYP2E1*).

8.2. Вплив поліморфізму генів родини *CYP* і *NAT2* на фармакокінетику протитуберкульозних препаратів

Згідно генотипу *CYP2C19* протягом доби після прийому рифампіцину дещо більша концентрація препарату спостерігалась у носіїв генотипу **1/*1*, ніж у осіб з генотипом **1/*2*, хоча різниця між групами не було вірогідною. Також хворі на ТБ легень, які є носіями генотипу **1/*2* в 1,5 рази частіше мали субефективну концентрацію рифампіцину через 24 год після прийому препарату, ніж носії генотипу **1/*1* ($P < 0,05$). Це є досить неочікуваним, оскільки носії генотипу **1/*1* («швидкі метаболізатори») за звичай мають більш активні процеси метаболізму ліків, ніж особи з генотипом **1/*2* («помірні метаболізатори»). Можливо, що певні генотипи *CYP2C19* у хворих на ТБ асоціюються з іншими факторами, що впливають на біотрансформацію рифампіцину, і не були виявлені в даній роботі. Найбільш повільні процеси метаболізму відзначаються у повільних метаболізаторів або носіїв генотипу **2/*2*, **2/*3*, **3/*3*. В нашому дослідженні таких хворих було дуже мало і тому ми не змогли адекватно оцінити вміст рифампіцину в крові цих пацієнтів.

Серед хворих на туберкульоз з генотипом $*1/*1$ на 50% частіше зустрічався швидкий тип біотрансформації ізоніазиду, ніж у індивідів з генотипом $*1/*2$.

Згідно генотипу *CYP2C9* через 4-24 год після прийому концентрація рифампіцину і ізоніазиду була вірогідно найвищою у «повільних метаболізаторів» (генотипи $*2/*3$; $*3/*3$), дещо меншою концентрація була у «швидких метаболізаторів» (генотип $*1/*1$) і найнижчою концентрація була у «помірних метаболізаторів» ($*1/*2$; $*1/*3$). Різниця між двома останніми групами мала невірогідний характер. Також у «помірних метаболізаторів» була найбільша кількість хворих з субефективною концентрацією, у «повільних метаболізаторів» – найменша кількість. Серед «повільних метаболізаторів» через 4 год після введення препаратів концентрація рифампіцину була на 25,1 і 22,2 % більше, ніж у «помірних» і «швидких» метаболізаторів відповідно; через 6 год концентрація ізоніазиду була на 68,8 % вище, ніж у носіїв генотипу $*1/*2$; $*1/*3$. Також носії генотипів $*2/*3$; $*3/*3$ протягом доби мали найменшу кількість випадків субтерапевтичної концентрації рифампіцину і ізоніазиду; середня концентрація рифампіцину залишалась в межах рекомендованої терапевтичної концентрації. Це свідчить про уповільнення біотрансформації рифампіцину і ізоніазиду у носіїв генотипів *CYP2C9* $*2/*3$, $*3/*3$, що підтверджує участь цієї ізоформи СYP у метаболізмі вказаних препаратів. Причому якщо різниця у концентрації рифампіцину спостерігалась через 4 год (пікова концентрація), то у концентрації ізоніазиду – через 6 год. Тобто скоріш за все СYP приймає участь у більш пізніх стадіях метаболізму ізоніазиду. З іншого боку при порівнянні «швидких» і «помірних метаболізаторів» за генами ферментів *CYP2C9* і *2C19* – більш швидке падіння концентрації рифампіцину відзначалось у носіїв генотипу «помірних метаболізаторів», ніж у осіб з генотипом «швидких метаболізаторів». При чому серед «помірних метаболізаторів» *CYP2C19* зустрічалась більша кількість «повільних ацетиляторів», ніж серед «швидких метаболізаторів»; у випадку гена *CYP2C9*, навпаки, «помірні метаболізатори» мають більший відсоток ША, ніж «швидкі метаболізатори». Так, серед гетерозигот (*CYP2C9* $*1/*2$; $*1/*3$) швидкий тип

біотрансформації ізоніазиду зустрічався в 2,8 разу частіше, ніж серед носіїв генотипу *CYP2C9*1/*1* (68,2 проти 24,1 %); серед «повільних» гомозигот (**2/*3*, **3/*3*) 100 % склали носії повільного типу біотрансформації ізоніазиду. Незалежно від генотипу *CYP2C19* і *2C9* хворі, які були «повільними ацетиляторами» відносно ізоніазиду, мали більшу концентрацію і нижчу частоту випадків субтерапевтичної концентрації рифампіцину, і, навпаки, «швидкі ацетилятори» мали нижчу концентрацію і більшу частоту випадків субтерапевтичної концентрації препарату. Це може бути пов'язано із здатністю ізоніазиду або його метаболітів пригнічувати активність ферментів родини CYP і відповідно пригнічувати біотрансформацію препаратів, що є субстратами цих ферментів. Тому дещо більш низьку концентрацію рифампіцину у носіїв генотипу *CYP2C9*1/*2*; **1/*3* можна пов'язати з швидкою інактивацією ізоніазиду і меншим пригніченням ферментної систем CYP, відносно осіб з генотипом *CYP2C9*1/*1*.

У носіїв генотипів *CYP2E1*CD*; **CC* («повільні метаболізатори») відзначалась більш висока концентрація і менша частота випадків субтерапевтичної концентрації ізоніазиду протягом доби, ніж у осіб з генотипом *CYP2E1*DD* («швидкі метаболізатори») ($P > 0,05$). Це співпадає з даними літератури, згідно яких CYP2E1 приймає участь у метаболізмі ізоніазиду [126]. Також у осіб з генотипом *CYP2E1*CD*; **CC* спостерігалась більша концентрація і менша кількість випадків субтерапевтичної концентрації рифампіцину, ніж у хворих з генотипом *CYP2E1*DD*. Зокрема, серед носіїв генотипів **CD*, **CC* концентрація рифампіцину через 6 год після введення і в середньому протягом 24 год була на 17,6 і 14,9 % більше відповідно, ніж у хворих з генотипом **DD* ($P < 0,05$). У носіїв генотипу *CYP2E1*DD* через 24 год після введення рифампіцину близько 71 % хворих мали субтерапевтичну концентрацію; у хворих з генотипами **CC*, **CD* лише третина мали підпороговий вміст рифампіцину ($P < 0,05$). Встановлено, що у носіїв генотипів **CC*, **CD* рівень AUC рифампіцину був на 11,5 % вищим, ніж в групі **DD* ($P < 0,05$). Наведені дані свідчать, що у носіїв варіантних алелей - **CC*, **CD*, що

пов'язані з уповільненням метаболізму ксенобіотиків, відзначався більш високий вміст рифампіцину і тенденція до більшого вмісту ізоніазиду, ніж у носіїв генотипу **DD*. Спираючись на наведені дані можна говорити про пряму або непряму участь ферменту *CYP2E1* у метаболізмі рифампіцину і в меншому ступені – метаболізмі ізоніазиду. Водночас пояснити механізм впливу поліморфізму *CYP2E1* і *CYP2C9* на концентрацію рифампіцину в крові у хворих в межах даної роботи неможливо.

У хворих на ТБ легень, які згідно генотипу *NAT2* належали до ПА, спостерігалась вірогідно більша концентрація ізоніазиду в крові через 4 і 6 год після прийому препарату на 20,6 і 38,0 % відповідно ($P < 0,05$), ніж у ША. Близько 20 % хворих на туберкульоз, незалежно від типу ацетилювання, через 2 і 4 год мали концентрацію ізоніазиду нижчу від рекомендованої ефективної концентрації. Серед ША вдвічі більшою була кількість хворих, що мали субтерапевтичну концентрацію ізоніазиду через 6 год, ніж серед ПА (42,4 проти 19,6 %, $P < 0,05$). Період напіввиведення ізоніазиду серед ША у всіх часових відрізках був нижче, ніж у ПА. У «швидких ацетиляторів» концентрація ізоніазиду перебувала вище рекомендованої мінімальної терапевтичної концентрації до 13 год після введення препарату, у «повільних ацетиляторів» – до 18 год. Наведені дані свідчать про безперечну участь ферменту *NAT2* у біотрансформації ізоніазиду, що співпадає з літературними даними [126].

Зважаючи на низьку концентрацію рифампіцину у хворих з швидким метаболізмом ізоніазиду ми очікували підтвердження залежності між генотипом *NAT-2* і концентрацією рифампіцину. Однак з'ясувалось, що між носіями різних генотипів *NAT-2* відсутня вірогідна різниця щодо концентрації і частоти випадків субтерапевтичної концентрації рифампіцину. Розбіжності між фенотипом і генотипом ацетилювання щодо концентрації рифампіцину можливо пов'язано з тим, що для біотрансформації рифампіцину в більшому ступені має значення саме концентрація ізоніазиду або його метаболітів, тобто не генетична детермінованість процесів ацетилювання, а реальна ферментативна активність систем біотрансформації ізоніазиду.

Як вже згадувалось раніше, на початку 2000-х років добова доза ізоніазиду становила 5-15 мг/кг ваги на добу (600-900 мг в середньому), що дозволяло ігнорувати генотип ацетилювання, оскільки така доза забезпечувала досягнення терапевтичної концентрації ізоніазиду незалежно від генотипу *NAT2*. Але після запровадження в 2006 р. DOTS-стратегії лікування дозу ізоніазиду скоротили до 4-6 мг/кг на добу (300-400 мг в середньому). Згідно даних Donald P. R., et al. (2007) хворі на ТБ – «швидкі ацетилятори», які отримували ізоніазид щоденно в дозі 6 мг/кг, мали однаковий ефект з «повільними ацетиляторами», які приймали 3 мкг/мл [358]. Динаміка концентрації ізоніазиду протягом доби свідчить про те, що сьогоднішні дози ізоніазиду у перші 4 год після перорального введення забезпечують терапевтичну концентрацію приблизно у 80 % хворих, незалежно від генотипу; вже через 6 год близько третини хворих мають субтерапевтичну концентрацію ізоніазиду в крові, через добу – понад 90 %. І саме починаючи з 6 год. спостерігаються істотні відмінності у досягненні терапевтичної концентрації ізоніазиду згідно генотипу *NAT2*, що свідчить про важливість поліморфізму *NAT2* для збереження терапевтичної концентрації ізоніазиду в крові під час лікування ТБ. На теренах України данні щодо вмісту протитуберкульозних препаратів, особливо після впровадження нової стратегії лікування майже відсутні. Отримані дані щодо субтерапевтичної концентрації ізоніазиду співпадають із літературними джерелами [123-125,128].

Концентрація рифампіцину після його перорального прийому з розрахунку 8-12 мг/кг (загалом 450-600 мг/добу) забезпечувала терапевтичну дію у понад 90 % хворих протягом перших 6 год, наприкінці доби в середньому дві-третьини хворих мали субтерапевтичну концентрацію рифампіцину. Цікаво відзначити, що згідно літературних джерел пік концентрації рифампіцину при прийомі внутрішньо має бути через 2 год, в даній роботі пік спостерігався через 4 год. Можливо це пов'язано з взаємодією протитуберкульозних препаратів на етапі всмоктування, розподілу, біотрансформації або екскреції.

8.3. Значення поліморфізму генів біотрансформації ліків і концентрації протитуберкульозних препаратів для лікування туберкульозу

На початку лікування у хворих з генотипом *CYP2C19*1/*2* («помірні метаболізатори») дещо частіше, ніж у хворих з генотипом **1/*1* («швидкі метаболізатори»), спостерігались явища деструкції (52,2 проти 40,0%, $P>0,05$), частіше явища розпаду (30,4 проти 10,0 %, $P<0,05$). Отже, наявність мутантного алеля *CYP2C19*2* асоціюється з більшим ризиком розвитку ТБ і обумовлює більш важкий перебіг на початку захворювання. Показники периферичної крові у хворих з генотипом **1/*1* як на початку так і при завершенні стаціонарного лікування практично не відрізнялись від носіїв генотипу **1/*2*, хоча у перших вище вказані патологічні зсуви були дещо менш вираженими. У хворих з генотипом **1/*2* на початку лікування спостерігався дещо вищий рівень ДК і нижча активність каталази, відносно групи з генотипом **1/*1*.

Наприкінці стаціонарного лікування деструкції легеневої тканини в 7 разів частіше спостерігалась у осіб з генотипом *CYP2C19*1/*1*, ніж у осіб з генотипом **1/*2* (30,0 проти 4,3 %; $P<0,05$); припинення деструкції відбувалась у носіїв генотипу **1/*2* в 4,4 разу частіше, ніж у пацієнтів з генотипом **1/*1* (91,7 проти 20,8 % відповідно) Саме генотип **1/*2*, згідно попередніх даних, асоціювався зі значною кількістю хворих з повільним метаболізмом ізоніазиду (тобто, з більш високим вмістом ізоніазиду) і дещо меншою концентрацією рифампіцину під час лікування. На жаль, оцінити вплив наявності генотипу **2/*2* на перебіг туберкульозного процесу було важко у зв'язку з малою кількістю таких хворих.

Отримані дані засвідчили, що на початку лікування у хворих з генотипом *CYP2C9*1/*1* («швидкі метаболізатори») в 1,9 разу частіше спостерігались явища деструкції легеневої тканини, ніж у хворих з генотипами **1/*2*, **1/*3* («помірні метаболізатори»). Згідно клінічної форми, дисемінація туберкульозного процесу спостерігалась майже в 3 рази частіше у хворих з генотипом **2/*3* або **3/*3* («повільні метаболізатори»), ніж у осіб з генотипом

**1/*1* (75,0 проти 23,2 %, $P < 0,05$). Отже, на початку лікування більш важкий перебіг захворювання спостерігався у носіїв генотипу **1/*1* і **2/*3*, **3/*3*. Як на початку, так і при завершенні стаціонарного лікування індикатор ураження печінки ГГТ був найбільший у носіїв генотипу **2/*3*, **3/*3* – він перевищував аналогічний показник групи **1/*2*, **1/*3* – на 38,8 і 53,8 % відповідно ($P < 0,05$), що можна пояснити найбільш високим рівнем ізоніазиду і рифампіцину. Найнижчий рівень ізоніазиду і рифампіцину спостерігався в групі генотипів **1/*2*, **1/*3*, де також спостерігався найбільш низька активність АлАТ і ГГТ.

Наприкінці стаціонарного лікування найчастіше процеси розсмоктування ТБ інфільтрату і відсутність деструкції легеневої тканини спостерігались при наявності варіантних генотипів **2/*3*, **3/*3*. Саме ці генотипи, згідно попередніх даних, асоціювались з високим вмістом рифампіцину і ізоніазиду. Наприклад, явища розсмоктування ТБ інфільтрату і ущільнення в легеневій тканині спостерігались у 82,8 % «швидких», 91,0 % «помірних» і 100% «повільних метаболізаторів»; явища деструкції виявлялись у 31,0, 18,2 і 0 % відповідно ($P > 0,05$). Тривалість стаціонарного лікування становила 112,5; 100,7 і 86,7 дня відповідно ($P > 0,05$). Отже, серед носіїв генотипу **1/*1* частіше спостерігали найбільш тривале лікування і найменшу частоту процесів розсмоктування ТБ інфільтрату, що можливо пов'язано з відмінностями у тяжкості початкового стану хворих на ТБ легень – більш важкий перебіг на початку у носіїв генотипу **1/*1*, ніж у хворих з генотипами **1/*2*, **1/*3*.

На початку лікування у хворих з різними генотипами *CYP2E1* майже не було відмінностей у формі і тяжкості захворювання, хоча в групі хворих з генотипом **CD*, **CC* («повільні метаболізатори») дещо частіше спостерігались явища деструкції в легеневій тканині, ніж у хворих з генотипом **DD* («швидкі метаболізатори») ($P > 0,05$). Наприкінці стаціонарного лікування у хворих з генотипом **DD* рідше залишались процеси інфільтрації легеневої тканини і дещо частіше спостерігались явища розсмоктування інфільтратів, ніж у носіїв генотипу **CD*, **CC*. Наприклад при виписці з стаціонару процеси деструкції зберігались у 20,8 % хворих з генотипом **DD* і 44,4 % хворих з генотипом **CD*,

**CC* ($P > 0,05$); явища інфільтрації спостерігались в групі **CD*, **CC* в 6,4 разу частіше, ніж в групі **DD* ($P < 0,05$). Також у хворих з генотипами **CD*, **CC* в 3,4 разу частіше були присутні хворі з абсолютним лейкоцитозом, ніж серед хворих з генотипом **DD* ($P < 0,05$). Це можливо пояснити більш важким станом хворих з генотипами **CD*, **CC* на початку лікування, ніж у хворих з генотипом **DD*.

На початку лікування у хворих з генотипом **DD* рівень білірубину, активність АлАТ, ГГТ були вище, ніж у носіїв генотипів **CD*, **CC* на 33,2, 65,6 і 41,0 % відповідно ($P < 0,05$). У хворих з генотипом **DD* рівень продуктів ПОЛ – ДК – був вищим на 8,6 % ($P < 0,05$) і активність каталази і антиоксидантний індекс були нижче в 2,0 і 2,2 разу відповідно ($P < 0,001$), ніж у носіїв генотипу **CD*, **CC*. При завершенні стаціонарного лікування у хворих з генотипом **DD* активність АсАТ и АлАТ були вище, ніж у хворих з генотипами **CD*, **CC*, на 49,5 і 23,9 % відповідно ($P < 0,01$). Також серед пацієнтів з генотипами *CD*, *CC* взагалі були відсутні хворі з підвищеною активністю АлАТ і АсАТ в крові, водночас у індивідів з генотипом **DD* ці показники становили 32,8 і 31,1 % відповідно ($P < 0,05$). Високий рівень маркерів гепатотоксичності у носіїв генотипу *DD* можливо пояснити більш виразною здатністю осіб з генотипом **DD* утворювати токсичні метаболіти в печінці, ніж особи з генотипами **CD*, **CC* [359].

На початку лікування хворі на ТБ легень, що належали згідно генотипу NAT2 до ША, в 3 рази частіше мали ознаки дисемінації, ніж ПА ($P < 0,05$), водночас у останніх туберкульозний процес частіше мав вогнищевий характер - у 22,0 % ПА і у жодного ША ($P < 0,05$). Під час стаціонарного лікування у «повільних ацетиляторів» в 1,3 разу швидше припинявся процес деструкції легеневої тканини і в 1,2 разу - бактеріовиділення за даними культурального методу ($P < 0,05$) відносно «швидких ацетиляторів», що свідчить про більш швидке досягнення терапевтичного ефекту у хворих на туберкульоз з генотипом ПА, ніж у осіб з генотипом ША.

На початку лікування вірогідна різниця між групами ША і ПА щодо біохімічних показників крові була відсутня. На момент виписки зі стаціонару ПА мали більший рівень біохімічних показників, ніж ША. Наприклад, рівень білірубину був на 17,5 % більшим ($P < 0,01$), тімолова проба – на 39,8 % ($P < 0,01$), АлАТ, АсАТ, ГГТ – на 23,2, 26,4 і 13,7 % ($P < 0,05$) відповідно. При порівнянні показників про- і антиоксидантної систем у хворих на туберкульоз з різним генотипом *NAT-2* було встановлено відсутність вірогідних відмінностей між ША і ПА.

Отже, наявність генотипу ПА згідно *NAT2* асоціювалась з більш швидким досягненням ефекту протитуберкульозної терапії і більшим ризиком розвитку гепатотоксичності. Отримані дані співзвучні з даними літератури, згідно яких підбір дози ізоніазиду відповідно до генотипу ацетилювання зменшує токсичність і покращує ефективність лікування ТБ [303,358,360-362]. Менша ефективність лікування ТБ легень у ША пов'язана з меншою концентрацією ізоніазиду, ніж у ПА, що спостерігається під час лікування.

Доведена інформативність визначення стану про-/антиоксидантних систем на початку лікування для прогнозування ефективності і токсичності протитуберкульозної терапії. Наприклад, активність каталази була у прямій кореляційній залежності з відносною кількістю гранулоцитів і оберненій кореляції з відносною кількістю лімфоцитів; рівень ДК був у оберненій кореляції з кількістю лейкоцитів. Згідно літературних джерел однією з ознак ефективного протитуберкульозного лікування є зростання відсотку лімфоцитів і зменшення кількості гранулоцитів [331]. Також рівень ДК був у прямій залежності з показниками тімолової проби і активністю АлАТ. Таким чином, вміст ДК на початку лікування ТБ є маркером ризику гепатотоксичності, з одного боку, і нормалізації кількості лейкоцитів, з іншого боку.

На початку лікування хворі на ТБ легень, які у подальшому мали різну концентрацію ізоніазиду, практично не відрізнялись щодо особливостей туберкульозного процесу. Наприкінці стаціонарного лікування у хворих з високою концентрацією ізоніазиду (ВКІ) припинення процесів деструкції

легеневої тканини відбувалось в 7,2 разу частіше ($P < 0,05$), явища деструкції зберігались в 3,6 разу рідше ($P < 0,05$), процеси розсмоктування ТБ інфільтрату спостерігались в 1,3 разу частіше ($P < 0,05$), ніж у хворих з низькою концентрацією ізоніазиду (НКІ). Згідно культурального методу на момент завершення лікування припинення бактеріовиділення спостерігалось в 3,1 рази частіше у хворих з ВКІ ($P < 0,05$), ніж в групі з НКІ.

