

ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

На правах рукопису

Сметюк Олена Олексіївна

УДК: 616.61-092-06:616.24-002.5:577.21

ПАТОГЕНЕТИЧНІ МЕХАНІЗМИ ПОРУШЕНЬ ВИДІЛЬНОЇ ФУНКЦІЇ НИРОК У
ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ ЛЕГЕНЬ В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ПОЛІМОРФІЗМУ
ГЕНІВ ФЕРМЕНТІВ МЕТАБОЛІЗМУ КСЕНОБІОТИКІВ

14.03.04 – патологічна фізіологія

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук

Науковий керівник

Бажора Юрій Іванович

доктор медичних наук, професор

Одеса – 2012

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ.....	4
ВСТУП.....	6
РОЗДІЛ 1 Роль поліморфізму генів ферментів метаболізму ксенобіотиків в розвитку токсичної нефропатії у хворих на туберкульоз легень (огляд літератури).....	12
1.1 Неспецифічні функціональні зміни нирок при туберкульозі легень.....	13
1.2 Метаболізм протитуберкульозних препаратів ферментами детоксикації ксенобіотиків.....	14
1.3 Глутатіон-S-трансферази та N-ацетилтрансферази людини.....	22
1.4 Інформативність різних методів дослідження функціонального стану нирок.....	35
РОЗДІЛ 2 Матеріали та методи дослідження	40
2.1 Контингент обстежених хворих.....	40
2.2 Клінічна характеристика обстежених груп	41
2.3 Методики проведення клінічних досліджень.....	42
2.4 Методики проведення біофізичних досліджень.....	43
2.5 Методики проведення молекулярно-генетичних досліджень.....	45
РОЗДІЛ 3 Поліморфізм генів, які контролюють детоксикацію ксенобіотиків, у хворих на туберкульоз легень.....	48
3.1 Молекулярно-генетичні дослідження частоти поліморфних локусів генів GSTM1 і GSTT1 (глутатіон-S-трансферази) у різних вікових групах мешканців Одеської області.....	50
3.2 Молекулярно-генетичні дослідження частоти поліморфних локусів генів NAT2 (ариламін-N-ацетилтрансфераза 2) (2*4, 2*5, 2*6, 2*7) у практично здорових мешканців Одеської області.....	53
3.3 Молекулярно-генетичні дослідження частоти поліморфних локусів генів	

GSTM1 і GSTT1 (глутатіон-S-трансферази) у хворих на легеневий туберкульоз.....	54
3.4. Молекулярно-генетичні дослідження частоти поліморфних локусів генів NAT2 (ариламін-N-ацетилтрансфераза 2) (2*4, 2*5, 2*6, 2*7) у хворих на легеневий туберкульоз.....	55
3.5 Результати дослідження фенотипу ацетилювання ферментами NAT2 (N-ацетилтрансфераза 2) (2*4, 2*5, 2*6, 2*7) у хворих на легеневий туберку-льоз	57
РОЗДІЛ 4 Стан системного та місцевого ниркового метаболізму у носіїв поліморфних варіантів генотипів генів детоксикації ксенобіотиків хворих на туберкульоз легень.....	61
4.1 Клінічна характеристика системного метаболізму та деяких показників крові обстежених хворих.....	62
4.2 Клінічна характеристика функціонального стану нирок обстежених хворих.....	63
4.3 Залежність показників порушення видільної функції нирок у обстежених хворих від генотипів GSTM1, GSTT1 та NAT2.....	67
РОЗДІЛ 5 Оцінка тяжкості туберкульозного процесу з допомогою лазерної кореляційної спектроскопії.....	79
5.1 Результати оцінки ступеня напруженості системного метаболізму у хворих на туберкульоз, отримані при дослідженні сироватки крові.....	80
5.2 Результати оцінки ступеня напруженості місцевого метаболізму у хворих на туберкульоз, отримані при дослідженні сечі.....	86
5.3 Зв'язок хронізації туберкульозного процесу та стану системного та місцевого обміну макромолекул хворих на легеневий туберкульоз.....	93
РОЗДІЛ 6 Обговорення результатів.....	108
ВИСНОВКИ	119
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	121