На початку і при завершенні стаціонарного лікування у хворих з ВКІ кількість еритроцитів були на 6,8 і 9,2% відповідно вище, ніж у пацієнтів з НКІ ($P < 0,001$). У хворих з НКІ як на початку, так і наприкінці лікування відзначався найбільший рівень ШОЕ, найбільша кількість лейкоцитів ($P > 0,05$) водночас і найнижча кількість лімфоцитів в лейкоцитарній формулі ($P < 0,05$), ніж у пацієнтів з ВКІ, що свідчать про більш виражені патологічні зсуви і меншу ефективність лікування. Це було підтверджено позитивною кореляцією між концентрацією ізоніазиду в крові з кількістю еритроцитів, відносною кількістю лімфоцитів і негативною кореляцією з відсотком моноцитів, рівнем тимолової проби, активністю АсАТ. Практично за всіма показниками печінкових проб – білірубін, тимолова проба, АлАТ, АсАТ, ГГТ - найвищі показники спостерігались у хворих з ВКІ ($P > 0,05$) причому як на початку, так і при завершенні лікування. Отже, визначення концентрації ізоніазиду через 4 год. після прийому препарату є ефективним для прогнозування наслідків лікування і можливої корекції терапії захворювання.

Зменшення концентрації ізоніазиду протягом доби після введення асоціювалось з певним зменшенням вмісту продуктів ПОЛ (ДК) і зростанням активності ферменту АОС – каталази, а також антиоксидантного індексу ($P > 0,05$). Це узгоджується з попередніми даними про більший рівень маркерів ураження печінки у хворих з високим рівнем ізоніазиду, а також літературними даними, згідно яких ізоніазиду характеризується системною токсичністю [330].

Водночас досить неочікуваною була пряма кореляція між концентрацією ізоніазиду, АУС ізоніазиду і активністю каталази, антиоксидантним індексом, з одного боку, і обернена кореляція з вмістом ДК, з другого боку. Тобто вища

концентрація ізоніазиду асоціювалась з більшою активністю каталази і низьким вмістом продуктів ДК. Далі, чим повільніше виводився ізоніазид з організму в інтервалі 2-4 і 4-6 год після введення, тим вище була активність АОС (каталази, антиоксидантний індекс) і нижчим був вміст ДК. Неочікувана кореляція концентрації ізоніазиду з показниками про- і антиоксидантної систем можливо пов'язана з особливостями впливу метаболітів ізоніазиду, що утворюються в організмі людини (ацетилізоніазиду, гідразину), які є більш токсичними, ніж сам ізоніазид. Представлена на рис. 8.1 схема можливого метаболізму ізоніазиду пропонувалась ще в 1967 році Л. И. Гребенник [363].

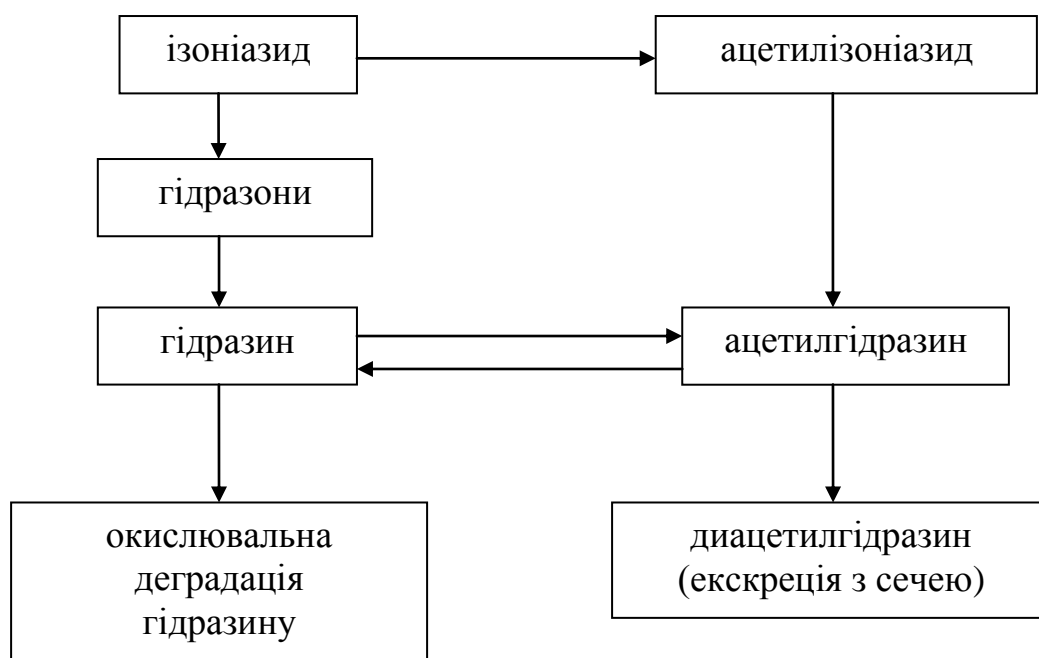


Рис. 8.1. Гіпотетичний цикл метаболізму ізоніазиду (згідно Л. И. Гребенник).

На початку 2000-х років перелік метаболітів ізоніазиду був розширений і вже включав такі сполуки, як гідразин, ізонікотинова кислота, ацетилізоніазид (AcINH), гідразони з піруватом і кетоглутаровою кислотою, моно- і диацетилгідразин і окислюючи вільні радикали. Їх утворення є результатом гідролізу, цитохром Р450 (СYP)-залежного окиснення і N-ацетилтрансферази (NAT) активності [170]. На основі новітніх даних була запропонована нова схема біотрансформації ізоніазиду (рис. 8.2).

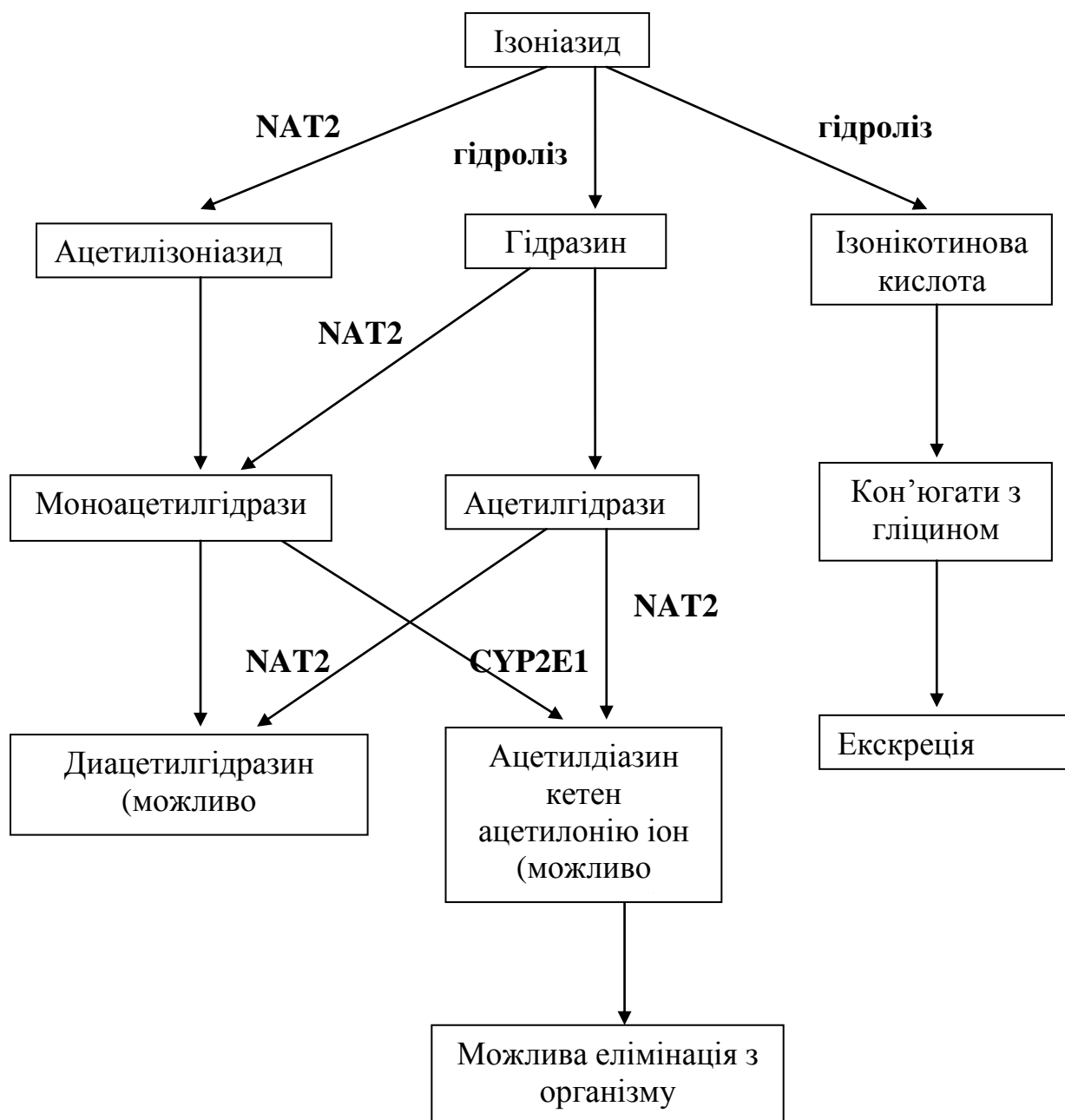


Рис. 8.2. Гіпотетичний цикл метаболізму ізоніазиду (згідно Geetha Ramachandran, Soumya Swaminathan, 2012 [126]).

Причому токсичні ефекти ізоніазиду пов'язують з утворенням токсичних метаболітів – ацетилгідразину [364], гідразину і гідразонів [365]. Тому зрозуміло, що у «швидких ацетиляторів» згідно генотипу *NAT2* біотрансформація ізоніазиду йде з утворенням ацетилізоніазиду, що є менш токсичним, і супроводжується меншим ризиком побічних ефектів ізоніазиду.

Припускають, що рифампіцин може індукувати гідроліз ізоніазиду, що збільшує утворення токсичних метаболітів гідразину і ацетилгідразину і відповідно посилювати гепатотоксичну дію ізоніазиду [126].

Контраверсійною є і участь цитохрому CYP2E1 в метаболізмі і розвитку гепатотоксичності ізоніазиду. Згідно одних даних, наявність диких алелів гена *CYP2E1* збільшує ризик гепатотоксичності протитуберкульозних препаратів [366], згідно інших наявність саме варіантних алелів збільшує ризик ураження печінки [367]. Відомо, що цитохрому CYP2E1 приймає участь в утворенні перекису водню, і вільнорадикальних пероксидів і гідроксилів, що викликає пошкодження органів і, перш за все, печінки [18]. Також згідно рис. 8.2 CYP2E1 приймає участь в утворенні токсичного метаболіту ізоніазиду. Тому цілком логічно, що згідно даної роботи наявність генотипу *CYP2E1*DD* (наявність диких алелів) асоціюється у хворих на ТБ з більш високим ризиком розвитком гепатотоксичності, ніж при наявності варіантних генотипів - **CD*, **CC*.

Також на матеріалах досліджень даної роботи показано, що генотипи *CYP2C9*2/*3* і **3/*3* асоціюється з вищим ризиком розвитку гепатотоксичності протитуберкульозних препаратів під час лікування. Важливо, що всі три генотипи – *NAT2* («повільний ацетилятор»), *CYP2E1*CD*, **CC* («повільний метаболізатор») і *CYP2C9*2/*3* і **3/*3* («повільний метаболізатори») асоціювались з високим рівнем протитуберкульозних препаратів, ніж при інших варіантах цих генотипів.

На початку лікування у хворих з різним вмістом рифампіцину не відзначалось розбіжностей щодо характеру і тяжкості туберкульозного процесу, тобто обидві групи на початку лікування були тотожними. Наприкінці стаціонарного лікування процеси розсмоктування, припинення деструкції, тощо також спостерігались однаково в обох групах. В той же час у хворих з високою концентрацією рифампіцину (ВКР) в 6,3 разу частіше припинялось бактеріовиділення згідно культурального методу, ніж у хворих з низькою концентрацією рифампіцину (НКР) (55,2 проти 8,7 %; $P < 0,05$). У хворих з ВКР

рівень ШОЕ і кількість лейкоцитів були на 24,8 і 19,0 % відповідно нижче ($P < 0,05$), ніж у пацієнтів з НКР. Представлені дані засвідчили, що у хворих з ВКР вдавалось досягти більш успішного лікування, головним чином за даними лабораторних досліджень, ніж у пацієнтів з НКР. Більш значне зниження рівня лейкоцитів у хворих з ВКР, ніж у хворих з НКР, також може підтверджувати таку побічну дію рифампіцину, як пригнічення кровотворення [327].

Хворі на ТБ з ВКР при завершенні стаціонарного лікування мали вищу концентрація білірубіну, показник тимолової проби, активність ГГТ – на 30,9 % ($P < 0,05$), на 75,0 % ($P < 0,001$) і на 13,8 % ($P < 0,05$), ніж хворі з НКР. Зменшення концентрації рифампіцину протягом доби після введення асоціювалось з певним зменшенням вмісту ДК і зростанням активності ферменту каталази, а також антиоксидантного індексу. Також було відзначена пряма кореляція між концентрацією рифампіцину в крові і AUC у хворих, з одного боку, і рівнем ДК, з другого боку, а також обернена кореляція з активністю каталази і антиоксидантним індексом через 6 год після застосування рифампіцину. Швидкість елімінації рифампіцину, яка виражалась через період напіввиведення в інтервалі 4-6 год після введення, була у прямій кореляційній залежності з вмістом ДК і оберненій кореляційній залежності з активністю каталази і рівнем антиоксидантного індексу. Це свідчить про підвищений ризик розвитку гепатотоксичності у хворих з більшим рівнем рифампіцину.

Щодо генетичного поліморфізму, пов'язаного з фармакологією рифампіцину, в літературі обговорюється здатність рифампіцину індукувати ферменти CYP [50,192] і значення поліморфізму генів транспортних білків – P-глікопротеїну, аніон транспортного поліпептиду (*SLCO1B1*) [368,369]. Згідно отриманих даних, рифампіцин виявляв прямий дозо-залежний терапевтичний і гепатотоксичний ефекти. Метаболізм рифампіцину уповільнювався у хворих з генотипами *CYP2C9**2/*3 і *3/*3, що супроводжувалось збільшенням ризику ураження печінки у хворих на ТБ.

8.4. Медикаментозна резистентність *M.tuberculosis* і фактори, що впливають на неї

В період 2000-2006 рр. в Одеському регіоні спостерігалось збільшення частки хіміорезистентних штамів МБТ з наступним зниженням у 2012 р. Причому показники медикаментозної резистентності МБТ до найбільш ефективних протитуберкульозних препаратів у 2012 р. наблизились до рівня 2000-2002 рр. Водночас рівень первинної мультирезистентності штамів МБТ практично не змінився – в 2006 р. – 22,2 %, в 2012 – 21,2 %. Кількість хворих з первинною мультирезистентністю МБТ сягала в 2010 р. 7-25 % хворих у різних регіонах в Україні [58], отже наведені результати свідчать про досить високий рівень медикаментозної резистентності в Одеському регіоні при порівнянні з загальноукраїнськими даними. Згідно ВООЗ, загрозливим є рівень первинної мультирезистентності МБТ понад 5 % [10]. Тому, в Україні і зокрема в Одеському регіоні зберігається дуже небезпечна ситуацію з поширеністю мультирезистентних штамів МБТ.

Одним з шляхів зменшення поширеності мультирезистентних штамів МБТ є своєчасна їх виявлення, що можливо із застосуванням сучасних технологій, зокрема ПЛР. Цей метод спрямований на виявлення мутацій в гені МБТ, що асоціюються з фенотипічною (за даними посіву на поживному середовищі) медикаментозною резистентністю. Резистентність МБТ до ізоніазиду викликається мутаціями в генах *katG* і *inhA* [234]. Ізольоване визначенні мутації в кодоні 315 гена *katG* виявило, що серед культур з фенотипічною резистентністю до ізоніазиду 85,3 % мали мутацію в кодоні 315 гена *katG*; серед культур МБТ, що були ізоніазид-чутливі, 90,0 % не мали мутації, що досліджувалась. Серед ДНК-ізолятів МБТ, що мали мутацію в гені *katG*, 80,1% були фенотипічно резистентними до ізоніазиду, а серед ДНК-ізолятів, що не мали мутації, 92,6% були чутливими до дії ізоніазиду. Отже, специфічність ізольованого методу визначення резистентності до ізоніазиду шляхом виявлення мутації в кодоні 315 гена *katG* склала 80,1 %, чутливість –

85,3%. Згідно літературних даних, додавання секвенування гена *katG* збільшує інформативність визначення ізоніазид-резистентності з 84 до 96 % [213], але це потребує додаткового дорого обладнання. Специфічність визначення резистентності до ізоніазиду за допомогою детекції мутації в гені *inhA* становила 71,4 %, чутливість – 58,8 %. Зниження інформативності визначення мутації в гені *inhA* можливо пов'язано з наявністю «мовчазних» мутацій, які фенотипічно себе не виявляють, а також домінування саме мутацій в гені *katG* серед причини ізоніазид-резистентності. В даній роботі було запропоновано поєднане визначення мутацій в обох генах - *katG* і гені *inhA*. У визначенні медикаментозної резистентності збудника туберкульозу до ізоніазиду найбільшу чутливість мала детекція в гені *katG* і/або гені *inhA* (100 %), специфічність – близько 70,8 %. Отже, всі ДНК-ізоляти культур МБТ, що були фенотипічно ізоніазид-резистентними, мали щонайменше одну або обидві мутації, що досліджувались. Водночас лише 70,8% ізолятів культур, що мали одну або обидві мутації, були фенотипічно ізоніазид-резистентними, що можливо пов'язано з «мовчазними» мутаціями, або, можливо з тим, що фенотипічна ізоніазид-резистентність з'являється пізніше від появи мутації.

Специфічність методу визначення резистентності до рифампіцину шляхом виявлення мутації в гені *rpoB* склала 87,0 %, чутливість – 90,2 %. Неповне виявлення рифампіцин-резистентності пов'язано з тим, що в даній методиці вивчається лише три локуса – 516, 526, 531. Як в 2006 р., так і в 2012 р. більшість мутацій в гені *rpoB* складала заміни в кодоні 531 (81,3 і 73,9 % відповідно). Виявлення 11 одиночних нуклеотидних поліморфізмів в гені *rpoB* має чутливість близько 98% для визначення рифампіцину-резистентності [249]. Для проведення такого аналізу потрібне якісно інший метод – секвенатор, який вимагає потребує значних фінансових витрат. Згідно попередніх даних отриманих в 2006 році серед ДНК-ізолятів культур МБТ мутації в гені *rpoB* і *katG* були виявлені в 44,9 і 54,2 % відповідно, згідно даних 2012 р. – в 22,1 і 34,6 % відповідно. Треба враховувати, що в 2006 р. більша частина культур МБТ була отримана від хворих з хронічним або рецидивуючим ТБ легень,

водночас в 2012 р. культури були отримані від хворих, у яких вперше діагностовано ТБ т і знаходяться на лікуванні до 2-х місяців. Отже, потрібне подальше вдосконалення методів виявлення медикаментозної резистентності, а також аналіз зміни поширеності медикаментозної резистентності у динаміці.

Мультирезистентний ТБ, головним чином, розвивався у хворих з більш виразними ознаками інтоксикації і запалення – двобічним ураженням легень, більшим поширенням процесів деструкції і розпаду легеневої тканини, наявності бактеріовиділення, вищим лейкоцитоз і рівнем ДК, у порівнянні з хворими, у яких мультирезистентний ТБ не розвинувся ($P < 0,05$). Наявність мультирезистентних штамів МБТ у хворих на ТБ легень збільшувало тривалість стаціонарного лікування, сприяло збереженню процесів розпаду і деструкції легеневої тканини, бактеріовиділення; уповільнювало і зменшувало ймовірність припинення бактеріовиділення, збільшувало рівень лейкоцитів, ШОЕ, тимолової проби відносно хворих, які виділяли немультрезистентні штами МБТ ($P < 0,05$). Водночас, у хворих без мультирезистентного ТБ були більш високими маркери цитолізу і гепатотоксичності – АлАТ, АсАТ і ГГТ, ніж при наявності мультирезистентних МБТ, що свідчить про більший ризик ураження печінки в першій групі, можливо у зв'язку з більшою концентрацією протитуберкульозних препаратів в крові під час лікування. Серед можливих факторів розвитку медикаментозної резистентності (набутої або вторинної) і переходу хворих до 4-ої категорії (мультирезистентний ТБ) є родинна приналежність штамів МБТ, низька концентрація протитуберкульозних препаратів, генетичні особливості самих хворих на ТБ тощо.

Досить поширеною є мультирезистентність серед штамів МБТ, що представляють родину *Beijing*. У 2012 році в Одеському регіоні 54,8 % виділених культур належали до родини *Beijing*. У 2006 і 2003 році поширеність штамів даної родини складала 43,0 і 39,6 %. Тобто спостерігається подальше поширення штамів родини *Beijing*, що характеризується несприятливим перебігом захворювання і високою медикаментозною резистентністю. У ізолятів родини *Beijing* мутації в гені *katG* і/або в гені *inhA* спостерігались в 2,2 і

3,0 рази відповідно частіше ($P < 0,05$), ніж у штамів групи non-Beijing. У ізолятів родини *Beijing* мутації в гені *rpoB* спостерігались в 5,9 разу частіше, ніж у штамів групи non-Beijing ($P < 0,05$). Штами родини *Beijing* в 3,7 разу частіше мали фенотипічну мультирезистентність, ніж штамми групи non-Beijing ($P < 0,05$).

Крім представників родини *Beijing* в Одеському регіоні в 2012 р. також виявлялись штамми різних Євро-Американських груп - *Cameroon*, *LAM*, *Haarlem*, *URAL*. В 2006 році дослідження в Одеському регіоні виявили поширеність майже тих самих груп кластерів. Генотипування штамів МБТ, що відбулось за 6-ма локусами, виявило свою ефективність та інформативність. Поліморфізм деяких локусів *M.tuberculosis*, що досліджувались, в 2012 році знизився порівняно з 2006 роком, що свідчить про посилення домінування певних кластерів збудника туберкульозу.

Встановлено, що поліморфізм генів *CYP2C19* і *CYP2E1* не впливав на появу мультирезистентних штамів МБТ. Щодо поліморфізму гена *CYP2C9* слід відзначити, що мультирезистентний ТБ виникав у 22,4 % хворих з генотипом $*1/*1$; у 13,6 % - з генотипами $*1/*2$ і $*1/*3$ і зовсім не виникав у хворих з генотипами $*2/*3$, $*3/*3$ ($P > 0,05$) (рис. 8.3). Важливо, саме у хворих останньої групи спостерігалась найвища концентрація ізоніазиду і рифампіцину ($P < 0,05$) відносно інших генотипів *CYP2C9*.

Згідно генотипу *NAT2* при завершенні лікування ША в 3,5 рази частіше відносились до 4-ої категорії і мали мультирезистентну форму ТБ, ніж ПА (33,3 проти 9,4 %; $P < 0,05$). Причому поліморфізм *NAT2* мав значення саме для фармакокінетики ізоніазиду ($P < 0,05$) і не мав вірогідного значення для вмісту рифампіцину в крові - у ША відзначалась нижча концентрація ізоніазиду, ніж у ПА. Припущення щодо значення фармакокінетики протитуберкульозних препаратів для виникнення медикаментозної резистентності було перевірено далі.

Наприкінці стаціонарного лікування хворих з низкою концентрацією ізоніазиду (НКІ) в 3,1 разу частіше належали до 4-ої категорії, ніж хворі з високою концентрацією ізоніазиду (ВКІ) (28,6 проти 9,1 %). На момент

завершення стаціонарного лікування розвиток мультирезистентного ТБ спостерігався однаково часто серед хворих з високою і низькою концентрацією рифампіцину. Отже, саме вміст ізоніазиду і поліморфізм генів *NAT2* і *CYP2C9* визначали розвиток мультирезистентності у штамів МБТ (рис. 8.3).

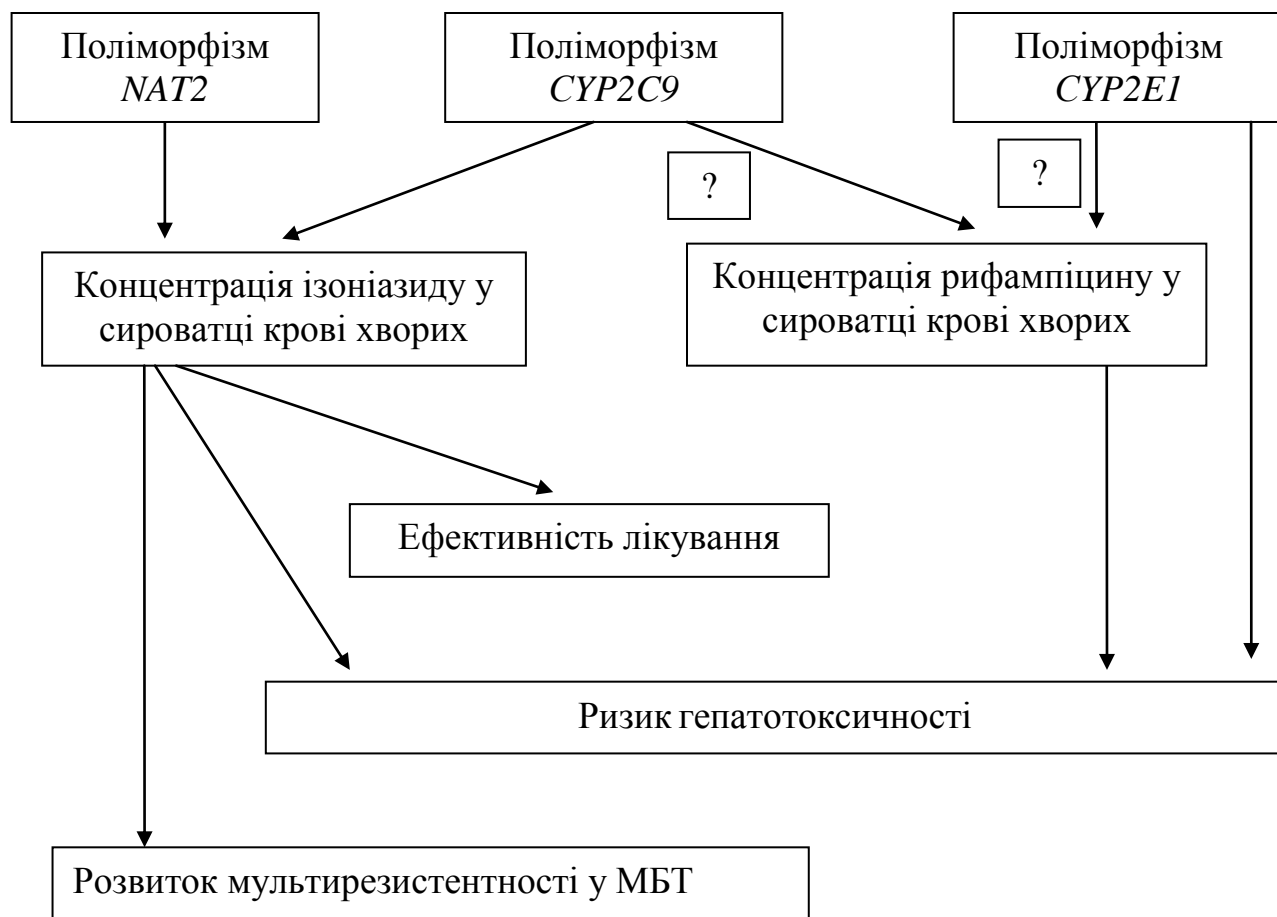


Рис. 8.3 Зв'язок між фармакогенетикою хворих на ТБ, фармакокінетикою протитуберкульозних препаратів, ефективністю і токсичністю лікування

? – механізм впливу поліморфізму *CYP2C9* і *CYP2E1* на концентрацію рифампіцину, на теперішній момент, пояснити не можливо

Отже, в результаті проведеної роботи встановлено нові закономірності ефективності і токсичності протитуберкульозної терапії, вплив на лікування фармакогенетичних особливостей процесів біотрансформації ліків у людини і фармакокінетики протитуберкульозних препаратів, що може бути застосовано для поліпшення ефективності і безпечності протитуберкульозного лікування.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено нове вирішення актуальної проблеми клінічної фармакології – встановлення зв'язку між особливостями поліморфізму генів детоксикації ксенобіотиків у хворих і фармакокінетикою найбільш поширених (I ряд) протитуберкульозних препаратів з ефективністю і безпечністю лікування, а також розвитком медикаментозної резистентності у штамів збудника туберкульозу, що дозволяє індивідуалізувати та оптимізувати фармакотерапію хворих на туберкульоз легень, покращити результати лікування. Обґрунтовано та впроваджено експрес-метод визначення мутацій в генотипі збудника туберкульозу, отриманого з мокротиння хворих, що призводять до медикаментозної резистентності, і метод визначення рівня рифампіцину в крові хворих під час лікування туберкульозу.

1. Серед здорових добровольців в Одеському регіоні згідно генотипу *CYP2C19*, *CYP2C9* і *CYP2E1* кількість осіб, що відзначаються швидким метаболізмом ксенобіотиків («швидкі метаболізатори»), становила 79,5, 76,2 і 82,0 % відповідно, згідно генотипу *NAT-2* кількість осіб, які характеризуються швидкою реакцією ацетилювання препаратів («швидкі ацетилятори»), – 45,9 %. Отримані результати засвідчили генетичну спорідненість дослідженого регіону України за поліморфізмом генів, що вивчались, з європейськими країнами. Поширеність «швидких метаболізаторів і ацетиляторів» серед хворих на туберкульоз легень становила 69,8, 67,4, 89,0 і 38,4 % відповідно.

2. Доведено, що поліморфізм генів *CYP2C9*, *CYP2E1* і *NAT2* у хворих на туберкульоз легень асоціювався з відмінностями у концентрації протитуберкульозних препаратів в крові. Згідно генотипу *CYP2C9* у «повільних метаболізаторів» через 4 год після введення концентрація рифампіцину була на 25,1 і 22,2 % відповідно більшою ($P < 0,05$), ніж у «помірних» і «швидких метаболізаторів» відповідно; через 6 год концентрація ізоніазиду була на 68,8 % вище, ніж у «помірних метаболізаторів» ($P < 0,05$). Відповідно до генотипу *CYP2E1* у «швидких метаболізаторів» концентрація рифампіцину через 6 год

після введення була на 17,6 % нижче, ніж у «повільних метаболізаторів» ($P < 0,05$). Згідно генотипу *NAT2* у «повільних ацетиляторів» спостерігалась більша концентрація ізоніазиду в крові через 4 і 6 год після прийому препарату на 20,6 і 38,0 % ($P < 0,05$) відповідно, ніж у «швидких ацетиляторів».

3. Показано, що поліморфізм генів *CYP2C9* і *NAT2* у хворих на туберкульоз легень був пов'язаний з відмінностями в ефективності стаціонарного лікування туберкульозу. Наприкінці стаціонарного лікування процеси розсмоктування інфільтрату і відсутність туберкульозної деструкції спостерігались у 100 % «повільних метаболізаторів», згідно генотипу *CYP2C9*, у «помірних і швидких метаболізаторів» - в 91,0 і 82,8 % відповідно. Під час стаціонарного лікування у «повільних ацетиляторів», згідно генотипу *NAT2*, в 1,3 разу швидше припинялась деструкція легень ($P < 0,05$) і в 1,2 разу – бактеріовиділення ($P < 0,05$), за даними посіву, відносно «швидких ацетиляторів».

4. Як на початку, так і при завершенні стаціонарного лікування активність гамма-глутамілтрансферази у «повільних метаболізаторів», згідно генотипу *CYP2C9*, була на 38,8 і 53,8 % відповідно більша ($P < 0,05$), ніж у «помірних метаболізаторів». При завершенні стаціонарного лікування, згідно генотипу *CYP2E1*, у «швидких метаболізаторів» активність АсАТ і АлАТ була вищою, ніж у хворих з генотипами «повільних метаболізаторів», на 49,5 і 23,9 % відповідно ($P < 0,05$). На момент виписки у «повільних ацетиляторів», згідно генотипу *NAT2*, активність АлАТ і АсАТ була на 23,2 і 26,4 % вище ($P < 0,05$), ніж у «швидких ацетиляторів».

5. Застосування ізоніазиду перорально дозою 4-6 мкг/кг на добу забезпечувало терапевтичну концентрацію препарату приблизно у 80 % хворих у перші 4 год після прийому; через добу вже понад 90% хворих мали субтерапевтичну концентрацію ізоніазиду в крові. Пероральний прийом рифампіцину з розрахунку 8-12 мг/кг забезпечував терапевтичну концентрацію у понад 90 % хворих протягом перших 6 год, наприкінці доби після введення

субтерапевтична концентрація рифампіцину реєструвалась приблизно у 67 % хворих.

6. У хворих з високою концентрацією ізоніазиду ($>2,00$ мкг/мл через 4 год після прийому) регресія процесів деструкції відбувалась у 1,6 разу частіше ($P<0,05$; $\chi^2=3,89$), процеси розсмоктування інфільтративних змін - в 1,3 разу ($P<0,05$; $\chi^2=10,24$), припинення бактеріовиділення - в 3,1 разу частіше ($P<0,05$; $\chi^2=5,53$), ніж у хворих з низькою концентрацією ізоніазиду. Серед хворих з концентрацією рифампіцину вище від 10,20 мкг/мл кількість осіб, які припиняли бактеріовиділення, згідно посіву, була в 2,8 разу більша, ніж серед хворих з низькою концентрацією рифампіцину (48,3 проти 17,4 %; $P<0,05$; $\chi^2=5,41$).

7. Доведено значення концентрації ізоніазиду і рифампіцину в крові у хворих на туберкульоз легень для розвитку токсичних ефектів протитуберкульозних препаратів. На момент завершення стаціонарного лікування рівень загального білірубіну у пацієнтів з низькою концентрацією ізоніазиду був на 13,4 % меншим ($P<0,05$), ніж в групі з високою концентрацією ізоніазиду. Спостерігалась вірогідна позитивна кореляція між концентрацією ізоніазиду на початку лікування і рівнем білірубіну, тимолової проби і активністю АсАТ при завершенні лікування. У хворих з високою концентрацією рифампіцину, при завершенні стаціонарного лікування, рівень білірубіну, тимолової проби, активність гамма-глутамілтрансферази були вище на 30,9, 75,0 і 13,8 % ($P\leq 0,05$), ніж у хворих з низькою концентрацією рифампіцину.

8. У хворих з генотипом «швидких ацетиляторів», згідно генотипу *NAT2*, при завершенні стаціонарного лікування, в 3,5 рази частіше визначалась мультирезистентна форма туберкульозу, ніж у хворих з генотипом «повільних ацетиляторів» (33,3 проти 9,4 %; $P<0,05$; $\chi^2=7,67$); у всіх штамів збудника туберкульозу, виділених від «повільних метаболізаторів», згідно генотипу *CYP2C9*, зберігалась чутливість до ізоніазиду і/або рифампіцину, водночас у 22,4 % штамів, виділених від хворих з генотипом «швидких метаболізаторів»,

виникла мультирезистентність. У хворих з низькою концентрацією ізоніазиду (<2,00 мкг/мл через 4 год після прийому препарату) в 3,1 разу частіше виникала мультирезистентна форма туберкульозу, ніж хворих з високою концентрацією ізоніазиду (>2,00 мкг/мл) (28,6 проти 9,1 %; $P<0,05$; $\chi^2=5,38$). Штами збудника туберкульозу, що належали до родини *Beijing*, в 3,7 разу частіше мали фенотипічну мультирезистентність, ніж штами non-*Beijing* ($P<0,05$; $\chi^2=8,22$).

9. Мультирезистентний туберкульоз частіше виникав у хворих з двобічним ураженням легень, наявністю процесів деструкції легеневої тканини і бактеріовиділенням. Наявність мультирезистентних штамів збудника туберкульозу збільшувала тривалість стаціонарного лікування хворих на 87,6 % ($P<0,05$), підвищувала ймовірність збереження процесів деструкції в 3,7 разу ($P<0,05$; $\chi^2=14,07$), відносно хворих, що не виділяли мультирезистентні штами. Водночас, у хворих, у яких зберігалась чутливість до ізоніазиду і/або рифампіцину, активність маркерів цитолізу – АлАТ, АсАТ і гамма-глутамілтрансферази була більше на 79,1, 30,0 і 45,3 % відповідно ($P<0,05$), ніж при наявності мультирезистентних штамів *M.tuberculosis*, що свідчить про значний ризик ураження печінки у цієї групи у зв'язку з високою концентрацією протитуберкульозних препаратів.

10. За період 2006-2012 рр. в Одеському регіоні поширеність первинної мультирезистентності серед штамів *M.tuberculosis* практично не змінилась і становила 22,2 % в 2006 р. і 21,2 % в 2012 р. Запропоноване визначення мутацій в генах - *katG* і *inhA* у збудника туберкульозу забезпечувало 100 % чутливість виявлення ізоніазид-резистентності і 70,8 % його специфічності. Чутливість методу визначення резистентності до рифампіцину шляхом вивчення гена *rpoB* склала 87,0 %, а специфічність – 90,2 %. Розроблені та впроваджені молекулярно-генетичні методи визначення резистентності штамів *M.tuberculosis* до протитуберкульозних препаратів (ізоніазиду, рифампіцину) запропоновано як експрес-методи, що скорочують час дослідження від кількох тижнів до кількох годин.

11. Встановлено, що визначення поліморфізму генів *NAT2*, *CYP2C9* і вмісту ізоніазиду в крові у хворих на туберкульоз має прогностичне значення для визначення ефективності і безпечності фармакотерапії, а також виникнення мультирезистентних штамів *M.tuberculosis*. Визначення генотипу *CYP2E1* у хворих на туберкульоз дозволяє виявити групу ризику щодо токсичного ураження печінки і, таким чином, підвищити безпечність лікування.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

На основі встановлених у дослідженні фактів пропонується для впровадження в практику протитуберкульозних закладів, науково-дослідних інститутів наступне:

Скринінгове дослідження генотипу *NAT2* хворих на туберкульоз легень дозволяє визначити групи пацієнтів з генотипом «швидких ацетиляторів», яка характеризується меншою ефективністю лікування і більшим ризиком появи мультирезистентних штамів МБТ, що обумовлює необхідність індивідуального підбору дози ізоніазиду згідно генотипу *NAT2*.

1. На початку протитуберкульозної хіміотерапії доцільно визначати серед хворих на туберкульоз легень осіб з генотипом «повільних ацетиляторів» гена *NAT2*, «повільних метаболізаторів» гена *CYP2C9*, «швидких метаболізаторів» гена *CYP2E1*, що дозволить виділити групу пацієнтів з високим ризиком розвитку небажаних реакцій, зокрема гепатотоксичості, які вимагають ретельного моніторингу функції печінки та її фармакологічної корекції.

2. Вимірювання концентрації ізоніазиду в крові хворих на туберкульоз легень під час хіміотерапії дозволяє виділити групу осіб з низькою концентрацією препарату (<2,00 мкг/мл через 4 год після прийому), яка характеризується несприятливим перебігом захворювання, високим ризиком мультирезистентності збудника туберкульозу і потребує підвищення дози ізоніазиду.