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І
ТЕРМІНІВ

Am – Амікацин

Amx/Clv – Амоксицилін/клавуланова кислота

Cfx – Ципрофлоксацин

Cfz – Клофазимін

Clr – Кларитроміцин

Cm – Капреоміцин

Cs – Циклосерин

CYP – цитохром P 450

E – Етамбутол

Et – Етіонамід

Gfx – Гатифлоксацин

GSTM1 – глутатіон-S-трансфераза-μ

GSTT1 – глутатіон-S-трансфераза-θ

H – Ізоніазид

Km – Канаміцин

Lfx – Левофлоксацин

Lzd – Лінезолід

Mfx – Моксифлоксацин

NAT-2 – аріламін N-ацетилтрансфераза-2

Ofx – Офлоксацин

PAS – Пара-аміносаліцилова кислота

Pt – Протіонамід

R – Рифампіцин

RR - відносний ризик (rates ratio)

S – Стрептоміцин

Th – Тіоацетазон

Trz – Терізідон

Z – Піразинамід

АГ – антиген

АТ – антитіло

ВДТБ – вперше діагностований туберкульоз

ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров'я

ГН – гломерулонефрит

Кр – креатинін

ЛКС – лазерна кореляційна спектроскопія

МБТ – мікобактерія туберкульозу

ООКПТЛ - Одеська обласна клінічна протитуберкульозна лікарня

ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція

ПОЛ – перекисне окислення ліпідів

ПТП – протитуберкульозні препарати

РНК – рибонуклеїнова кислота

ТБ – туберкульоз

ХТБ – хронічний туберкульоз

ВСТУП

Серед важливих проблем сьогодення, безперечно, є тяжка епідеміологічна ситуація щодо захворювання на туберкульоз [97]. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), близько 1,9 млрд осіб інфіковані мікобактерією туберкульозу, з них орієнтовно 60 млн хворих на туберкульоз (ТБ). За прогнозами ВООЗ, до 2020 р. кількість інфікованих *M.tuberculosis* може досягти 1 мільярду [76].

Актуальність теми: Численними дослідженнями було встановлено, що майже від початку розвитку туберкульозного процесу в легеневій тканині відбувається неспецифічне ураження нирок шляхом розвитку імунної реакції за типом антиген-антитіло з утворенням циркулюючих імунних комплексів, що осідають на базальній гломерулярній мембрані та порушують функцію нирок [35].

Порушення в ниркових тканинах зумовлюються також токсичною дією протитуберкульозних лікарських засобів. В експериментальних дослідженнях доведено, що ріфампіцин, ушкоджуючи клітини клубочків та каналців нефрона, призводить до значного зниження швидкості клубочкової фільтрації, процесів реабсорбції з розвитком протеїнурії тощо [36]. Ступінь патологічних змін на рівні клітин та тканини нирок залежить від кількості протитуберкульозних засобів, які одночасно вводили тваринам [9]. Рівень патологічних порушень в нирках визначається проявом маркерів, що маніфестують виникнення ниркових ускладнень. Однак, традиційні клініко-лабораторні методи діагностики функції нирок в диференціації тяжкості впливу туберкульозного процесу на орган не є достатньо інформативними в визначенні доклінічних порушень функціонального стану нирок [37].

Тому актуальним залишається розробка та апробація нових методів лабораторних досліджень, які дозволяють виявити функціональні порушення у видільній системі ще до клінічних проявів токсичного ураження нирок [45].

Окремі наукові публікації свідчать про вплив поліморфізму за генами *GST* та *NAT2* на наявність ускладнень в процесі лікування туберкульозу. Проведені дослідження показали, що гідразин, який утворюється внаслідок гідролізації ізоніазиду, має тенденцію до накопичення власне у хворих з *GSTM1*-null генотипом, та моноацетилгідразин, що накопичується у повільних ацетиляторів з наявністю алелів *NAT2**5 та *NAT2**6, можуть призвести до появи нефротоксичних наслідків [43,71].

Все вищеперераховане визначає актуальність та доцільність проведення подальших досліджень з метою визначення ролі поліморфізму генів *GST* та *NAT2* в розвитку патофізіологічних механізмів порушень видільної функції нирок у хворих на туберкульоз легень та можливість застосування методу ЛКС як додаткового способу отримання патофізіологічних критеріїв розвитку преморбідних станів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом комплексних планових науково-дослідних робіт МОЗ України, які виконувались на кафедрі клінічної імунології, генетики та медичної біології Одеського національного медичного університету (ОНМедУ) за темами: «Імуногенетичні, епідеміологічні, фармакогенетичні та клініко-мікробіологічні аспекти взаємовідносин у системі «паразит-хазяїн» при туберкульозній інфекції в умовах зростання захворюваності на туберкульоз» (№ держреєстрації 0104U010501) та «Значення поліморфізму деяких генів схильності до захворювання на туберкульоз в перебігу хвороби та ефективності її лікування» (№ держреєстрації 0110U006662). Дисертант є співвиконавцем зазначених НДР.