3. Підтвердження відсутності мутацій в генах *katG* і *inhA* у штамів *M.tuberculosis*, виділених від хворих на туберкульоз легень, за допомогою полімеразної ланцюгової реакції у 100 % супроводжується фенотипічною чутливістю *M.tuberculosis* до ізоніазиду, що дозволяє обґрунтовано призначати ізо-ніазид в складі стандартної хіміотерапії ще до отримання результатів культурального методу визначення медикаментозної чутливості.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Heller F. Genetics/genomics and drug effects / F. Heller // *Acta Clin. Belg.* – 2013. – Vol. 68, N 2. – P. 77-80.
2. Mirghani R. A. Distribution of the major cytochrome P450 (CYP) 2C9 genetic variants in a Saudi population / R. A. Mirghani, G. Chowdhary, G. Elghazali // *Clin. Pharmacol. Toxicol.* – 2011. – Vol. 109, N 2. – P. 111-114.
3. Sim E. Arylamine N-acetyltransferases: from drug metabolism and pharmacogenetics to drug discovery / E. Sim, A. Abuhammad, A. Ryan // *Br. J. Pharmacol.* – 2014. – Vol. 171, N 11. – P. 2705-2725.
4. Genetic variants in CYP (-1A2, -2C9, -2C19, -3A4 and -3A5), VKORC1 and ABCB1 genes in a black South African population: a window into diversity / C. Dandara, Z. Lombard, I. Du Plooy, T. McLellan [et al.] // *Pharmacogenomics.* – 2011. – Vol. 12, N 12. – P. 1663-1670.
5. Білогорцева О. І. Епідеміологічна ситуація щодо туберкульозу у дітей та показники протитуберкульозної роботи серед дитячого населення в Україні у 2012 р. / О. І. Білогорцева // *Український пульмонологічний журнал.* – 2013. - № 3 (додаток). – С. 66-70.
6. Епідеміологічні та організаційні аспекти надання інтегрованої медичної допомоги хворим на ВІЛ/СНІД, туберкульоз, інфекційний гепатит та наркотичну залежність в Україні / Ю. І. Фещенко, А. М. Вієвський, В. М. Мельник, Л. В. Турченко [та ін.] // *Український пульмонологічний журнал.* – 2013. - № 3 (додаток). – С. 34-46.
7. Петренко В. І. Сучасний погляд на проблему поєднаної потрійної інфекції: туберкульозу, ВІЛ/СНІДу, гепатитів В і С / В. І. Петренко // *Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція.* – 2012. - № 4 (11). – С. 5-12.
8. Improving outcomes for multidrug-resistant tuberculosis: aggressive regimens prevent treatment failure and death / G. E. Velásquez, M. C. Becerra, I. Y. Gelmanova, A. D. Pasechnikov [et al.] // *Clin. Infect. Dis.* – 2014. - May 7. [Epub ahead of print]

9. Ковальова Г. Г. Актуальні питання та практичні підходи до підвищення ефективності Загальнодержавної програми протидії захворюванню на туберкульоз в Україні / Г. Г. Ковальова // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – 2013. - № 4 (15). – С. 14-23.
10. Фещенко Ю. І. Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) та третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги «Туберкульоз»: особливості його підготовки та чим відрізняється від попередніх клінічних протоколів / Ю. І. Фещенко, С. О. Черенько, А. І. Барбова // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – 2013. - № 2 (13). – С. 8-18.
11. Фещенко Ю. І. Туберкульоз із розширеною резистентністю: епідеміологічні аспекти проблеми діагностики і лікування / Ю. І. Фещенко, С. О. Черенько, А. І. Барбова // Український пульмонологічний журнал. – 2013. - № 3 (додаток). – С. 31-33.
12. Use of drug-susceptibility testing for management of drug-resistant tuberculosis, Thailand, 2004-2008 / E. Lam, S. Nateniyom, S. Whitehead, A. Anuwatnonthakate [et al.] // Emerg. Infect. Dis. – 2014. – Vol. 20, N 3. – P. 400-408.
13. Low serum concentrations of anti-tuberculosis drugs and determinants of their serum levels / S. W. Um, S. W. Lee, S. Y. Kwon, H. I. Yoon [et al.] // Int. J. Tuberc. Lung Dis. – 2007. – Vol. 11, N 9. – P. 972-978.
14. Наказ МОЗ України №318 від 24.05.2006 «Про затвердження Проколу по впровадженню ДОТС-стратегії в Україні»: зб. нормат. док. з охорони здоров'я. / складена Ю. І. Фещенко, С. О. Черенько, В. М. Мельник // Київ, 2006. – 49 с. (Нормативні директивні правові документи).
15. Singh N. Study of NAT2 gene polymorphisms in an Indian population: association with plasma isoniazid concentration in a cohort of tuberculosis patients / N. Singh, S. Dubey, S. Chinnaraj, A. Golani, A. Maitra // Mol. Diagn. Ther. – 2009. – Vol. 13, N 1. – P. 49-58.

16. Matsumoto T. Future of pharmacogenetics-based therapy for tuberculosis / T. Matsumoto, M. Ohno, J. Azuma // *Pharmacogenomics*. – 2014. – Vol. 15, N 5. – P. 601-607.
17. Determinants of rifampin, isoniazid, pyrazinamide, and ethambutol pharmacokinetics in a cohort of tuberculosis patients / Helen McIlleron, Peter Wash, Andre Burger, Jennifer Norman [et al.] // *Antimicrobial agents and chemotherapy*. – 2006. – Vol. 50, N 4. - P. 1170–1177.
18. Прикладне значення генотипування / Ю. С. Рудик, С. М. Пивовар, А. С. Попович, В. В. Ніколаєва // *Клінічна фармація*. — 2012. — Т. 16, №4. – С. 4-10.
19. Polymorphic cytochrome P450 enzymes (CYPs) and their role in personalized therapy / S. C. Preissner, M. F. Hoffmann, R. Preissner, M. Dunkel [et al.] // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8, N 12 : e82562. doi: 10.1371/journal.pone.0082562. eCollection 2013.
20. Quantitative prediction of the impact of drug interactions and genetic polymorphisms on cytochrome P450 2C9 substrate exposure / A. C. Castellan, M. Tod, F. Gueyffier, M. Audars [et al.] // *Clin. Pharmacokinet*. – 2013. - Vol. 52, N 3. – P. 199-209.
21. Role of CYP2C9 polymorphism in phenytoin-related metabolic abnormalities and subclinical atherosclerosis in young adult epileptic patients / K. Phabphal, A. Geater, K. Limapichart, P. Sathirapanya, A. Setthawatcharawanich // *Seizure*. – 2013. – Vol. 22, N 2. – P. 103-108.
22. Functional polymorphisms in CYP2C19 & CYP3A5 genes associated with decreased susceptibility for pediatric tuberculosis / W. X. Feng, F. Liu, Y. Gu, W. W. Jiao [et al.] // *Indian J. Med. Res*. – 2012. – Vol. 135, N 5. – P. 642-649.
23. Association of *CYP2C19**2 and *3 genetic variants with essential hypertension in Koreans / Dong-Jik Shin, Jisun Kwon, Ah-Ram Park, Yousun Bae [et al.] // *Yonsei Med J*. – 2012. – Vol. 53, N 6. – P. 1113–1119.
24. Cytochrome P450 and myocardial ischemia: potential pharmacological implication for cardioprotection / C. Barau, B. Ghaleh, A. Berdeaux, D. Morin

- // *Fundam. Clin. Pharmacol.* – 2014. - Jul 3. doi: 10.1111/fcp.12087. [Epub ahead of print]
25. Association between cytochrome P450 2C9 gene polymorphisms and colorectal cancer susceptibility: evidence from 16 case-control studies / H. Wang, L. Ren, Y. He, Y. Wei [et al.] // *Tumour Biol.* – 2014. – Vol. 35, N 5. – P. 4317-4322.
 26. The association between CYP 2C9 polymorphism and bone health / K. Phabphal, A. Geater, K. Limapichat, P. Sathirapanya, S. Setthawatcharawanich, R. Leelawattana // *Seizure.* – 2013. – Vol. 22, N 9. – P. 766-771.
 27. Wu A. H. Drug metabolizing enzyme activities versus genetic variances for drug of clinical pharmacogenomic relevance / A. H. Wu // *Clin. Proteomics.* – 2011. – Vol. 8, N 1. – P. 12-16.
 28. Zanger U. M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation / U. M. Zanger, M. Schwab // *Pharmacol. Ther.* – 2013. – Vol. 138, N 1. – P. 103-141. (full text).
 29. Structure and dynamics of the membrane-bound cytochrome P450 2C9 / V. Cojocaru, K. Balali-Mood, M. S. Sansom, R. C. Wade // *PLoS Comput Biol.* – 2011. – Vol. 7, N 8 : e1002152. doi: 10.1371/journal.pcbi.1002152. Epub 2011 Aug 11.
 30. Cytochrome P450 2C19 polymorphism in Iranian patients with coronary artery disease / Arash Akhlaghi, Shahin Shirani, Naghmeh Ziaie, Omid Pirhaji [et al.] // *ARYA Atheroscler.* – 2011. – Fall. – Vol. 7, N 3. – P. 106–110.
 31. Genetic determinants of platelet response to clopidogrel / Aldona Kubica, Marek Kozinski, Grzegorz Grzesk, Tomasz Fabiszak [et al.] // *J. Thromb. Thrombolysis.* – 2011. – Vol. 32, N 4. – P. 459–466.
 32. Influence of paraoxonase-1 Q192R and cytochrome P450 2C19 polymorphisms on clopidogrel response / Rolf P Kreutz, Perry Nystrom, Yvonne Kreutz, Jia Miao [et al.] // *Clin. Pharmacol.* – 2012. – N 4. – P. 13–20.

33. Yan Z. In vitro identification of cytochrome P450 enzymes responsible for drug metabolism / Z. Yan, G. W. Caldwell // *Methods Mol. Biol.* – 2013. – Vol. 1015. – P. 251-261.
34. Insights on cytochrome p450 enzymes and inhibitors obtained through QSAR studies / J. Sridhar, J. Liu, M. Foroozesh, C. L. Stevens // *Molecules.* – 2012. – Vol. 17, N 8. – P. 9283-9305.
35. Prediction of cytochrome P450 xenobiotic metabolism: tethered docking and reactivity derived from ligand molecular orbital analysis / J. D. Tyzack, M. J. Williamson, R. Torella, R. C. Glen // *J. Chem. Inf. Model.* – 2013. – Vol. 53, N 6. – P. 1294-1305.
36. Фармакогенетичні перспективи дослідження поліморфізму цитохрому CYP3A4 з використанням біоінформаційних підходів / М. Ю. Сиволап, В. Й. Кресюн, Г. І. Сліщук // *Одеський медичний журнал.* – 2013. - № 4 (138). – С. 24-28.
37. Shin J. Clinical pharmacogenomics of warfarin and clopidogrel / J. Shin // *J. Pharm. Pract.* – 2012. – Vol. 25, N 4. – P. 428-438.
38. Contribution of VKORC1 and CYP2C9 polymorphisms in the interethnic variability of warfarin dose in Malaysian populations / G. G. Gan, M. E. Phipps, M. M. Lee, L. S. Lu [et al.] // *Ann Hematol.* – 2011. – Vol. 90, N 6. – P. 635-641.
39. Cytochrome P450 2C9 gene polymorphism in phenytoin induced gingival enlargement: A case report / S. P. Babu, V. Ramesh, A. Samidorai, N. S. Charles // *J. Pharm. Bioallied Sci.* – 2013. – Vol. 5, N 3. – P. 237-239.
40. Clinical pharmacokinetics of ketoprofen enantiomers in wild type of CYP2C8 and CYP2C9 patients with rheumatoid arthritis / F. Głównka, M. Karaźniewicz-Łada, E. Grześkowiak, D. Rogozinska, W. Romanowski // *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.* – 2011. – Vol. 36, N 3. – P. 167-173.
41. Mild hypoglycaemic attacks induced by sulphonylureas related to CYP2C9, CYP2C19 and CYP2C8 polymorphisms in routine clinical setting / O. Gökalp,

- A. Gunes, H. Cam, E. Cure [et al.] // *Eur. J. Clin. Pharmacol.* – 2011. – Vol. 67, N 12. – P. 1223-1229.
42. Saleh M. I. Dosage individualization of warfarin using artificial neural networks / M. I. Saleh, S. Alzubiedi // *Mol. Diagn. Ther.* – 2014. – Vol. 18, N 3. – P. 371-379.
43. Distal effect of amino acid substitutions in CYP2C9 polymorphic variants causes differences in interatomic interactions against (S)-warfarin / P. Lertkiatmongkol, A. Assawamakin, G. White, G. Chopra [et al.] // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8, N 9 : e74053. doi: 10.1371/journal.pone.0074053. eCollection 2013.
44. Validation of a proposed warfarin dosing algorithm based on the genetic make-up of Egyptian patients / S. M. Ekladious, M. S. Issac, S. A. El-Atty Sharaf, H. S. Abou-Youssef // *Mol. Diagn. Ther.* – 2013. – Vol. 17, N 6. – P. 381-390.
45. Prevalence of VKORC1 and CYP2C9 gene polymorphisms in Indian population and its effect on warfarin response / K. K. Shalia, S. M. Doshi, S. Parikh, P. P. Pawar [et al.] // *J. Assoc. Physicians India.* – 2012. – Vol. 60. – P. 34-38.
46. Impact of CYP2C19 variant genotypes on clinical efficacy of antiplatelet treatment with clopidogrel: systematic review and meta-analysis / Tim Bauer, Heleen J Bouman, Jochem W van Werkum, Neville F Ford [et al.] // *BMJ.* – 2011. – P. 343-346.
47. Yip V. L. Expanding role of pharmacogenomics in the management of cardiovascular disorders / V. L. Yip, M. Pirmohamed // *Am. J. Cardiovasc. Drugs.* – 2013. - Vol. 13, N 3. – P. 151-162.
48. Isoniazid bactericidal activity and resistance emergence: integrating pharmacodynamics and pharmacogenomics to predict efficacy in different ethnic populations / Tawanda Gumbo, Arnold Louie, Weiguo Liu, David Brown [et al.] // *Antimicrobial agents and chemotherapy.* – 2007. – Vol. 51, N 7. - P. 2329–2336.

49. Sugamori K. S. Liver-selective expression of human arylamine N-acetyltransferase NAT2 in transgenic mice / K. S. Sugamori, D. Brenneman, D. M. Grant // *Drug Metab. Dispos.* – 2011. – Vol. 39, N 5. – P. 882-890.
50. Кресюн В. И., Бажора Ю. И. Фармакогенетические основы взаимодействия организма и лекарств. – Одесса: Одес. гос. мед. ун-т, 2007. – 164 с.
51. Refinement of the prediction of N-acetyltransferase 2 (NAT2) phenotypes with respect to enzyme activity and urinary bladder cancer risk / S. Selinski, M. Blaszkewicz, K. Ickstadt, J. G. Hengstler, K. Golka // *Arch. Toxicol.* – 2013. - Vol. 87, N 12. – P. 2129-2139.
52. Пат. 50700 Україна, МПК (2006) А61В 17/00 Спосіб вибору варіанту холецистектомії у хворих зі спайковою хворобою черевної порожнини / Бойко В. В., Кулик А. О., Грома В. Г. (Україна). ; заявник і патентовласник Інститут загальної та невідкладної хірургії Академії медичних наук України. - № u200912077 ; заявл. 24.11.2009 ; опубл. 25.06.2010, Бюл. №12. – 4 с.
53. Пат. 54214 Україна, МПК (2006) А61В 10/00 Спосіб визначення схильності до пародонтиту в експерименті / Шнайдер С. А., Ульянов В. О. (Україна). ; заявник і патентовласник Одес. держ. мед. ун-т. - № u201007715 ; заявл. 21.06.2010 ; опубл. 25.10.2010, Бюл. №20. – 4 с.
54. Effect of NAT2 gene polymorphism on bladder cancer risk in Slovak population / L. Klimčáková, V. Habalová, M. Sivoňová, V. Nagy [et al.] // *Mol. Biol. Rep.* – 2011. – Vol. 38, N 2. – P. 1287-1293.
55. Singh N. Study of NAT2 gene polymorphisms in an Indian population: association with plasma isoniazid concentration in a cohort of tuberculosis patients / N. Singh, S. Dubey, S. Chinnaraj, A. Golani, A. Maitra // *Mol. Diagn. Ther.* – 2009. – Vol. 13, N 1. – P. 49-58.
56. Targeting dormant bacilli to fight tuberculosis / L. Fattorini, G. Piccaro, A. Mustazzolu, F. Giannoni // *Mediterr. J. Hematol. Infect. Dis.* – 2013. – Vol. 5, N 1 : e2013072. doi: 10.4084/MJHID.2013.072.

57. Білогорцева О. І. Епідеміологічна ситуація щодо туберкульозу у дітей та показники протитуберкульозної роботи серед дитячого населення в Україні у 2010 році / О. І. Білогорцева, Ю. І. Фещенко // Український пульмонологічний журнал. – 2011. - № 4. – С. 11-15.
58. Оцінка контролю за туберкульозом в Україні за період 2006-2010 роки / Ю. І. Фещенко, В. М. Мельник, В. Г. Матусевич, М. І. Линник [та ін.] // Український пульмонологічний журнал. – 2011. - № 4. – С. 5-10.
59. Асмолов О. К. Аналіз захворюваності на туберкульоз населення Одеської області за 2009—2011 рр. / О. К. Асмолов, О. Є. Шпота // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – 2013. - № 1 (12). – С. 72-74.
60. Turkkani M. H. Since little time remained to 2015; how far Turkey has achieved to reach the tuberculosis targets? / M. H. Turkkani, Z. Yildirim // *Tuberk. Toraks.* – 2014. – Vol. 62, N 2. – P. 160-164.
61. Trend of microbiologically-confirmed tuberculosis in a low-incidence setting with high immigration rates / G. Lombardi, P. Dal Monte, A. Denicolò, M. Tadolini [et al.] // *BMC Public Health.* – 2014. – Vol. 14. – P. 340-347.
62. Вівчар І. С. Захворюваність дітей та підлітків із осередків туберкульозної інфекції у Львівській області та її зв'язок із епідемічною ситуацією / І. С. Вівчар // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – 2013. – 2013. - № 4 (15). – С. 71-75.
63. Фещенко Ю. І. Контроль за туберкульозом в Україні на сучасному етапі / Ю. І. Фещенко, С. О. Черенько // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – 2010. - № 3. – С. 5-13.
64. Богатирьова Р. В. Проект стандарту «Стратегія інфекційного контролю за туберкульозом в лікувально-профілактичних закладах, місцях скупчення людей та проживання хворих на туберкульоз». – К., 2011. – С. 27, 34-36.
65. Оцінка контролю за туберкульозом в Україні за період 2006-2010 роки // Український пульмонологічний журнал. – 2011. - № 5. – С. 5-10.
66. Захворюваність на туберкульоз медичних працівників Вінницької області у 2007-2012 роках / О. П. Литвинюк, С. В. Зайков, М. А. Тхоровський, Н.

- М. Гончар // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – 2013. - № 3(2014). – С. 67-71.
67. Проблеми інтеграції програм для надання спеціалізованої медичної допомоги хворим на ВІЛ/СНІД-туберкульоз та наркотичну залежність / Ю. І. Фещенко, А. М. Вієвський, Л. В. Турченко, В. М. Мельник [та ін.] // Український пульмонологічний журнал. – 2011. - № 1. – С. 5-13.
68. Подвійна епідемія туберкульозу і ВІЛ-інфекції/СНІДу і діти, хворі на ко-інфекцію туберкульоз/ВІЛ, в Одеській області / Л. Г. Авербух, О. В. Кулініч, Г. В. Корса, О. О. Недужко, К. К. Рогач // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – 2013. - № 2 (13). – С. 66-79.
69. Вирусный гепатит в фтизиатрической практике. Л. А. Галицкий, Б. В. Зарецкий, А. И. Лебединец. [Электронный ресурс] Режим досту-пу : <http://medi.ru/doc/9590408.htm>.
70. Труднощі діагностики туберкульозу легень у хворих з хронічним гепатитом С на тлі противірусної терапії / Ю. І. Фещенко, О. А. Голубовська, М. Ч. Корчинський, М. М. Корчинська // Український пульмонологічний журнал. – 2013. – № 4. – С. 44-47.
71. Епідеміологічна ситуація щодо ВІЛ-інфекції та ВІЛ-асоційованого туберкульозу серед дітей та підлітків в Україні за період з 2006 по 2009 рік / О. І. Білогорцева, Н. В. Симоненкова, І. Л. Рубан, О. В. Стополянський [та ін.] // Український пульмонологічний журнал. – 2011. - № 4. – С. 11-15.
72. Чернушенко Е. Ф. Противотуберкулезный иммунитет (часть II) / Е. Ф. Чернушенко, Р. Г. Процюк // Український пульмонологічний журнал. – 2011. - № 1. – С. 29-32.
73. Shim T. S. Diagnosis and treatment of latent tuberculosis infection due to initiation of anti-TNF therapy / T. S. Shim // Tuberc. Respir. Dis. (Seoul). – 2014. – Vol. 76, N 6. – P. 261-268.

74. Outcome of latent tuberculosis infection in solid organ transplant recipients over a 10-year period / A. Sidhu, G. Verma, A. Humar, D. Kumar // *Transplantation*. – 2014. - May 12. [Epub ahead of print].
75. Tuberculosis in solid-organ transplant recipients: disease characteristics and outcomes in the current era / H. Y. Sun, P. Munoz, J. Torre-Cisneros, J. M. Aguado [et al.] // *Prog. Transplant*. – 2014. – Vol. 24, N 1. – P. 37-43.
76. Reactivation of tuberculosis during dual therapy with pegylated interferon and ribavirin for chronic hepatitis C [Text] / N. Belkahla, H. Kchir, N. Maamouri et al. // *Rev. Med. Interne*. — 2010. — Vol. 31. — P. 89–96.
77. Гематологічні та біохімічні розлади у хворих на ко-інфекцію туберкульоз/ВІЛ з різним станом імунітету/ О. В. Корж, О. А. Трунова, В. В. Мозговий, О. В. Павенко [та ін.] // *Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція*. – 2013. - № 1 (12). – С. 51-56.
78. Treatment outcome of new smear positive pulmonary tuberculosis patients in Penang, Malaysia / M. Atif, S. A. Sulaiman, A. A. Shafie, I. Ali [et al.] // *BMC Infect. Dis*. – 2014. – Vol. 14, N 1. – P. 399-405. [Epub ahead of print] (full text).
79. Factors associated with failure to complete isoniazid therapy for latent tuberculosis infection in children and adolescents / S. H. Chang, S. R. Eitzman, P. Nahid, M. L. Finelli // *J. Infect. Public Health*. – 2014. – Vol. 7, N 2. – P. 145-152.
80. Михайлова А. О. Вплив інформаційно-освітньої роботи на зменшення частоти дострокового припинення лікування хворими на вперше діагностований туберкульоз легень / А. О. Михайлова // *Український пульмонологічний журнал*. – 2012. - № 2. – С. 62-65.
81. Гриб О. Ю. Відмінності в причинах виникнення бактеріонегативних та бактеріопозитивних рецидивів туберкульозу легень / О. Ю. Гриб // *Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція*. – 2013. - № 1 (12). – С. 35-39.