Мета та завдання дослідження. Мета полягала у з'ясуванні ролі поліморфізму генів *GSTM1*, *GSTT1* та *NAT2* в розвитку патофізіологічних механізмів порушень видільної функції нирок за умов застосування специфічних протитуберкульозних препаратів у хворих на вперше діагностований туберкульоз легень та хворих на хронічний туберкульоз легень.

Для досягнення поставленої мети було передбачено постановку та

послідовне вирішення таких завдань:

1. Дослідити частоту поліморфних генів *GSTM1*, *GSTT1* та *NAT2* в контрольній групі (здорові) та групі хворих на туберкульоз легень жителів Одеси й Одеської області.

2. Вивчити частоту поширеності поліморфних варіантів генів *GSTM1*, *GSTT1* и *NAT2* в групах хворих на вперше діагностований туберкульоз легень і тих, що неефективно лікувалися раніше.

3. Вивчити функціональний стан нирок у обстежуваних осіб вищезгаданих груп до і після курсу специфічної хіміотерапії.

4. Вивчити можливості лазерної кореляційної спектроскопії (ЛКС) крові та сечі в оцінці тяжкості ураження нирок у хворих на туберкульоз легень до і після курсу специфічної протитуберкульозної терапії.

5. Встановити залежність між генотипічними варіантами *GSTM1*, *GSTT1* та *NAT2* і мірою порушень видільних функцій нирок у обстежуваних хворих.

Наукова новизна одержаних результатів

Вперше проведено дослідження частоти поліморфних варіантів гена N-ацетилтрансферази (*NAT2*) серед хворих на туберкульоз легень жителів Одеси й Одеської області.

Визначена можливість впливу генотипу повільного метаболізму (гомозиготи за *NAT2**5/2*5, 2*6/2*6, 2*7/2*7) на зниження здатності організму до протистояння туберкульозній інфекції.

Вперше встановлено збільшення частоти null-алелю *GSTM1* в групі хворих на хронічний туберкульоз легень, що свідчить про наявність асоціації між мутацією та хронізацією туберкульозного процесу.

Визначена можлива роль мутації *del GSTT1* як чинника ризику щодо ураження базальних мембран клубочків нирок під час первинної імунної відповіді на *M.tuberculosis*.

Вперше показано, що визначення мікроальбумінурії є більш ефективним для оцінки функціонального стану нирок у хворих на туберкульоз порівняно з протеїнурією.

Вперше доведено, що частота випадків мікроальбумінурії значно перевищує частоту виявлення високомолекулярних білків майже в усіх поліморфних за генотипом групах хворих, за винятком генотипу *NAT2*4/2*4* (швидкі ацетилятори).

Встановлено порушення ниркової фільтрації у хворих на туберкульоз легень з del *GSTM1* та при наявності алелю *NAT2*5* та *NAT2*6* (повільні ацетилятори).

Вперше проведено комплексне дослідження субфракційного складу сироватки крові та сечі у хворих на туберкульоз легень методом лазерної кореляційної спектроскопії. Визначена перевага синтетично-спрямованих змін метаболічних процесів в нирках, що може бути пов'язано з розвитком неспецифічних реакцій в тканинах цих органів.

Обґрунтованість та достовірність наукових положень, висновків та рекомендацій.

Робота виконана на достатній кількості зразків крові та сечі, отриманих від хворих на легеневий туберкульоз. Основні положення та висновки дисертації підтверджуються статистично достовірними результатами досліджень. Висновки роботи обґрунтовані і логічно витікають з результатів досліджень. Достовірність основних положень і висновків, викладених у дисертації, підтверджується наявністю первинної документації (протоколи досліджень; виписки з історії хвороби пацієнтів на легеневий туберкульоз; журнал реєстрації молекулярно-генетичних досліджень). Отримані результати ретельно проаналізовані і приведені у достатній кількості таблиць, текст викладений стилістично правильно, з дотриманням логічних зв'язків. Математична обробка отриманих результатів проведена з використанням сучасних статистичних методів оцінки. Результати дослідження проаналізовані з використанням даних вітчизняної та зарубіжної літератури. Кількісні виміри отримані на апаратурі, що пройшла державний метрологічний контроль. Матеріали, що представлені в дисертації, відповідають звітам і первинній документації планової НДР кафедри клінічної імунології, генетики та медичної біології ОНМедУ.