82. Ahmad S. Current status and future trends in the diagnosis and treatment of drug-susceptible and multidrug-resistant tuberculosis / S. Ahmad, E. Mokaddas // *J. Infect. Public Health.* – 2014. – Vol. 7, N 2. – P. 75-91.
83. Hopewell P. C. Updating the international standards for tuberculosis care entering the era of molecular diagnostics / P. C. Hopewell, E. L. Fair, M. Uplekar // *Ann. Am. Thorac Soc.* – 2014. – Vol. 11, N 3. – P. 277-285.
84. Sloan D. J. Recent advances in tuberculosis: New drugs and treatment regimens / D. J. Sloan, G. R. Davies, S. H. Khoo // *Curr. Respir. Med. Rev.* – 2013. – Vol. 9, N 3. – P. 200-210.
85. Prescription patterns and treatment outcomes of MDR-TB patients treated within and outside the National Tuberculosis Programme in Pham Ngoc Thach hospital, Viet Nam / N. B. Hoa, P. H. Khanh, N. V. Chinh, C. M. Hennig // *Trop. Med. Int. Health.* – 2014. - Jul 4. doi: 10.1111/tmi.12347. [Epub ahead of print].
86. Оцінка результатів лікування хворих на вперше діагностований туберкульоз легень та з рецидивами захворювання за показниками когортного аналізу / В. М. Петренко, С. О. Черенько, Н. А. Литвиненко, Л. М. Циганкова [та ін.] // *Український пульмонологічний журнал.* – 2011. - № 3. – С. 5-10.
87. Рациональний вибір індивідуалізованих режимів хіміотерапії для хворих на мультирезистентний туберкульоз та туберкульоз із розширеною резистентністю МБТ до протитуберкульозних препаратів / Н. А. Литвиненко, С. О. Черенько, М. В. Погребна, Ю. О. Сенько [та ін.] // *Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція.* – 2013. - № 4 (15). – С. 46-54.
88. Оптимізація стандартного режиму хіміотерапії при лікуванні хворих на мультирезистентний туберкульоз легень / Л. Д. Тодоріко, І. В. Єременчук, В. О. Черноус, А. М. Грозав [та ін.] // *Український пульмонологічний журнал.* – 2012. - № 1. – С. 8-12.

89. Бялик И. Б. Результаты полихимиотерапии с использованием изониазида в повышенных дозах у больных мультирезистентным деструктивным туберкулезом легких с расширенной устойчивостью микобактерий туберкулеза / И. Б. Бялик // Туберкулез, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – 2013. - № 3(14). – С. 38-43.
90. Kimura H. Progress in management of severe tuberculosis or tuberculosis with severe complication / H. Kimura, K. Imaizumi // *Kekkaku*. – 2014. – Vol. 89, N 5. – P. 571-582.
91. Trieste L. Cost for tuberculosis care in developed countries: which data for an economic evaluation? / L. Trieste, G. Turchetti // *J. Rheumatol. Suppl.* – 2014. – Vol. 91. – P. 83-85.
92. Bocchino M. Current treatment options for latent tuberculosis infection / M. Bocchino, A. Matarese, A. Sanduzzi // *J. Rheumatol. Suppl.* – 2014. – Vol. 91. – P. 71-77.
93. Ability of preventive therapy to cure latent *Mycobacterium tuberculosis* infection in HIV-infected individuals in high-burden settings / R. M. Houben, T. Sumner, A. D. Grant, R. G. White // *Proc. Natl. Acad. Sci U S A.* – 2014. – Vol. 111, N 14. – P. 5325-5330.
94. Perceived barriers to the implementation of isoniazid preventive therapy for people living with HIV in resource constrained settings: a qualitative study / M. Mindachew, A. Deribew, P. Memiah, S. Biadgilign // *Pan Afr. Med. J.* – 2014. – Vol. 17. – P. 17-26.
95. Interventions to improve delivery of isoniazid preventive therapy: an overview of systematic reviews / L. V. Adams, E. A. Talbot, K. Odatu, H. Blunt, K. Steingart // *BMC Infect. Dis.* – 2014. – Vol. 14. – P. 281-285.
96. Binding of the antitubercular pro-drug isoniazid in the heme access channel of catalase-peroxidase (KatG). A combined structural and metadynamics investigation / P. Vidossich, P. C. Loewen, X. Carpena, G. Fiorin [et al.] // *J. Phys. Chem. B.* – 2014. – Vol. 118, N 11. – P. 2924-2931.

97. Interactions of isoniazid with membrane models: Implications for drug mechanism of action / M. Pinheiro, A. S. Silva, S. Pisco, S. Reis // *Chem. Phys. Lipids.* – 2014. – Jul. 9. pii: S0009-3084(14)00093-0. doi: 10.1016/j.chemphyslip.2014.07.002. [Epub ahead of print].
98. N-substituted 2-isonicotinoylhydrazinecarboxamides--new antimycobacterial active molecules / Z. Rychtarčíková, M. Krátký, M. Gazvoda, M. Komlóová [et al.] // *Molecules.* – 2014. – Vol. 19, N 4. – P. 3851-3868.
99. Design, synthesis and biological evaluation of novel isoniazid derivatives with potent antitubercular activity / F. Martins, S. Santos, C. Ventura, R. Elvas-Leitão [et al.] // *Eur. J. Med. Chem.* – 2014. – Vol. 81. – P. 119-138.
100. Тодоріко Л. Д. Аналіз хіміорезистентності в Чернівецькій області та дослідження впливу похідних імідазолу на мікобактерії туберкульозу / Л. Д. Тодоріко, І. В. Єременчук // *Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція.* – 2013. - № 4 (15). – С. 31-38.
101. Synthesis of novel 1,2,3-triazole derivatives of isoniazid and their in vitro and in vivo antimycobacterial activity evaluation / Beena D. Kumar, G. Khare, S. Kidwai, A. K. Tyagi [et al.] // *Eur. J. Med. Chem.* – 2014. – Vol. 81. – P. 301-313.
102. Synthesis and antifungal activity in vitro of isoniazid derivatives against *histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* / R. de Aguiar Cordeiro, F. J. de Farias Marques, R. de Aguiar Cordeiro, M. R. da Silva MR [et al.] // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2014. – Vol. 58, N 5. – P. 2504-2511.
103. Biological evaluation of isoniazid derivatives as an anticancer class / F. A. Rodrigues, A. C. Oliveira, B. C. Cavalcanti, C. Pessoa [et al.] // *Sci. Pharm.* – 2013. – Vol. 82, N 1. – P. 21-28.
104. Rifamycins - obstacles and opportunities / P. A. Aristoff, G. A. Garcia, P. D. Kirchhoff, H. D. Showalter // *Tuberculosis (Edinb).* – 2010. – Vol. 90, N 2. – P. 94-118.

105. Chan J. G. An update on the use of rifapentine for tuberculosis therapy / J. G. Chan, X. Bai, D. Traini // *Expert Opin. Drug Deliv.* – 2014. – Vol. 11, N 3. – P. 421-431.
106. Stettler R. The "second life" of rifampicin / R. Stettler, A. Trampuz // *Rev. Med. Suisse.* – 2014. - Vol. 10. – P. 670-672.
107. Evaluation of the effect of rifampicin on the biophysical properties of the membranes: significance for therapeutic and side effects / M. Pinheiro, S. Pisco, A. S. Silva, C. Nunes, S. Reis // *Int. J. Pharm.* – 2014. – Vol. 466, N 1-2. – P. 190-197.
108. Радиш Г. В. Ефективність застосування геміфлоксацину для лікування хворих на хіміорезистентний деструктивний туберкульоз легень / Г. В. Радиш // *Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція.* – 2012. - № 4 (11). – С. 27-34.
109. Порівняльна оцінка клінічної ефективності, переносимості та вартості-ефективності левофлоксацину та моксифлоксацину у комплексному лікуванні хворих на мультирезистентний туберкульоз легень / С. О. Черенько, Н. А. Литвиненко, М. В. Погребна, Ю. О. Сенько, О. А. Рева // *Український пульмонологічний журнал.* – 2012. - № 4. – С. 18-24.
110. *Mycobacterium tuberculosis* cytochrome P450 enzymes: a cohort of novel TB drug targets / S. A. Hudson, K. J. McLean, A. W. Munro, C. Abell // *Biochem. Soc. Trans.* – 2012. – Vol. 40, N 3. – P. 573-579.
111. Synthesis of new verapamil analogues and their evaluation in combination with rifampicin against *Mycobacterium tuberculosis* and molecular docking studies in the binding site of efflux protein Rv1258c / K. Singh, M. Kumar, E. Pavadai, K. Naran [et al.] // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2014. – Vol. 24, N 14. – P. 2985-2990.
112. Design, synthesis and investigation on the structure-activity relationships of N-substituted 2-aminothiazole derivatives as antitubercular agents / M. Pieroni, B. Wan, S. Cho, S. G. Franzblau, G. Costantino // *Eur. J. Med. Chem.* – 2014. – Vol. 72. – P. 26-34.

113. Ефективність і безпечність лінезоліду в комплексному лікуванні хворих на мультирезистентний туберкульоз і туберкульоз із розширеною резистентністю / Н. І. Кібізова, С. О. Черенько, Н. А. Литвиненко, М. В. Погребна [та ін.] // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – 2013. - № 4 (15). – С. 39-45.
114. Matteelli A. Extensively drug-resistant tuberculosis: epidemiology and management / A. Matteelli, A. Roggi, A. C. Carvalho // *Clin. Epidemiol.* – 2014. – Vol. 6. – P. 111-118.
115. Sotgiu G. Facing multi-drug resistant tuberculosis / G. Sotgiu, G. B. Migliori // *Pulm. Pharmacol. Ther.* – 2014. - Apr 30. pii: S1094-5539(14)00044-3. doi: 10.1016/j.pupt.2014.04.006. [Epub ahead of print].
116. Use of therapeutic drug monitoring for multidrug-resistant tuberculosis patients / Jiehui Li, Joseph N. Burzynski, Yi-An Lee, Debra Berg [et al.] // *Chest.* – 2004. – Vol. 126. – P. 1770-1776.
117. Alsultan A. Therapeutic drug monitoring in the treatment of tuberculosis: an update / A. Alsultan, C. A. Peloquin // *Drugs.* – 2014. – Vol. 74, N 8. – P. 839-854.
118. Population pharmacokinetics and limited sampling strategy for first-line tuberculosis drugs and moxifloxacin / C. Magis-Escurra, H. M. Later-Nijland, J. W. Alffenaar, J. Broeders [et al.] // *Int. J. Antimicrob. Agents.* – 2014. - Jun 9. pii: S0924-8579(14)00164-2. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2014.04.019. [Epub ahead of print].
119. Isoniazid, rifampin, ethambutol, and pyrazinamide pharmacokinetics and treatment outcomes among a predominantly HIV-infected cohort of adults with tuberculosis from Botswana / S. Chideya, C. A. Winston, C. A. Peloquin, W. Z. Bradford [et al.] // *Clin. Infect. Dis.* – 2009. – Vol. 48, N12. – P. 1685-1694.
120. Isoniazid, rifampicin and pyrazinamide plasma concentrations 2 and 6 h post dose in patients with pulmonary tuberculosis / F. Fahimi, P. Tabarsi, F. Kobarfard, B. D. Bozorg [et al.] // *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* – 2013. – Vol. 17, N 12. – P. 1602-1606.

121. Determinants of rifampin, isoniazid, pyrazinamide, and ethambutol pharmacokinetics in a cohort of tuberculosis patients / H. McIlleron, P. Wash, A. Burger, J. Norman [et al.] - *Antimicrob. Agents Chemother.* - 2006. – Vol. 50. – P. 1170–1177.
122. Kim H. S. Insufficient serum levels of antituberculosis agents during venovenous extracorporeal membrane oxygenation therapy for acute respiratory distress syndrome in a patient with miliary tuberculosis / H. S. Kim, E. S. Lee, Y. J. Cho // *ASAIO J.* – 2014. - May 9. [Epub ahead of print].
123. Therapeutic drug monitoring in the treatment of tuberculosis: a retrospective analysis / L. van Tongeren, S. Nolan, V.J. Cook, J.M. FitzGerald, J.C. Johnston // *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* – 2013. – Vol. 17, N 2. – P. 221-224.
124. Management of and risk factors related to hepatotoxicity during tuberculosis treatment / A. Babalik, H. Arda, N. Bakırcı, S. Ağca [et al.] // *Tuberk Toraks.* – 2012. – Vol.60, N 2. – P. 136-144.
125. Serum drug concentrations predictive of pulmonary tuberculosis outcomes / J.G. Pasipanodya, H. McIlleron, A. Burger, P.A. Wash [et al.] // *J. Infect. Dis.* – 2013. – Vol. 208, N 9. – P. 1464-1473.
126. Ramachandran Geetha Role of pharmacogenomics in the treatment of tuberculosis: a review / Geetha Ramachandran, Soumya Swaminathan // *Pharmacogenomics and Personalized Medicine.* – 2012. - № 5. – P. 89–98.
127. Plasma drug activity assay for treatment optimization in tuberculosis patients / Scott K. Heysell, Charles Mtabho, Stellah Mpagama [et al.] // *Antimicrobial agents and chemotherapy.* – 2011. - Vol. 55, No. 12. - P. 5819–5825.
128. Association of streptomycin resistance mutations with level of drug resistance and *Mycobacterium tuberculosis* genotypes / N.T. Nhu, N.T. Lan, N.T. Phuong, N.v Chau [et al.] // *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* – 2012. - Vol. 16, N 4. – P.527-531.
129. Можливості фармакотерапії туберкульозу легень / М. М. Кужко, М. Т. Клименко, Н. М. Гульчук, М. І. Линник [та ін.] // *Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція.* – 2012. - № 4 (11). – С. 57-64.

130. Pharmacokinetics of rifampicin in Mexican patients with tuberculosis and healthy volunteers / S. E. Medellín-Garibay, R. D. Milán-Segovia, M. Magaña-Aquino, D. P. Portales-Pérez, S. Romano-Moreno // *J. Pharm. Pharmacol.* – 2014. - May 20. doi: 10.1111/jphp.12275. [Epub ahead of print].
131. Ruslami R. Evaluation of high- versus standard-dose rifampin in Indonesian patients with pulmonary tuberculosis / R. Ruslami, H. Nijland, R. Aarnoutse, R. van Crevel - *Antimicrob. Agents Chemother.* - 2006. – Vol. 50. – P. 822–823.
132. Peloquin C. A. Therapeutic drug monitoring: principles and application in mycobacterial infections / C. A. Peloquin // *Drug Ther.* – 1992. – Vol. 22. – P. 31–36.
133. Мухтаров Д. З. Метод выбора введения изониазида и тип инактивации ГИНК у больных полирезистентным туберкулезом легких / Д. З. Мухтаров, К. У. Куйлиев, Н. В. Тарасова // *Український пульмонологічний журнал.* – 2013. - № 4. – С. 5-8.
134. Full-gene sequencing analysis of NAT2 and its relationship with isoniazid pharmacokinetics in Venezuelan children with tuberculosis / L. M. Verhagen, M. J. Coenen, D. López, J. F. García [et al.] // *Pharmacogenomics.* – 2014. – Vol. 15, N 3. – P. 285-296.
135. Correlation of N-acetyltransferase 2 genotype with isoniazid acetylation in Polish tuberculosis patients / A. Zabost, S. Brzezińska, M. Kozińska, M. Błachnio [et al.] // *Biomed Res Int.* – 2013.:853602. doi: 10.1155/2013/853602. Epub 2013 Dec 7.
136. Age-distribution and genotype-phenotype correlation for N-acetyltransferase in Argentine children under isoniazid treatment / G. A. Keller, L. Fabian, M. Gomez, C. D. Gonzalez [et al.] // *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* – 2014. – Vol. 52, N 4. – P. 292-302.
137. Pharmacokinetics of isoniazid in low-birth-weight and premature infants / A. Bekker, H. S. Schaaf, H. I. Seifart, H. R. Draper [et al.] // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2014. – Vol. 58, N 4. – P. 2229-2234.

138. Isoniazid/acetylisoniazid urine concentrations: markers of adherence to isoniazid preventive therapy in children / V. Amlabu, C. Mulligan, N. Jele, A. Evans [et al.] // *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* – 2014. – Vol. 18, N 5. – P. 528-530.
139. Simultaneous determination of rifampicin, clarithromycin and their metabolites in dried blood spots using LC-MS/MS / D. H. Vu, R. A. Koster, M. S. Bolhuis, B. Greijdanus [et al.] // *Talanta.* – 2014. – Vol. 121. – P. 9-17.
140. Limited sampling strategies to predict the area under the concentration-time curve for rifampicin / S. E. Medellín-Garibay, T. Correa-López, C. Romero-Méndez, R. C. Milán-Segovia, S. Romano-Moreno // *Ther. Drug Monit.* – 2014. - Apr 30. [Epub ahead of print].
141. Impact of food intake on the pharmacokinetics of first-line antituberculosis drugs in Taiwanese tuberculosis patients / H. C. Lin, M. C. Yu, H. J. Liu, K. J. Bai // *J. Formos. Med. Assoc.* – 2014. – Vol. 113, N 5. – P. 291-297.
142. Isoniazid pharmacokinetics in the presence of ofloxacin and norfloxacin antibiotics / S. A. Brown, N. A. Ezejiolor, E. Barikpoar, O. E. Orisakwe // *Am. J. Ther.* – 2014. - Jan 21. [Epub ahead of print].
143. Population pharmacokinetics of rifampicin, pyrazinamide and isoniazid in children with tuberculosis: *in silico* evaluation of currently recommended doses / S. P. Zvada, P. Denti, P. R. Donald, H. S. Schaaf [et al.] // *J. Antimicrob. Chemother.* – 2014. – Vol. 69, N 5. – P. 1339-1349.
144. Adjusted indirect treatment comparison of the bioavailability of WHO-prequalified first-line generic antituberculosis medicines / L. Gwaza, J. Gordon, J. Welink, H. Potthast [et al.] // *Clin. Pharmacol. Ther.* – 2014. - Jul 2. doi: 10.1038/clpt.2014.144. [Epub ahead of print].
145. Tam V. H. The relationship between quinolone exposures and resistance amplification is characterized by an inverted U: a new paradigm for optimizing pharmacodynamics to counterselect resistance / V. H. Tam, A. Louie, M. R. Deziel, W. Liu, G. L. Drusano. // *Antimicrob. Agents Chemother.* - 2007. – Vol. 51. – P. 744–747.

146. Pharmacokinetics and dose response of anti-TB drugs in rat infection model of tuberculosis / N. Kumar, K. G. Vishwas, M. Kumar, J. Reddy [et al.] // *Tuberculosis (Edinb)*. – 2014. – Vol. 94, N 3. – P. 282-286.
147. Treatment optimization in patients co-infected with HIV and *Mycobacterium tuberculosis* infections: focus on drug-drug interactions with rifamycins / M. Regazzi, A. C. Carvalho, P. Villani, A. Matteelli // *Clin. Pharmacokinet*. – 2014. – Vol. 53, N 6. – P. 489-507.
148. Pharmacological interactions between rifampicin and antiretroviral drugs: challenges and research priorities for resource-limited settings / H. H. Semvua, G. S. Kibiki, E. R. Kisanga, M. J. Boeree [et al.] // *Ther. Drug Monit*. – 2014. - Jun 17. [Epub ahead of print].
149. Pharmacokinetics of rifampin and isoniazid in tuberculosis-HIV-coinfected patients receiving nevirapine- or efavirenz-based antiretroviral treatment / N. B. Bhatt, C. Barau, A. Amin, E. Baudin [et al.] // *Antimicrob. Agents Chemother*. – 2014. – Vol. 58, N 6. – P. 3182-3190.
150. Therapeutic drug monitoring and pharmacogenetic study of HIV-infected ethnic chinese receiving efavirenz-containing antiretroviral therapy with or without rifampicin-based anti-tuberculous therapy / K. Y. Lee, S. W. Lin, H. Y. Sun, C. H. Kuo [et al.] // *PLoS One*. – 2014. – Vol. 9, N 2 : e88497. doi: 10.1371/journal.pone.0088497. eCollection 2014.
151. Pharmacokinetics of etravirine in HIV-infected patients concomitantly treated with rifampin for tuberculosis / R. Gagliardini, M. Fabbiani, S. Fortuna, E. Visconti [et al.] // *Infection*. – 2014. – Vol. 42, N 4. – P. 775-778. (full text).
152. Association of NAT2, GST and CYP2E1 polymorphisms and anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity / N. Singla, D. Gupta, N. Birbian, J. Singh // *Tuberculosis (Edinb)*. – 2014. – Vol. 94, N 3. – P. 293-298.
153. Leise M. D. Drug-induced liver injury / M. D. Leise, J. J. Poterucha, J. A. Talwalkar // *Mayo Clin. Proc*. – 2014. – Vol. 89, N 1. – P. 95-106.

154. Antitubercular therapy in patients with cirrhosis: challenges and options / N. Kumar, C. K. Kedarisetty, S. Kumar, V. Khillan, S. K. Sarin // *World J. Gastroenterol.* – 2014. – Vol. 20, N 19. – P. 5760-5772.
155. Nomi F. A clinical investigation of seven patients with pulmonary tuberculosis who developed mixed liver injury during oral anti-tuberculosis treatment / F. Nomi, K. Hosaka, T. Kurosawa // *Kekkaku.* – 2013. – Vol. 88, N 9. – P. 647-651.
156. Hepatotoxicity of anti-tuberculosis chemotherapy in patients with liver cirrhosis / H. J. Shin, H. S. Lee, Y. I. Kim, S. C. Lim [et al.] // *Int. J. Tuberc. Lung. Dis.* – 2014. – Vol. 18, N 3. – P. 347-351.
157. Devarbhavi H. Drug-induced liver injury due to antimicrobials, central nervous system agents, and nonsteroidal anti-inflammatory drugs / H. Devarbhavi, R. J. Andrade // *Semin Liver Dis.* – 2014. – Vol. 34, N 2. – P. 145-161.
158. Drug- and herb-induced liver injury: A case series from a single center / M. S. Dağ, M. Aydınli, Z. A. Oztürk, I. H. Türkbeyler [et al.] // *Turk. J. Gastroenterol.* – 2014. – Vol. 25, N 1. – P. 41-45.
159. Paradoxical attenuation of autoimmune hepatitis by oral isoniazid in wild-type and N-acetyltransferase-deficient mice / I. G. Metushi, P. Cai, L. Vega, D. M. Grant, J. Uetrecht // *Drug Metab. Dispos.* – 2014. – Vol. 42, N 6. – P. 963-973.
160. The incidence of liver injury in Uyghur patients treated for TB in Xinjiang Uyghur autonomous region, China, and its association with hepatic enzyme polymorphisms NAT2, CYP2E1, GSTM1 and GSTT1 / Y. Xiang, L. Ma, W. Wu, W. Liu [et al.] // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9, N 1 : e85905. doi: 10.1371/journal.pone.0085905. eCollection 2014.
161. Isoniazid hepatotoxicity with clinical and histopathology correlate / A. Gourishankar, F. Navarro, A. N. Debroy, K. C. Smith // *Ann. Clin. Lab. Sci.* – 2014. – Vol. 44, N 1. – P. 87-90.
162. Evaluation of patterns of liver toxicity in patients on antiretroviral and anti-tuberculosis drugs: a prospective four arm observational study in ethiopian

- patients / G. Yimer, M. Gry, W. Amogne, E. Makonnen [et al.] // PLoS One. – 2014. – Vol. 9, N 4 : e94271. doi: 10.1371/journal.pone.0094271. eCollection 2014.
163. Metushi I. G. Isoniazid-induced liver injury and immune response in mice / I. G. Metushi, J. Uetrecht // J. Immunotoxicol. – 2013. - Dec 4. [Epub ahead of print].
164. Mild isoniazid-induced liver injury in humans is associated with an increase in Th17 cells and T cells producing IL-10 / I. G. Metushi, X. Zhu, X. Chen, M. A. Gardam, J. Uetrecht // Chem. Res. Toxicol. – 2014. – Vol. 27, N 4. – P. 683-689.
165. Metushi I. G. IgG3 is the dominant subtype of anti-isoniazid antibodies in patients with isoniazid-induced liver failure / I. G. Metushi, W. M. Lee, J. Uetrecht // Chem. Res. Toxicol. – 2014. – Vol. 27, N 5. – P. 738-740.
166. Boelsterli U. A. Mechanisms of isoniazid-induced idiosyncratic liver injury: emerging role of mitochondrial stress / U. A. Boelsterli, K. K. Lee // J. Gastroenterol. Hepatol. – 2014. – Vol. 29, N 4. – P. 678-687.
167. Intermittent tuberculosis treatment for patients with isoniazid intolerance or drug resistance / R. Reves, C. M. Heilig, J. M. Tapu, L. Bozeman [et al.] // Int. J. Tuberc. Lung Dis. – 2014. – Vol. 18, N 5. – P. 571-580.
168. Окислювальні процеси в організмі тварин за умов поєданого впливу сполук шестивалентного хрому та туберкулостатиків / Н. І. Бурмас, Л. С. Фіра, П. Г. Лихацький, Н. А. Василюшин // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2011. - № 15 (1). – С. 1-3.
169. Oxidative stress/reactive metabolite gene expression signature in rat liver detects idiosyncratic hepatotoxicants / A. Leone, A. Nie, J. Brandon Parker, S. Sawant, L. A. Piechta [et al.] // Toxicol. Appl. Pharmacol. – 2014. – Vol. 275, N 3. – P. 189-197.
170. Preziosi P. Isoniazid: metabolic aspects and toxicological correlates / P. Preziosi // Curr. Drug Metab. – 2007. – Vol. 8, N 8. – P. 839-851.

171. Drunkenness caused by isoniazid in a tuberculosis patient with extrapulmonary lesions on hemodialysis: a case report / M. Saiki, T. Honda, Y. Sogami, K. Fukasawa [et al.] // *Kekkaku*. – 2013. – Vol. 88, N 10. – P. 703-708.
172. Peter P. Isoniazid-induced cerebellitis: a disguised presentation / P. Peter, M. John // *Singapore Med. J.* – 2014. – Vol. 55, N 1. – P. 9-17.
173. Convulsive seizures with a therapeutic dose of isoniazid / K. Tsubouchi, Y. Ikematsu, M. Hashisako, E. Harada [et al.] // *Intern. Med.* – 2014. – Vol. 53, N 3. – P. 239-242.
174. Eyüboğlu T. Rhabdomyolysis due to isoniazid poisoning resulting from the use of intramuscular pyridoxine / T. Eyüboğlu, O. Derinöz // *Turk. J. Pediatr.* – 2013. – Vol. 55, N 3. – P. 328-330.
175. Sensory polyneuropathy in human immunodeficiency virus-infected patients receiving tuberculosis treatment / C. M. Centner, H. Carrara, T. B. Harrison, M. Benatar, J. M. Heckmann // *Int. J. Tuberc. Lung. Dis.* – 2014. – Vol. 18, N 1. – P. 27-33.
176. A case of serum sickness-like reaction and anaphylaxis - induced simultaneously by rifampin / D. H. Kim, Y. H. Choi, H. S. Kim, J. E. Yu, Y. I. Koh // *Allergy Asthma Immunol. Res.* – 2014. – Vol. 6, N 2. – P. 183-185.
177. Thrombocytopenia induced by rifampicin not previously sensitized: a case presentation / A. Neino Mourtala Mohamed, C. Tummino, M. Gouitaa, P. Chanez // *Rev. Mal. Respir.* – 2013. – Vol. 30, N 9. – P. 785-788.
178. Rifampicin-induced acute kidney injury during the initial treatment for pulmonary tuberculosis: a case report and literature review / S. Chiba, K. Tsuchiya, H. Sakashita, E. Ito, N. Inase // *Intern. Med.* – 2013. – Vol. 52, N 21. – P. 2457-2460.
179. Correlation of plasma anti-tuberculosis drug levels with subsequent development of hepatotoxicity / A. Satyaraddi, T. Velpandian, S. K. Sharma, S. Vishnubhatla [et al.] // *Int. J. Tuberc. Lung. Dis.* – 2014. – Vol. 18, N 2. – P. 188-195.

180. Drug rash with eosinophilia and systemic symptoms syndrome due to anti-TB medication / D. H. Kaswala // J. Family Med. Prim. Care. – 2013. – Vol. 2, N 1. – P. 83-85.
181. Genotoxic effects of some antituberculosis drugs and mixtures in rats / K. Arslan, M. Kanbur, M. Karabacak, Z. S. Sarica [et al.] // Drug Res. (Stuttg). – 2014. - Jul 3. [Epub ahead of print].
182. Асмолов О. К. Стан функції нирок у хворих на туберкульоз легень за даними генотипів *GSTM1*, *GSTT1* та *NAT2* / О. К. Асмолов, Я. В. Бєседа // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – 2012. - № 4 (11). – С. 47-51.
183. Acute kidney injury due to anti-tuberculosis drugs: a five-year experience in an aging population / C. H. Chang, Y. F. Chen, V. C. Wu, C. C. Shu [et al.] // BMC Infect. Dis. – 2014. – Vol. 14. – P. 23-29.
184. N-acetyltransferase 2 (NAT2) genotype as a risk factor for development of drug-induced liver injury relating to antituberculosis drug treatment in a mixed-ethnicity patient group / C. S. Ng, A. Hasnat, A. Al Maruf, M. U. Ahmed, M. Pirmohamed [et al.] // Eur. J. Clin. Pharmacol. – 2014. - Jun 3. [Epub ahead of print].
185. Huang Y. S. Recent progress in genetic variation and risk of antituberculosis drug-induced liver injury / Y. S. Huang // J. Chin. Med. Assoc. – 2014. – Vol. 77, N 4. – P. 169-173.
186. N-acetyltransferase and cytochrome P450 2E1 gene polymorphisms and susceptibility to antituberculosis drug hepatotoxicity in an Indian population / S. Mishra, S. Daschakraborty, P. Shukla, P. Kapoor [et al.] // Natl. Med. J. India. – 2013. – Vol. 26, N 5. – P. 260-265.
187. Частота та профіль медикаментозної резистентності МБТ у хворих на мультирезистентний туберкульоз і туберкульоз із розширеною резистентністю залежно від випадку захворювання, характеру та тривалості попереднього лікування / С. О. Черенько, Н. А. Литвиненко,

- A. I. Барбова, О. А. Журило [та ін.] // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – 2013. - № 2 (13). – С. 19-25.
188. Lack of association between genetic polymorphisms of CYP3A4, CYP2C9 and CYP2C19 and antituberculosis drug-induced liver injury in a community-based Chinese population / S. W. Tang, X. Z. Lv, R. Chen, S. S. Wu [et al.] // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* – 2013. – Vol. 40, N 5. – P. 326-332.
189. Role of CYP3A in isoniazid metabolism in vivo / K. Liu, F. Li, J. Lu, Z. Gao [et al.] // *Drug Metab. Pharmacokinet.* – 2014. – Vol. 29, N 2. – P. 219-222.
190. Бажора Ю. І. Порушення видільної функції нирок у хворих на легеневий туберкульоз при різних генотипах GSTM1, GSTT1 та NAT2 / Ю. І. Бажора, О. О. Сметюк, В. Й. Кресюн // *Одеський медичний журнал.* – 2011. - № 5 (127). – С. 38-42.
191. NAT2, CYP2C9, CYP2C19, and CYP2E1 genetic polymorphisms in anti-TB drug-induced maculopapular eruption / S. H. Kim, S. H. Kim, H. J. Yoon, D. H. Shin [et al.] // *Eur. J. Clin. Pharmacol.* – 2011. – Vol. 67, N 2. – P. 121-127.
192. Induction of influx and efflux transporters and cytochrome P450 3A4 in primary human hepatocytes by rifampin, rifabutin, and rifapentine / B. Williamson, K. E. Dooley, Y. Zhang, D. J. Back, A. Owen // *Antimicrob Agents Chemother.* – 2013. – Vol. 57, N 12. – P. 6366-6369.
193. Effect of anti-tuberculosis therapy on polymorphic drug metabolizing enzyme CYP2C9 using phenytoin as a probe drug / M. George, D. G. Shewade, S. V. Kumar, C. Adithan // *Indian J. Pharmacol.* – 2012. – Vol. 44, N 4. – P. 485-488.
194. An evaluation of potential mechanism-based inactivation of human drug metabolizing cytochromes P450 by monoamine oxidase inhibitors, including isoniazid / Thomas M. Polasek, David J. Elliot, Andrew A. Somogyi, Elizabeth M. J. Gillam [et al.] // *British journal of clinical pharmacology.* – 2006. – Vol. 61, N 5. – P. 570–584.
195. Isoniazid mediates the CYP2B6*6 genotype-dependent interaction between efavirenz and antituberculosis drug therapy through mechanism-based

- inactivation of CYP2A6 / M. H. Court, F. E. Almutairi, D. J. Greenblatt, S. Hazarika [et al.] // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2014. – Vol. 58, N 7. – P. 4145-4152.
196. Effects of rifampin-based antituberculosis therapy on plasma efavirenz concentrations in children vary by CYP2B6 genotype / H. M. McIlleron, M. Schomaker, Y. Ren, P. Sinxadi P [et al.] // *AIDS.* – 2013. – Vol. 27, N 12. – P. 1933-1940.
197. CYP2E1 induction leads to oxidative stress and cytotoxicity in glutathione-depleted cerebellar granule neurons / A. C. Valencia-Olvera, J. Morán, R. Camacho-Carranza, O. Prospéro-García, J. J. Espinosa-Aguirre // *Toxicol. in vitro.* – 2014. – Vol. 28, N 7. – P. 1206-1214.
198. Inhibition of cytochrome P450 by ethambutol in human liver microsomes / S. Y. Lee, H. Jang, J. Y. Lee, K. I. Kwon [et al.] // *Toxicol. Lett.* – 2014. – Vol. 229, N 1. – P. 33-40.
199. Вплив стрептоміцину й етамбутолу на цитохром Р-450 2Е1-залежні механізми гепатотоксичності / С. І. Анісімова, Л. Б. Бондаренко, Г. М. Шаяхметова, А. К. Вороніна, В. М. Коваленко // *Одеський медичний журнал.* – 2012. - № 3 (131). – С. 6-9.
200. Вплив комбінації протитуберкульозних засобів на рівень експресії мРНК ізоформ цитохрому Р-450 у сім'яниках щурів і стан їх сперматогенного епітелію / Г. М. Шаяхметова, Л. Б. Бондаренко, А. В. Матвієнко, В. М. Коваленко // *Одеський медичний журнал.* – 2012. - № 4 (132). – С. 11-14.
201. Monedero I. Common errors in multidrug-resistant tuberculosis management / I. Monedero, J. A. Caminero // *Expert Rev. Respir. Med.* – 2014. – Vol. 8, N 1. – P. 15-23.
202. A close-up on the epidemiology and transmission of multidrug-resistant tuberculosis in Poland / T. Jagielski, A. Brzostek, A. van Belkum, J. Dziadek [et al.] // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* – 2014. - Jul 20. [Epub ahead of print].

203. Multidrug-resistant tuberculosis in Western Australia, 1998-2012 / J. R. Francis, C. C. Blyth, S. Colby, J. M. Fagan, J. Waring // *Med. J. Aust.* – 2014. – Vol. 200, N 6. – P. 328-332.
204. Мельник В. М. Історія виникнення і розвитку хіміорезистентного туберкульозу / В. М. Мельник, А. М. Приходько, Л. В. Ареф'єва // *Український пульмонологічний журнал.* – 2012. - № 2. – С. 59-61.
205. Аналітичний погляд на проблему хіміорезистентного туберкульозу: нинішній стан, досягнення та деякі невирішені питання / В. М. Мельник, І. О. Новожилова, В. Г. Матусевич, М. І. Линник // *Український пульмонологічний журнал.* – 2012. - № 1. – С. 5-7.
206. Multidrug-resistant tuberculosis in Uzbekistan: results of a nationwide survey, 2010 to 2011 / D. J. Ulmasova, G. Uzakova, M. N. Tillyashayhov, L. Turaev [et al.] // *Euro Surveill.* – 2013. – Vol. 18, N 42. - pii: 20609.
207. Drug resistance pattern and associated risk factors of tuberculosis patients in the central province of Iran / A. Farazi, M. Sofian, N. Zarrinfar, F. Katebi F [et al.] // *Caspian J. Intern. Med.* – 2013. – Vol. 4, N 4. – P. 785-789.
208. Pediatric drug-resistant tuberculosis in Madrid: family matters / B. Santiago, F. Baquero-Artigao, A. Mejías, D. Blázquez [et al.] // *Pediatr. Infect. Dis. J.* – 2014. – Vol. 33, N 4. – P. 345-350.
209. Primary drug resistance among pulmonary treatment-naïve tuberculosis patients in Amazonas State, Brazil / M. da Silva Garrido, R. Ramasawmy, T. M. Perez-Porcuna, E. Zaranza [et al.] // *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* – 2014. – Vol. 18, N 5. – P. 559-563.
210. Хіміорезистентний туберкульоз: поширеність та профіль стійкості мікобактерій туберкульозу до антимікобактеріальних препаратів / В. М. Мельник, І. О. Новожилова, В. Г. Матусевич, А. М. Приходько, // *Український пульмонологічний журнал.* – 2013. - № 3. – С. 19-23.
211. Rifampicin mono-resistant tuberculosis in France: a 2005-2010 retrospective cohort analysis / V. Meyssonnier, T. V. Bui, N. Veziris, V. Jarlier, J. Robert // *BMC Infect. Dis.* – 2014. – Vol. 14. – P. 18-23.

212. Chierakul N. Clinical features and outcomes of isoniazid mono-resistant pulmonary tuberculosis / N. Chierakul, V. Saengthongpinij, S. Foongladda // *J. Med. Assoc. Thai.* – 2014. – Vol. 97, Suppl 3. – P. 86-90.
213. Munang M. L. Isoniazid-resistant tuberculosis in Birmingham, United Kingdom, 1999-2010 // M. L. Munang, M. Kariuki, M. Dedicoat // *Q.J.M.* – 2014. - Jul 1. pii: hcu139. [Epub ahead of print].
214. Changing epidemiology of tuberculosis detected by an 8-year retrospective laboratory study in a tertiary teaching hospital in central Saudi Arabia / A. M. Somily, T. Naeem, H. A. Habib, M. S. Sarwar [et al.] // *Saudi Med. J.* – 2014. – Vol. 35, N 7. – P. 691-698.
215. Prevalence and characterization of drug-resistant tuberculosis in a local hospital of Northeast China / Y. Yang, C. Zhou, L. Shi, H. Meng, H. Yan // *Int. J. Infect. Dis.* – 2014. – Vol. 22. – P. 83-86.
216. Survey of tuberculosis drug resistance among Tibetan refugees in India / F. Salvo, K. Dorjee, K. Dierberg, W. Cronin [et al.] // *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* – 2014. – Vol. 18, N 6. – P. 655-662.
217. Drug resistance pattern of Mycobacterium tuberculosis isolates from patients of five provinces of Iran / M. J. Nasiri, F. Rezaei, S. Zamani, D. Darban-Sarokhalil [et al.] // *Asian Pac. J. Trop. Med.* – 2014. – Vol. 7, N 3. – P. 193-196.
218. Multi-drug resistant Mycobacterium tuberculosis complex genetic diversity and clues on recent transmission in Punjab, Pakistan / M. Yasmin, M. K. Gomgnimbou, R. T. Siddiqui, G. Refrégier [et al.] // *Infect. Genet. Evol.* – 2014. - Jun 27. pii: S1567-1348(14)00220-2. doi: 10.1016/j.meegid.2014.06.017. [Epub ahead of print].
219. Analysis of mutational characteristics of the drug-resistant gene katG in multi-drug resistant Mycobacterium tuberculosis L-form among patients with pneumoconiosis complicated with tuberculosis / J. Lu, S. Jiang, Q. Y. Liu, S. Ma [et al.] // *Mol. Med. Rep.* – 2014. – Vol. 9, N 5. – P. 2031-2035.

220. Gutiérrez-Aroca J. B. Antimicrobial resistance in tuberculosis / J. B. Gutiérrez-Aroca, P. Ruiz, M. Casal // *Rev. Esp. Quimioter.* – 2013. – Vol. 26, N 4. – P. 332-336.
221. Extent and origin of resistance to antituberculosis drugs in the Netherlands, 1993 to 2011 / C. Ruesen, A. B. van Gageldonk-Lafeber, G. de Vries, C. G. Erkens CG [et al.] // *Euro Surveill.* – 2014. – Vol. 19, N 11. – P. 15-21.
222. Drug-resistant tuberculosis in the WHO European Region: an analysis of surveillance data / M. Zignol, M. Dara, A. S. Dean, D. Falzon [et al.] // *Drug Resist. Updat.* – 2013. – Vol. 16, N 6. – P. 108-115.
223. Prevalence and Drug Resistance Patterns of Mycobacterium tuberculosis among New Smear Positive Pulmonary Tuberculosis Patients in Eastern Ethiopia / B. Seyoum, M. Demissie, A. Worku, S. Bekele, A. Aseffa // *Tuberc. Res. Treat.* – 2014; 2014:753492. doi: 10.1155/2014/753492. Epub 2014 Apr 16.
224. Mycobacterium tuberculosis resistance to antituberculosis drugs in Mozambique / G. M. Pires, E. Folgosa, N. Nquobile, S. Gitta, N. Cadir // *J. Bras. Pneumol.* – 2014. – Vol. 40, N 2. – P. 142-147.
225. Microbiological investigation for tuberculosis among HIV-infected children in Soweto, South Africa / L. Fairlie, E. Muchiri, C. N. Beylis, T. Meyers, H. Moultrie // *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* – 2014. – Vol. 18, N 6. – P. 676-681.
226. Direct sequencing for rapid detection of multidrug resistant Mycobacterium tuberculosis strains in Morocco / F. Zakham, I. Chaoui, A. H. Echchaoui, F. Chetioui [et al.] // *Infect. Drug Resist.* – 2013. – Vol. 6. – P. 207-213.
227. Surveillance of antituberculosis-drug resistance in Cuba, 2010-2011 / D. Lemus, M. Echemendía, R. Díaz, A. Llop, M. J. Llanes // *Biomedica.* – 2014. – Vol. 34, Suppl. 1. – P. 108-113.
228. Resistance to first-line drugs and major genotypic lineages of Mycobacterium tuberculosis in the 3 French Department of the Americas: Profiles, evolution, and trends (1995-2011) / J. Millet, M. Berchel, F. Prudenté, E. Streit [et al.] // *Bull. Soc. Pathol. Exot.* – 2014. – Vol. 107, N 2. – P. 90-105.