Наукове значення роботи.

Отримані дані розширили існуючі уявлення про патогенетичні особливості легеневого туберкульозу, обумовлені певними генетичними особливостями організмів збудника та хазяїна. Вони закладають теоретичний фундамент для створення ефективних засобів прогнозування перебігу туберкульозу легень, оптимізації лікування та зниження ризику несприятливого результату захворювання.

Практичне значення отриманих результатів.

Отримані результати можуть бути використані для удосконалення лікування туберкульозу, оскільки дозволяють своєчасно визначити групу хворих з підвищеною ймовірністю нефротоксичних ускладнень на тлі специфічної хіміотерапії.

Визначення поліморфних варіантів *GSTM1*, *GSTT1* та *NAT2* дозволяє виявити групи ризику серед хворих, що є чутливими як до неспецифічної імунної дії на тканини нирок, так і до токсичного ураження нирок протитуберкульозними препаратами (ПТП).

Особливості ЛК-спектрів сироватки крові та сечі з високим ступенем достовірності дозволяють виявити наявність патологічних змін і таким чином підвищити рівень діагностики нефротоксичних ускладнень протитуберкульозної терапії, своєчасно визначити раціональну лікувальну програму та проводити моніторинг за її ефективністю.

Результати дослідження впроваджені в навчальний процес на кафедрах фтизіопульмонології, загальної та клінічної патофізіології, клінічної імунології, генетики та медичної біології, загальної та клінічної фармакології ОНМедУ, фармакології з медичною рецептурою та патологічної фізіології Вінницького національного медичного університету.

Особистий внесок здобувача. Ідея наукової роботи запропонована науковим керівником. Здобувачем у співпраці з науковим керівником здійснено розробку основних теоретичних і практичних положень роботи, визначена мета та завдання дослідження. Автором особисто проведено патентно-інформаційний пошук, здійснено планування роботи, методичні підходи, проведені

молекулярно-генетичні та спектрофотометричні дослідження. Проведено статистичну обробку одержаних результатів, їх оформлення у вигляді таблиць і рисунків, проведено аналіз та узагальнення результатів, сформульовано висновки роботи, опубліковано й апробовано основні положення, написано та оформлено дисертаційну роботу.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дослідження були представлені на науково-практичних конференціях: «Вчені майбутнього» (Одеса, 2008), «Молодь – медицині майбутнього» (Одеса, 2008, 2010), «Наукові дослідження – теорія та експеримент» (Полтава, 2008), «Вікові аспекти схильності організму до шкідливого впливу ксенобіотиків» (Чернівці, 2008), III міжнародний молодіжний медичний конгрес «Санкт-Петербурзькі наукові читання» (Санкт-Петербург, 2009), «Розвиток наукових досліджень» (Полтава, 2009), IX Читання ім. В. В. Підвисоцького (Одеса, 2010), «Клініко-лабораторний консилиум» (Санкт-Петербург, 2011), «Розвиток наукових досліджень» (Полтава, 2011).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 14 наукових робіт, з них 4 статті у наукових фахових виданнях та 10 тез доповідей.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена на 148 сторінках комп'ютерного друку, складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, аналізу і узагальнення результатів дослідження, висновків та списку літературних джерел, з яких 102 викладені кирилицею і 136 – латиницею. Робота містить 39 таблиць та 11 рисунків.

РОЗДІЛ 1

РОЛЬ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНІВ ФЕРМЕНТІВ МЕТАБОЛІЗМУ КСЕНОБІОТИКІВ В РОЗВИТКУ ТОКСИЧНОЇ НЕФРОПАТІЇ У ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ ЛЕГЕНЬ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Епідеміологічна ситуація туберкульозу в Україні є вкрай складною. Відомо, що за останні 10 років рівень захворюваності туберкульозом в Україні зріс на 70 %.[1,2]. Однозначно зросла частота виявлення пацієнтів з важкими деструктивними формами туберкульозу, що свідчить про невчасну, пізню діагностику цього небезпечного захворювання, а також про зріст частоти медикаментозно резистентних мікобактерій туберкульозу, що в свою чергу спричиняє масове використання окрім препаратів I ряду (ізоніазід, рифампіцин, піразінамід, стрептоміцин, етамбутол) резервних препаратів II ряду— офлоксацин, ципрофлоксацин, левофлоксацин, канаміцин, амікацин, капреоміцин, етіонамід, протіонамід, тіоацетазон, кислота пара-аміносаліцилова, циклосерін, рифабутін [3,4], що є більш агресивними та токсичними для хворих.