229. Профіль медикаментозної резистентності МБТ до протитуберкульозних препаратів у хворих на мультирезистентний туберкульоз та туберкульоз із розширеною резистентністю МТБ залежно від випадку захворювання / Н. А. Литвиненко, С. О. Черенько, М. В. Погребна, Ю. О. Сенько [та ін.] // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – 2012. - № 4 (11). – С. 85-91.
230. Стан та недоліки організації виявлення хворих на хіміорезистентний туберкульоз / В. М. Мельник, І. О. Новожилова, В. Г. Матусевич, І. В. Бушура // Український пульмонологічний журнал. – 2013. - № 2. – С. 15-19.
231. 125 years after Robert Koch's discovery of the tubercle bacillus: the new XDR-TB threat. Is "science" enough to tackle the epidemic? / G.B. Migliori, R. Loddenkemper, F. Blasi [et al.] // Eur. Respir. J. — 2007. — № 29. — P. 423–427.
232. Defining catastrophic costs and comparing their importance for adverse tuberculosis outcome with multi-drug resistance: a prospective cohort study, Peru / T. Wingfield, D. Boccia, M. Tovar, A. Gavino [et al.] // PLoS Med. – 2014. – Vol. 11, N 7 : e1001675. doi: 10.1371/journal.pmed.1001675. eCollection 2014.
233. Treatment practices, outcomes, and costs of multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis, United States, 2005-2007 / S. M. Marks, J. Flood, B. Seaworth, Y. Hirsch-Moverman [et al.] // Emerg. Infect Dis. – 2014. – Vol. 20, N 5. – P. 812-821.
234. The mutations of katG and inhA genes of isoniazid-resistant Mycobacterium tuberculosis isolates in Taiwan / S. T. Tseng, C. H. Tai, C. R. Li, C. F. Lin, Z. Y. Shi // J. Microbiol. Immunol. Infect. – 2013. pii: S1684-1182(13)00163-1. doi: 10.1016/j.jmii.2013.08.018. [Epub ahead of print].
235. Loots du T. An altered Mycobacterium tuberculosis metabolome induced by katG mutations resulting in isoniazid resistance / T. du Loots // Antimicrob. Agents Chemother. – 2014. – Vol. 58, N 4. – P. 2144-2149.

236. Matsumoto S. Molecular mechanisms of dormancy and drug tolerance in mycobacteria / S. Matsumoto // *Nihon Hansenbyo Gakkai Zasshi*. – 2013. – Vol. 82, N 3. – P. 119-122.
237. A silent mutation in *mabA* confers isoniazid resistance on *Mycobacterium tuberculosis* / H. Ando, T. Miyoshi-Akiyama, S. Watanabe, T. Kirikae // *Mol. Microbiol.* – 2014. – Vol. 91, N 3. – P. 538-547.
238. Detecting novel genetic variants associated with isoniazid-resistant mycobacterium tuberculosis / S. Shekar, Z. X. Yeo, J. C. Wong, M. K. Chan [et al.] // *PLoS One*. – 2014. – Vol. 9, N 7.: e102383. doi: 10.1371/journal.pone.0102383. eCollection 2014.
239. Characterization of phenotypic and genotypic drug resistance patterns of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from a city in Mexico / S. Flores-Treviño, R. Morfín-Otero, E. Rodríguez-Noriega, E. González-Díaz [et al.] // *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* – 2014. – Jun 18. pii: S0213-005X(14)00185-2. doi: 10.1016/j.eimc.2014.04.005. [Epub ahead of print].
240. Epistasis between antibiotic resistance mutations drives the evolution of extensively drug-resistant tuberculosis / S. Borrell, Y. Teo, F. Giardina, E. M. Streicher [et al.] // *Evol. Med Public Health*. – 2013. – N 1. – P. 65-74.
241. A structural characterization of the isoniazid *Mycobacterium tuberculosis* drug target, Rv2971, in its unliganded form / A. Shahine, A. Prasetyoputri, J. Rossjohn, T. Beddoe // *Acta Crystallogr. F. Struct. Biol. Commun.* – 2014. – Vol. 70. – P. 572-577.
242. Detection of mutations associated with isoniazid resistance in multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates / T. Jagielski, Z. Bakula, K. Roeske, M. Kamiński [et al.] // *J. Antimicrob. Chemother.* – 2014. – May 22. pii: dku161. [Epub ahead of print].
243. Salina T. Iu. Molecular genetic analysis of the isoniazid-resistant strains of *M. tuberculosis* circulating over the Saratov region / T. Iu. Salina, T. I. Morozova // *Mol. Gen. Mikrobiol. Virusol.* – 2013. – N 3. – P. 26-28.

244. Profiling of *rpoB* mutations and MICs for rifampin and rifabutin in *Mycobacterium tuberculosis* / F. B. Jamieson, J. L. Guthrie, A. Neemuchwala, O. Lastovetska [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2014. – Vol. 52, N 6. – P. 2157-2162.
245. Occurrence of diverse mutations in isoniazid- and rifampicin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates from autochthonous and immigrant populations of Saudi Arabia / B. Varghese, M. Shoukri, Z. Memish, N. Abuljadayel [et al.] // *Microb. Drug Resist.* – 2014. - Jul 11. [Epub ahead of print].
246. Lin S. Y. Molecular diagnosis of tuberculosis and drug resistance / S. Y. Lin, E. P. Desmond // *Clin. Lab. Med.* – 2014. – Vol. 34, N 2. – P. 297-314.
247. Molecular characterization of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates from China / L. L. Zhao, Y. Chen, H. C. Liu, Q. Xia [et al.] // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2014. – Vol. 58, N 4. – P. 1997-2005.
248. Prevalence and Molecular Characteristics of Drug-Resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Hunan, China / L. L. Zhao, Y. Chen, Z. N. Chen, H. C. Liu [et al.] // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2014. – Vol. 58, N 6. – P. 3475-3480.
249. Predicting extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* phenotypes with genetic mutations / T. C. Rodwell, F. Valafar, J. Douglas, L. Qian [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2014. – Vol. 52, N 3. – P. 781-789.
250. Rapid diagnosis of pyrazinamide-resistant MDR-TB using a molecular-based diagnostic Algorithm / S. O. Simons, T. van der Laan, A. Mulder, J. van Ingen [et al.] // *Clin. Microbiol. Infect.* – 2014. - May 29. doi: 10.1111/1469-0691.12696. [Epub ahead of print].
251. Evaluation of *Mycobacterium tuberculosis* cross-resistance to isoniazid, rifampicin and levofloxacin with their respective structural analogs / B. R. Imperiale, A. B. Di Giulio, A. Adrián Cataldi, N. S. Morcillo // *J. Antibiot.* (Tokyo). – 2014. - Jun 4. doi: 10.1038/ja.2014.61. [Epub ahead of print].
252. Стандарти бактеріологічної діагностики туберкульозу в лабораторіях протитуберкульозних закладів України / Учбовий посібник для фахівців

- бактеріологічних лабораторій закладів протитуберкульозної служби України. – Київ, 2012. – 190 с.
253. Effects of gender, AIDS, and acetylator status on intrapulmonary concentrations of isoniazid / John E. Conte, Jeffrey A. Golden, Mari McQuitty, Juliana Kipps [et al.] // *Antimicrobial agents and chemotherapy*. – 2002. - Vol. 46, N 8. - P. 2358–2364.
254. Clinical characteristics and treatment outcomes of patients with low- and high-concentration isoniazid-monoresistant tuberculosis / T. Y. Wang, S. M. Lin, S. S. Shie, P. C. Chou [et al.] // *PLoS One*. – 2014. – Vol. 9, N 1 : e86316. doi: 10.1371/journal.pone.0086316. eCollection 2014.
255. Predictive value of direct nitrate reductase assay and its clinical performance in the detection of multi- and extensively drug-resistant tuberculosis / B. R. Imperiale, N. S. Morcillo, J. C. Palomino, P. Vandamme, A. Martin // *J. Med. Microbiol.* – 2014. – Vol. 63. – P. 522-527.
256. González L. The usefulness of the nitrate reductase assay for detecting drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* / L. González, R. Sánchez, M. I. Murcia // *Biomedica*. – 2014. – Vol. 34, Suppl 1. – P. 232-238.
257. Optimization of the microscopic observation drug susceptibility assay for four first-line drugs using *Mycobacterium tuberculosis* reference strains and clinical isolates / H. Nishiyama, A. Aono, T. Sugamoto, K. Mizuno [et al.] // *J. Microbiol. Methods*. – 2014. – Vol. 101. – P. 44-48.
258. Evaluation of a modified direct agar proportion method for testing susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* from MGIT samples / F. L. Yu, J. C. Lee, M. S. Wang, H. L. Hsu [et al.] // *J. Microbiol. Immunol. Infect.* – 2014. - Mar 21. pii: S1684-1182(14)00006-1. doi: 10.1016/j.jmii.2014.01.003. [Epub ahead of print].
259. Improving antitubercular drug susceptibility testing with liquid media / S. M. Hwang, K. C. Hwang, Y. J. Hong, H. R. Lee [et al.] // *Ann. Clin. Lab. Sci.* – 2014. – Vol. 44, N 2. – P. 123-130.

260. Jhamb S. S. Determination of the activity of standard anti-tuberculosis drugs against intramacrophage *Mycobacterium tuberculosis*, in vitro: MGIT 960 as a viable alternative for BACTEC 460 / S. S. Jhamb, A. Goyal, P. P. Singh // *Braz. J. Infect. Dis.* – 2014. – Vol. 18, N 3. – P. 336-340.
261. The pyrazinamide susceptibility breakpoint above which combination therapy fails / T. Gumbo, E. Chigutsa, J. Pasipanodya, M. Visser [et al.] // *J. Antimicrob. Chemother.* – 2014. - May 12. [Epub ahead of print].
262. Comparison of different drug susceptibility test methods to detect the rifampin heteroresistance in *Mycobacterium tuberculosis* / Z. Zhang, Y. Wang, Y. Pang, C. Liu // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2014. - Jul 14. pii: AAC.02778-14. [Epub ahead of print].
263. *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated from Van region four different sensitivity detection method antimycobacterial agents / E. S. Baykal, H. Guducuoglu, G. Yaman, M. Berktas // *Tuberk. Toraks.* – 2014. – Vol. 62, N 2. – P. 122-30.
264. Multidrug-resistant tuberculosis presenting as miliary tuberculosis without immune suppression: a case diagnosed rapidly with the genotypic line probe assay method / Y. Ko, H. Y. Lee, Y. S. Lee, J. Song [et al.] // *Tuberc. Respir. Dis. (Seoul).* – 2014. – Vol. 76, N 5. – P. 245-248.
265. Emerging technologies for monitoring drug-resistant tuberculosis at the point-of-care / V. Mani, S. Wang, F. Inci, G. De Libero [et al.] // *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2014. - Jun 2. pii: S0169-409X(14)00127-6. doi: 10.1016/j.addr.2014.05.015.
266. Denkinger C. M. Do we need to detect isoniazid resistance in addition to rifampicin resistance in diagnostic tests for tuberculosis? / C. M. Denkinger, M. Pai, D. W. Dowdy // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9, N 1 : e84197. doi: 10.1371/journal.pone.0084197. eCollection 2014.
267. Rolling circle amplification for direct detection of *rpoB* gene mutations in *Mycobacterium tuberculosis* isolates from clinical specimens / X. Chen,

- B. Wang, W. Yang, F. Kong [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2014. – Vol. 52, N 5. – P. 1540-1548.
268. Simplified microarray system for simultaneously detecting rifampin, isoniazid, ethambutol, and streptomycin resistance markers in *Mycobacterium tuberculosis* / Y. Linger, A. Kukhtin, J. Golova, A. Perov [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2014. – Vol. 52, N 6. – P. 2100-2107.
269. A comparison between the efficiency of the Xpert MTB/RIF assay and nested PCR in identifying *Mycobacterium tuberculosis* during routine clinical practice / C. H. Kim, H. Woo, I. G. Hyun, C. Kim [et al.] // *J. Thorac Dis.* – 2014. – Vol. 6, N 6. – P. 625-631.
270. Results from early programmatic implementation of Xpert MTB/RIF testing in nine countries / J. Creswell, A. J. Codlin, E. Andre, M. A. Micek [et al.] // *BMC Infect. Dis.* – 2014. – Vol. 14. – P. 2-8.
271. A multi-site validation in India of the line probe assay for the rapid diagnosis of multi-drug resistant tuberculosis directly from sputum specimens / N. Raizada, K. S. Sachdeva, D. S. Chauhan, B. Malhotra [et al.] // *PLoS One.* – 2014. - Vol. 9, N 2 : e88626. doi: 10.1371/journal.pone.0088626. eCollection 2014.
272. Usefulness of Genotype MTBDRplus assay in acid-fast bacilli positive smear specimens in Almeria, Spain / M. J. Martínez-Lirola, M. J. Muñoz-Dávila, D. García-de Viedma, T. Cabezas Fernández [et al.] // *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* – 2014. - May 3. pii: S0213-005X(14)00087-1. doi: 10.1016/j.eimc.2014.02.017. [Epub ahead of print].
273. Saglik I. Evaluation of the GenoType MTBDR assay for detection of rifampicin and isoniazid resistance in *Mycobacterium tuberculosis* complex isolates / I. Saglik, Y. Oz, N. Kiraz // *Indian J. Med. Microbiol.* – 2014. – Vol. 32, N 3. – P. 318-322.
274. Evaluation of two line probe assays for rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis*, tuberculosis (TB) drug resistance, and non-TB *Mycobacteria* in HIV-infected individuals with suspected TB / A. F. Luetkemeyer, M. A.

- Kendall, X. Wu, M. C. Lourenço [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2014. – Vol. 52, N 4. – P. 1052-1059.
275. Correlation between genotypic and phenotypic testing for resistance to rifampin in *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates in Haiti: investigation of cases with discrepant susceptibility results / O. Ocheretina, V. E. Escuyer, M. M. Mabou, G. Royal-Mardi [et al.] // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9, N 3: e90569. doi: 10.1371/journal.pone.0090569. eCollection 2014.
276. Comparison of Xpert MTB/RIF with line probe assay for detection of rifampin-monoresistant *Mycobacterium tuberculosis* / S. B. Rufai, P. Kumar, A. Singh, S. Prajapati [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2014. – Vol. 52, N 6. – P. 1846-1852.
277. GeneXpert MTB/RIF version G4 for identification of rifampin-resistant tuberculosis in a programmatic setting / M. Osman, J. A. Simpson, J. Caldwell, M. Bosman, M. P. Nicol // *J. Clin. Microbiol.* – 2014. – Vol. 52, N 2. – P. 635-637.
278. Point-of-care system for detection of *Mycobacterium tuberculosis* and rifampin resistance in sputum samples / P. Castan, A. de Pablo, N. Fernández-Romero, J. M. Rubio JM, [et al.] (full text) // *J. Clin. Microbiol.* – 2014. – Vol. 52, N 2. – P. 502-507.
279. Comparison of three molecular assays for the detection of rifampin resistance in *Mycobacterium tuberculosis* / H. W. Moon, M. Hur, J. Y. Kim, Y. M. Yun // *J. Clin. Lab. Anal.* – 2014. - May 5. doi: 10.1002/jcla.21742. [Epub ahead of print].
280. Diagnostic dilemma: treatment outcomes of tuberculosis patients with inconsistent rifampicin susceptibility / Y. Pang, Y. Z. Ruan, J. Zhao, C. Chen [et al.] // *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* – 2014. – Vol. 18, N 3. – P. 357-362.
281. A rapid fluorescence polarization-based method for genotypic detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* / Y. Sun, S. Li, L. Zhou, L. Zhou [et al.] // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2014. – Vol. 98, N 9. – P. 4095-4105.

282. In house reverse membrane hybridisation assay versus GenoType MTBDRplus and their performance to detect mutations in the genes *rpoB*, *katG* and *inhA* / S. L. Ferreira Junior, E. R. Costa, P. G. Santos, H. M. Gomes [et al.] // Mem. Inst. Oswaldo Cruz. – 2014. – Vol. 109, N 3. – P. 307-314.
283. Pyrosequencing for rapid detection of extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in clinical isolates and clinical specimens / S. Y. Lin, T. C. Rodwell, T. C. Victor, E. C. Rider [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2014. – Vol. 52, N 2. – P. 475-482.
284. Pyrosequencing for rapid detection of tuberculosis resistance in clinical isolates and sputum samples from re-treatment pulmonary tuberculosis patients / R. Zheng, C. Zhu, Q. Guo, L. Qin [et al.] // BMC Infect. Dis. – 2014. – Vol. 14. – P. 200-205.
285. Evaluation of the AID TB resistance line probe assay for rapid detection of genetic alterations associated with drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* strains / C. Ritter, K. Lucke, F. A. Sirgel, R. W. Warren [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2014. – Vol. 52, N 3. – P. 940-946.
286. Rapid detection of isoniazid resistance in *Mycobacterium tuberculosis* isolates by use of real-time-PCR-based melting curve analysis / S. Hu, G. Li, H. Li, X. Liu [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2014. – Vol. 52, N 5. – P. 1644-1652.
287. Rapid and accurate detection of rifampin and isoniazid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* using an oligonucleotide array / W. L. Huang, Z. J. Hsu, T. C. Chang, R. Jou // Clin. Microbiol. Infect. – 2013. - Dec 23. doi: 10.1111/1469-0691.12517. [Epub ahead of print].
288. Discordance across several methods for drug susceptibility testing of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates in a single laboratory / S. Banu, S. M. Rahman, M. S. Khan, S. S. Ferdous [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2014. – Vol. 52, N 1. – P. 156-163.
289. Cost-effectiveness of rapid susceptibility testing against second-line drugs for tuberculosis / D. W. Dowdy, A. van't Hoog, M. Shah, F. Cobelens // Int. J. Tuberc. Lung Dis. – 2014. – Vol. 18, N 6. – P. 647-654.

290. Роль нетуберкульозних мікобактерій в захворюванні легень в сучасних умовах / О. А. Журило, А. І. Барбова, С. В. Миронченко, О. Р. Сметаніна, О. В. Юнацька // Український пульмонологічний журнал. – 2011. - № 4. – С. 37-40.
291. Molecular characterization of *Mycobacterium bovis* isolates from patients with tuberculosis in Baja California, Mexico / R. Laniado-Laborín, R. Muñiz-Salazar, R. A. García-Ortíz, A. C. Vargas-Ojeda [et al.] // *Infect. Genet. Evol.* – 2014.: pii: S1567-1348(14)00223-8. doi: 10.1016/j.meegid.2014.06.020. [Epub ahead of print].
292. Association between mycobacterium tuberculosis complex phylogenetic lineage and acquired drug resistance / C. M. Yuen, E. V. Kurbatova, E. S. Click, J. S. Cavanaugh, J. P. Cegielski // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8, N 12 : e83006. doi: 10.1371/journal.pone.0083006. eCollection 2013.
293. Характеристика *M.tuberculosis* родини *Beijing* / О. К. Асмолов, М. М. Чеснокова, О. А. Бабуріна, О. К. Лобанов // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – 2013. - № 4 (15). – С. 92-95.
294. A country-wide study of spoligotype and drug resistance characteristics of *Mycobacterium tuberculosis* isolates from children in China / W. Jiao, Z. Liu, R. Han, X. Zhao [et al.] // *PLoS One.* – 2013. - Vol. 8, N 12 : e84315. doi: 10.1371/journal.pone.0084315. eCollection 2013.
295. A systematic follow-up of *Mycobacterium tuberculosis* drug-resistance and associated genotypic lineages in the French Departments of the Americas over a seventeen-year period / J. Millet, E. Streit, M. Berchel, A. G. Bomer [et al.] // *Biomed. Res. Int.* - 2014; 2014:689852. doi: 10.1155/2014/689852. Epub 2014 Mar 13.
296. Feuerriegel S. Phylogenetic polymorphisms in antibiotic resistance genes of the *Mycobacterium tuberculosis* complex / S. Feuerriegel, C. U. Köser, S. Niemann // *J. Antimicrob. Chemother.* – 2014. – Vol. 69, N 5. – P. 1205-1210.
297. Elucidating emergence and transmission of multidrug-resistant tuberculosis in treatment experienced patients by whole genome sequencing / T. G. Clark, K.