1.1 Неспецифічні функціональні зміни нирок при туберкульозі легень

Одним з основних принципів антибактеріальної терапії туберкульозу є тривалий та безперервний прийом протитуберкульозних препаратів. На тлі грізних ускладнень хіміотерапії туберкульозу, таких як медикаментозні ураження печінки, які призводять до розвитку токсичного гепатиту [110], токсичне ураження інших систем органів (нервова система, ендокринна система, алергічні реакції, шлунково-кишковий тракт, серцево-судинна система, ураження нирок [106]), на жаль, відходить на другий план у вирішенні проблем профілактики виникнення токсичних змін [5,6]. Туберкульозний процес супроводжується імунобіологічною відповіддю, розладом системного

метаболізму, розпадом тканин та токсемією. В кров потрапляють ендотоксини *M.tuberculosis*, продукти деградації білків, гліко-ліпідних комплексів тощо, підвищується рівень глобулінів та імунних комплексів АГ-АТ («антиген-антитіло»). Нирки беруть активну участь в знешкодженні та, здебільшого, виведенні продуктів фізіологічного обміну речовин, тож в умовах патологічного процесу через орган проходить занадто велика кількість токсичних ендопродуктів, що призводить до залучення резерву ниркової тканини для компенсації патологічних функціональних змін.

Враховуючи те, що більшість антибіотиків екскретується нирками, порушення видільної функції останніх зумовлює не тільки тривалу циркуляцію метаболітів, а також, порушення фармакодинаміки препаратів. При призначенні ПТП необхідно враховувати фенотип метаболізму (повільні, швидкі та надшвидкі метаболізатори) препаратів ферментами детоксикації ксенобіотиків та швидкість їхньої екскреції, оскільки повільна швидкість зумовлює їх токсичні ускладнення, пов'язані з тривалою циркуляцією високих концентрацій неметаболізованої фракції препарату, а дуже висока швидкість його метаболізму зумовлює прискорену втрату препаратом активної форми й підвищення росту частоти медикаментозної резистентності мікобактерій, що замикає коло необхідністю вживання більш токсичних препаратів резервного ряду та ще більше ураження організму, в тому числі нирок [7,8]. Однією з причин токсичності цих лікарських засобів є наявність аміногруп (2 в ізоніазиді, 3 в стрептоміцині) в їхній структурі. Позитивно заряджені ПТП легко зв'язуються з негативно зарядженою гломерулярною базальною мембраною. По-перше, це тимчасово нейтралізує її заряд, а, по-друге, хімічна речовина ендцитозом переноситься до лізосом, що викликає ферментативну деградацію останніх та клітинну смерть. Суть іншого можливого пояснення в тому, що ПТП атакують рибосоми мітохондрій, що еволюціонували від бактеріальних рибосом, і, як наслідок, припинення енергопродукції та порушення проходимості іонних каналів, що призводить до пошкодження та некрозу проксимальних каналців [3].

Так, при дослідженнях морфологічних змін в нирках під впливом протитуберкульозних препаратів в групах морських свинок, що отримували 2 ПТП: ізоніазід і рифампіцин, і 5 ПТП: ізоніазід, рифампіцин, стрептоміцин, піразінамід і етамбутол, встановлено, що у тварин обох піддослідних груп епітелій звитих канальців нирок був набряклий, в стані зернистої дистрофії. Дистрофічні зміни клітин звитих канальців тварин другої групи були більш виражені та часто нагадували гіаліново-крапельну дистрофію. При гістохімічному дослідженні клітин нирок тварин обох підгруп визначалось пригнічення мітохондріальної активності, енергозабезпечення, синтетичних та зниження детоксикаційних можливостей клітин нирок дослідних тварин [9]. В дослідженнях інших авторів було встановлені схожі напрямки ниркових ушкоджень. Після курсового введення гентаміцину та рифампіцину ушкодження на рівні канальців та клубочків нирок виявлялися значним зниженням швидкості клубочкової фільтрації, процесів реабсорбції з протеїнурією, зниженням діурезу та зменшенням осмотичного розведення сечі у щурів [11]. АА-амілоїдоз – системне захворювання, пов'язане з відкладенням в тканинах нерозчинного фібрилярного амілоїдного білка. Відомо, що туберкульоз легень та кістково-суглобової системи – найбільш часті причини амілоїдозу нирок [10]. Автори припускають, що прогресування тубулярних дисфункцій пов'язане з високою концентрацією препаратів в нирках, обумовлених клубочковою фільтрацією та секрецією препарату нирками канальцевого епітелію. При оцінці клінічних особливостей реакцій нирок на токсичну дію антибіотиків було встановлено, що найчастіше порушується концентраційна функція, менш часті порушення кислото-видільної функції, порушення транспорту глюкози та реабсорбції β_2 -мікроальбуміну [12].