- Mallard, F. Coll, M. Preston [et al.] // PLoS One. – 2013. – Vol. 8, N 12 : e83012. doi: 10.1371/journal.pone.0083012. eCollection 2013.
298. Sequence analysis for detection of drug resistance in Mycobacterium tuberculosis complex isolates from the Central Region of Cameroon / E. M. Tekwu, L. K. Sidze, J. P. Assam, J. C. Tedom [et al.] // BMC Microbiol. – 2014. – Vol. 14. – P. 113-117.
299. Левкович Н. М. Частота розповсюдження алельних варіантів*2 і *3 гена CYP2C9 у населення України / Н. М. Левкович, Н. Г. Горovenko // Одеський медичний журнал. – 2012. - № 2 (136). – С. 23-28.
300. Левкович Н. М. Поліморфізм G1934A гена CYP2D6 у населення України / Н. М. Левкович // Одеський медичний журнал. – 2013. - № 5 (139). – С. 20-25.
301. Флетчер Р. Клиническая эпидемиология. Основы доказательной медицины / Флетчер Р., Флетчер С., Вагнер Э.; пер. с англ. – Москва: Медиа Сфера, 1998. – 352 с.
302. Наказ МОЗ України №45 від 06.02.2002 «Про затвердження Інструкції з бактеріологічної діагностики туберкульозної інфекції»: зб. нормат. док. з охорони здоров'я. / складена Ю. І. Фещенко, О. А. Журило, М. Т. Клименко [та ін.] // Київ, 2002. – №2. – С. 63-111. – (Нормативні директивні правові документи).
303. Molecular mechanism of slow acetylation of drugs and carcinogens in humans / M. Blum, A. Demierre, D. M. Grant, M Heim [et al.] // Proc. Nati. Acad. Sci. USA – 1991. - Vol. 88. – P. 5237-5241.
304. Sullivan-Klose T. H., Ghanayem B. I., Bell D. A. [et al.] The role of the CYP2C9-Leu359 allelic variant in the tolbutamide polymorphism // Pharmacogenetics. – 1996. – Vol. 6, N 4. – P. 341-349.
305. Goldstein J. A. Genetic tests which identify the principal defects in CYP2C19 responsible for the polymorphism in mephenytoin metabolism / J. A. Goldstein, J. Blaisdell // Methods Enzymol. -1996. – Vol. 272. – P. 210-218.

306. Cytochrome P4502E1 genetic polymorphisms, racial variation, and lung cancer risk / Shunji Kato, Peter G. Shields, Neil E. Caporaso, Robert N. Hoover [et al.] // Cancer research. – 1992. – Vol. 52. – P. 6712-6715.
307. Susceptibility to esophageal cancer and genetic polymorphisms in glutathione-S-transferases T1, P1 and cytochrome P450 2E1 / Dong-Xin Lin, Yong-Ming Tang, Qiong Peng, Shi-Xin Lu [et al.] // Cancer epidemiology, biomarkers and prevention. – 1998. - Vol. 7. – P. 1013-1018.
308. Шендерова, Р. И. Определение активного тубазида в сыворотке крови методом Вилленберга / Р. И. Шендерова // Лабораторное дело. – 1975. - №2. – С. 114-116.
309. Чубарян В.Т. Клинико-фармакологический подход к индивидуальному дозированию изониазида и рифампицина у больных туберкулезом легких : автореф. дисс. на соискание ученой степени канд. мед. наук : спец. 14.00.42 «Клиническая фармакология» / В. Т. Чубарян. - Ростов-на-Дону (РФ), 1994. - 20 с.
310. Фармакокинетика / [Каркищенко Н. Н., Хоронько В. В., Сергеева С. А., Каркищенко В. Н.]. — Ростов н/Д : Феникс, 2001. — 384 с. — (Серия «Гиппократ»).
311. Стальная И.Д. Современные методы в биохимии. – М., Медицина. – 1977. – С. 63.
312. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова, В.Е. Токарева // Лаб. дело. - 1988. - №1. - С. 16-19.
313. Гирин С. В. Модификация метода определения активности каталазы в биологических субстратах / С. В. Гирин // Лабораторная диагностика. – 1999. - №4. – С. 45-46.
314. Від ефективного контролю за туберкульозом залежить національна безпека [Електронний ресурс] // Прес-реліз МОЗ України від 24.03.2005
Режим доступу до прес-релізу:
<http://www.moz.gov.ua/ua/main/press/?docID=3027>.

315. Allele-Specific *rpoB* PCR Assays for Detection of Rifampin-Resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Sputum Smears / I. Mokrousov, T. Otten, B. Vyshnevskiy [et al.] // Antimicrobial agents and chemotherapy. – 2003. - Vol. 47, № 7. - P. 2231–2235.
316. Detection of Isoniazid-Resistant *Mycobacterium tuberculosis* Strains by a Multiplex Allele-Specific PCR Assay Targeting *katG* Codon 315 Variation / I. Mokrousov, T. Otten, M. Filipenko [et al.] // Journal of Clinical Microbiology. – 2002. - Vol. 40, № 7. - P. 2509–2512.
317. Молекулярно-генетические механизмы туберкулезной инфекции / [Ю. И. Бажора, В. И. Кресюн, Ю. И. Фещенко и др.] – Одесса: Одесский государственный медуниверситет, 2005. – 259 с.
318. New multiplex PCR for rapid detection of isoniazid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates / Laura Herrera-Leon, Tamara Molina, Pilar Saiz, Juan Antonio Saez-Nieto, Maria Soledad Jimenez // Antimicrobial agents and chemotherapy. – 2005. – Vol. 49, N 1. – P. 144-147.
319. Genotypic Analysis of *Mycobacterium tuberculosis* in Bangladesh and Prevalence of the Beijing Strain / S. Banu, Gordon V. Stephen, Si Palmer [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2004. - Vol. 42, № 2. – P. 674-682.
320. Frothingham R. Genetic diversity in the *Mycobacterium tuberculosis* complex based on variable numbers of tandem DNA repeats / R. Frothingham, W. A. Meeker-O'Connell // Microbiology – 1998. – Vol. 144. – P. 1189-1196.
321. Variable human minisatellite-like regions in the *Mycobacterium tuberculosis* genome / P. Supply, E. Mazars, S. Lesjean [et al.] // Molecular Microbiology – 2000. - Vol. 36, № 3. – P. 762-771.
322. Masel J. Rethinking Hardy–Weinberg and genetic drift in undergraduate biology / J. Masel // BioEssays. - 2012. – Vol. 34, N 8. – P. 701–710.
323. Lindh J. D., Holm L., Andersson M. L., Rane A. Influence of CYP2C9 genotype on warfarin dose requirements--a systematic review and meta-analysis // Eur. J. Clin. Pharmacol. – 2009. – Vol. 65, N 4. – P. 365-375.

324. N-acetyltransferase-2 (NAT2) Gene Polymorphisms and Enzyme Activity in Serbs. Unprecedented High Prevalence of Rapid Acetylators in a White Population / N. Djordjevic, J. A. Carrillo, N. Ueda, G. Gervasini [et al.] // *J. Clin. Pharmacol.* – 2010. - Aug 27. [Epub ahead of print].
325. Lee Jun-Beom Cytochrome P450 2C19 polymorphism is associated with reduced clopidogrel response in cerebrovascular disease / Jun-Beom Lee, Kyung-A Lee, Kyung-Yul Lee // *Yonsei Med. J.* – 2011. – Vol. 52, N 5. – P. 734-738.
326. Goodman and Gilman's *The Pharmacological Basis of Therapeutics* / Twelfth Edition. McGraw-Hill Professional, 2011. - 1808 p.
327. Інструкція по медичному застосуванню препарату рифампіцину. – Режим доступу: <http://mozdocs.kiev.ua/likiview.php?id=29438> (Нормативно-директивні документи МОЗ України).
328. Bing C. Gene dose effect of NAT2 variants on the pharmacokinetics of isoniazid and acetylisoniazid in healthy Chinese subjects / C. Bing, C. Xiaomeia, L. Jinhenga // *Drug Metabol. Drug Interact.* – 2011. – Vol. 26, N 3. – P. 113-118.
329. Pharmacokinetics of isoniazid, rifampin, and pyrazinamide in children younger than two years of age with tuberculosis: evidence for implementation of revised world health organization recommendations / S. Thee, J. A. Seddon, P. R. Donald [et al.] // *Antimicrobial agents and chemotherapy.* – 2011. - Vol. 55, No. 12. - P. 5560–5567.
330. Інструкція по медичному застосуванню препарату ізоніазиду. – Режим доступу: <http://mozdocs.kiev.ua/likiview.php?id=26940> (Нормативно-директивні документи МОЗ України).
331. Результати застосування ПАСК в комплексній хіміотерапії хворих деструктивним, раніш неефективно лікованим, хіміорезистентним туберкульозом легень / Й.Б. Бялик, Л.М. Циганкова, В.В. Давиденко, І.В. Слuch // *Український пульмонологічний журнал.* – 2006. - №1. – С. 56-60.

332. Каталаза біологічних сред організму людини і її клініко-біологічне значення в оцінці ендотоксикозу / Н.В. Безручко, Г.К. Рубцов, Н.Б. Ганяєва, Г.А. Козлова, Д.Г. Садовникова // Вестник ТГПУ. – 2012. - №7 (122). – С. 94-98.
333. NAT2 genotype guided regimen reduces isoniazid-induced liver injury and early treatment failure in the 6-month four-drug standard treatment of tuberculosis: A randomized controlled trial for pharmacogenetics-based therapy / Junichi Azuma, Masako Ohno, Ryuji Kubota, Soichiro Yokota [et al.] // Eur. J. Clin. Pharmacol. – 2013. – Vol. 69. – P. 1091–1101.
334. Association of N-acetyltransferase 2 and cytochrome P450 2E1 gene polymorphisms with antituberculosis drug-induced hepatotoxicity in Western India / V.H. Gupta, D.N. Amarapurkar, M. Singh [et al.] // J. Gastroenterol. Hepatol. -2013. – Vol. 28, N 8. – P. 1368-1374.
335. Зростання резистентності до протитуберкульозної терапії: проблеми діагностики чи незавершеність лікування? / В. Й. Кресюн, О. К. Асмолов, Ю. І. Бажора, П. Б. Антоненко [та ін.] // Сучасні проблеми туберкульозу в Україні: причини та шляхи їх подолання: Збірник наукових праць учасників Всеукраїнської науково-практичної конф. – К., 2008. – С. 50-54.
336. Ніколаєвський В.В. Оптимізація стратегії генотипування *Mycobacterium tuberculosis* в Одеській області України: порівняння методів споліготипування та VNTR // Одеський медичний журнал.- 2005. - № 3. - С.32-39.
337. Allix-Béguet C., Harmsen D., Weniger T. [et al.] Evaluation and strategy for use of MIRU-VNTRplus, a multifunctional database for online analysis of genotyping data and phylogenetic identification of *Mycobacterium tuberculosis* complex isolates // J. Clin. Microbiol. – 2008. – Vol. 46, № 8. – P. 2692-2699.
338. Nikolayevskyy V.V., Brown T.J., Bazhora Y.I. [et al.] Molecular epidemiology and prevalence of mutations conferring rifampicin and isoniazid resistance in

- Mycobacterium tuberculosis strains from the southern Ukraine // Clin. Microbiol. Infect. – 2007. – Vol.13, №2. – P.129-138.
339. Polymorphisms of drug-metabolizing enzymes CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP1A1, NAT2 and of P-glycoprotein in a Russian population / E. A. Gaikovitch, I. Cascorbi, P. M. Mrozikiewicz, J. Brock-möller [et al.] // Eur. J. Clin. Pharmacol. – 2003. – Vol. 59. – P. 303–312.
340. Herman D. Genetic polymorphism of cytochromes P450 2C9 and 2C19 in Slovenian population / D. Herman, V. Dolzan, K. Breskvar // Zdrav. Vestn. – 2003. – Vol. 72. – P. 347–351.
341. Allele and genotype frequencies of CYP2C9, CYP2C19 and CYP2D6 in an Italian population / M. G. Scordo, A. P. Caputi, C. D'Arrigo, G. Fava [et al.] // Pharmacol. Res. – 2004. – Vol. 50. – P. 195–200.
342. Genetic polymorphisms of drug-metabolizing enzymes CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19 and CYP3A5 in the Greek population / K. Arvanitidis, G. Ragia, M. Iordanidou, S. Kyriaki, [et al.] // Fundam. Clin. Pharmacol. – 2007. – Vol. 21. – P. 419–426.
343. Investigation of allele and genotype frequencies of CYP2C9, CYP2C19 and VKORC1 in Iran / N. Azarpira, S. Namazi, F. Hendijani, M. Banan [et al.] // Pharmacological reports. – 2010. – Vol. 62. – P. 740-746.
344. Ford G.A. CYP2D6 and CYP2C19 genotypes of patients with terodiline cardiotoxicity identified through the yellow card system / G.A. Ford, S.M. Wood, A.K. Daly // Br J Clin Pharmacol. – 2000. – Vol. 50, N 1. – P. 77-80.
345. CYP2C9 polymorphism in patients with epilepsy: genotypic frequency analyzes and phenytoin adverse reactions correlation / C. A. Twardowschy, L. C. Werneck, R. H. Scola [et al.] // Arq. Neuro-Psiquiatr. – 2011. - Vol. 69, N 2. – P. 195–200.
346. Impact of CYP2C8 and 2C9 polymorphisms on coronary artery disease and myocardial infarction in the LURIC cohort / E. Haschke-Becher, J. Kirchheiner, O. Trummer, G. Grünbacher [et al.] // Pharmacogenomics. – 2010. – N 10. – P. 1359-1365.

347. Cigarette Smoking, Genetic Variants in Carcinogen-metabolizing Enzymes, and Colorectal Cancer Risk / Sean P. Cleary, Michelle Cotterchio, Ellen Shi, Steven Gallinger [et al.] // *Am. J. Epidemiol.* – 2010. – Vol. 172, N 9. – P. 1000–1014.
348. Ulusoy Gulen Genotype and allele frequencies of polymorphic CYP2E1 in the Turkish population / Gulen Ulusoy, Emel Arinç, Orhan Adali // *Arch. Toxicol.* – 2007. – Vol. 81. – P. 711–718.
349. Genetic polymorphisms of cytochrome P4502E1 and susceptibility to alcoholic liver disease and hepatocellular carcinoma in a white population: a study and literature review, including meta-analysis / NACS Wong, F. Rae, K.J. Simpson, G.D. Murray, D.J. Harrison // *J. Clin. Pathol. Mol. Pathol.* – 2000. – Vol. 53. – P. 88-93.
350. *RsaI* but not *DraI* polymorphism in *CYP2E1* gene increases the risk of gastrointestinal cancer in Malaysians: a case–control study / Eric Tzyy Jiann Chong, Chong Cin Lee, Kek Heng Chua, Jitt Aun Chuah, Ping-Chin Lee // *BMJ Open.* – 2014. - №4 : e004109. doi:10.1136/bmjopen-2013-004109.
351. Association of CYP1A1, GSTM1 and CYP2E1 polymorphisms with lung cancer suggest cell type specificities to tobacco carcinogens / L. Le Marchand, L. Sivaraman, L. Pierce [et al.] // *Cancer Res.* – 1998. – Vol. 58. - P. 4858-4863.
352. Association analysis of gene polymorphism in alcohol metabolizing enzymes with risk for coronary atherosclerosis / A.V. Marusin, V.A. Stepanov, M.G. Spiridonova, V.A. Khar'kov, [et al.] // *Genetika.* – 2007. – Vol. 43, N 3. – P. 409-16.
353. Functional *PstI/RsaI* polymorphism in CYP2E1 is associated with the development, progression and poor outcome of gastric cancer / Jin Feng, Xiaolin Pan, Junbo Yu, Zheng Chen [et al.] // 2012. – Vol. 7, N 9. – P. 1-8.
354. Role of CYP2E1 gene polymorphisms association with hepatitis risk in Northeast India / Manab Deka, Moumita Bose, Bharati Baruah, Purabi Deka Bose // *World J. Gastroenterol.* – 2010. - Vol. 16(38). – P. 4800-4808.

355. Cytochromes P4502E1 and P4501E1 genotypes and susceptibility to cirrhosis or upper aerodigestive tract cancer in alcoholic Caucasians / D. Lucas, C. Menez, F. Floch, [et al.] // *Alcoholism: Clin. Exp. Res.*, - 1996. – Vol. 20. – P. 1033-1037.
356. Дорошкевич І. О. Програма прогнозування характеру ацетилювання за допомогою клініко-антропологічних показників / І. О. Дорошкевич, О. О. Яковлева // *Biomedical and Biosocial Anthropology* – 2007. - №9. - С. 112-115.
357. Особливості обмінних процесів у хворих на туберкульоз легень з різним фенотипом ацетилювання при застосуванні режимів хіміотерапії з піразинамідом / К. Д. Мажак, О. В. Павленко, О. А. Ткач, Н. Р. Гречуха [та ін.] // *Збірник наукових праць учасників Всеукраїнської науково-практичної конференції «Сучасні проблеми туберкульозу в Україні: причини та шляхи їх подолання», 2008, м.Київ* – С. 90-95.
358. Donald P. R. The influence of dose and N-acetyl transferase-2 (NAT2) genotype and phenotype on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of isoniazid / P. R. Donald, D. P. Parkin, H. I. Seifart [et al.] // *Pharmacokinet. Dispos.* – 2007. – Vol. 63, N 7. – P. 633–639.
359. Predisposition of anti-tuberculosis drug induced hepatotoxicity by cytochrome P450 2E1 genotype and haplotype in pediatrics patients / B. Roy, S. K. Ghosh, D. Sutradhar [et al.] // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2006. – Vol. 21, N 4. – P. 781–786.
360. NAT2 genotype guided regimen reduces isoniazid-induced liver injury and early treatment failure in the 6-month four-drug standard treatment of tuberculosis: A randomized controlled trial for pharmacogenetics-based therapy / Junichi Azuma, Masako Ohno, Ryuji Kubota, Soichiro Yokota [et al.] // *Eur. J. Clin. Pharmacol.* – 2013. – Vol. 69. – P. 1091–1101.
361. Genetic polymorphisms of NAT2 and CYP2E1 associated with anti tuberculosis drug-induced hepatotoxicity in Korean patients with pulmonary tuberculosis / H. J. Cho, W. J. Koh, Y. J. Ryu [et al.] // *Tuberculosis (Edinb).* – 2007. – Vol. 87, N 6. – P. 551–556.

362. Polymorphism of the N-acetyltransferase 2 gene as a susceptibility risk factor for antituberculosis drug-induced hepatotoxicity in Tunisian patients with tuberculosis / B. L. Mahmoud, H. Ghazzi, A. Kamoun [et al.] // *Pathol. Biol (Paris)*. - Aug 2011. [Epub ahead of print.].
363. Гребенник Л. И. Сравнительное изучение обмена гидразида изоникотиновой кислоты и гидразина в организме некоторых животных / Л. И. Гребенник // *Вопросы медицинской химии*. – 1967. – Т. XII, вып. 4. – С. 359-363.
364. Roy P. D. Pharmacogenomics of anti-TB drug-related hepatotoxicity / P. D. Roy, M. Majumder, B. Roy // *Pharmacogenomics*. – 2008. – Vol. 9, N 3. – P. 311–321.
365. Pharmacometabonomic characterization of xenobiotic and endogenous metabolic phenotypes that account for inter-individual variation in isoniazid-induced toxicological response / K. Cunningham, S. P. Claus, J. C. Lindon [et al.] // *J. Proteome Res.* – 2012. – Vol. 9, N 11. – P. 4630-4642.
366. NAT2 and CYP2E1 polymorphisms and susceptibility to first-line anti-tuberculosis drug-induced hepatitis / S. W. Lee, L. S. Chung, H. H. Huang [et al.] // *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* – 2010. – Vol. 14, N 5. – P. 622–626.
367. N-acetyl transferase 2 polymorphisms and risk of anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity in Caucasians / V. Leiro-Fernandez, D. Valverde, R. Vazques-Gallardo [et al.] // *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* – 2011. – Vol. 15, N 10. – P. 1403–1408.
368. Effects of tuberculosis, race, and human gene SLCO1B1 polymorphisms on rifampin concentrations / M. Weiner, C. A. Peloquin, W. Burman [et al.] // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2010. – Vol. 54, N 10. – P. 4192–4200.
369. The SLCO1B1 rs4149032 polymorphism is highly prevalent in South Africans and is associated with reduced rifampin concentrations: dosing implications / E. Chigutsa, M. E. Visser, E. C. Swart, [et al.] // *Antimicrob. Agents Chemother.* -2011. –Vol. 55, N 9. – P. 4122–4127.