1.2 Метаболізм протитуберкульозних препаратів ферментами детоксикації ксенобіотиків

Ступінь розвитку реакції нирок на токсичну дію хіміопрепаратів в значній

мірі визначається метаболізмом протитуберкульозних препаратів. За схемою DOTS з моменту діагностування захворювання на туберкульоз пацієнт отримує 5 протитуберкульозних препаратів I ряду: ізоніазид, рифампіцин, піразинамід, стрептоміцин та етамбутол [13].

Традиційно протитуберкульозні препарати поділяються на препарати I та II ряду. В лікуванні хворих на мультирезистентний туберкульоз (МРТБ) використовують альтернативну класифікацію, засновану на активності, доведеній ефективності та досвіді застосування протитуберкульозних препаратів, що дозволяє формувати режим ХТ. Різні групи протитуберкульозних препаратів наведені у табл. 1.1.

Таблиця 1.1

Альтернативний метод групування протитуберкульозних препаратів

Групи	Препарати (абревіатура)
Група 1 – оральні протитуберкульозні препарати I ряду	Ізоніазид (H), Рифампіцин (R), Етамбутол (E), Піразинамід (Z)
Група 2 – ін'єкційні протитуберкульозні препарати	Стрептоміцин (S), Канаміцин (Km), Амікацин (Am), Капреоміцин (Cm)
Група 3 – фторхінолони	Ципрофлоксацин (Cfx), Офлоксацин (Ofx), Левофлоксацин (Lfx), Моксифлоксацин (Mfx), Гатифлоксацин (Gfx)
Група 4 – оральні бактеріостатичні протитуберкульозні препарати II ряду	Етіонамід (Et), Протіонамід (Pt), Циклосерин (Cs), Терізідон (Trz), Парааміносаліцилова кислота (PAS), Тіоацетазон (Th) ¹
Група 5 – протитуберкульозні препарати з невстановленою ефективністю (не рекомендовані ВОЗ для рутинного призначення хворим на МРТБ)	Клофазимін (Cfz), Амоксицилін/клавуланова кислота (Amx/Clv), Кларитроміцин (Clr), Лінезолід (Lzd)

При лікуванні хворих на МРТБ протитуберкульозні препарати I ряду застосовують в щоденному режимі.

Для лікування хворих на мультирезистентний туберкульоз застосовують стандартні, індивідуальні та емпіричні режими хіміотерапії.

Таблиця 1.2

Протитуберкульозні препарати II ряду, які використовують для лікування хворих на мультирезистентний туберкульоз

Протитуберкульозні препарати (аббревіатура)	Маса тіла пацієнта (кг)	Добова доза (г)
Канаміцин (Km)	≤ 50 або > 50	1,0
Амікацин (Am)	≤ 50 або > 50	1,0
Капреоміцин (Cm)	≤ 50 або > 50	1,0
Етіонамід (Et)	≤ 50 > 50	0,5-0,75 0,75-1,0
Протіонамід (Pt)	≤ 50 > 50	0,5-0,75 0,75-1,0
Циклосерин (Cs)	≤ 50 > 50	0,5-0,75 0,75-1,0
Теризидон (Trz)	≤ 50 > 50	0,5-0,75 0,75-1,0
Офлоксацин (Ofx)	≤ 50 > 50	0,6 0,8
Ципрофлоксацин (Cfx)	≤ 50 > 50	0,75 1,0-1,5
Левовфлоксацин (Lfx)	≤ 50 > 50	0,5-0,75 0,75-1,0
Моксифлоксацин (Mfx)	≤ 50 > 50	0,2-0,4 0,4
Гатифлоксацин (Gfx)	≤ 50 > 50	0,2-0,4 0,4
Натрієва сіль пара-аміносаліцилової кислоти (PAS)	≤ 50 > 50	8-10 10-12
Тіоацетазон (Th)	≤ 50 ; > 50	0,15

Метаболізм цих препаратів відбувається різними шляхами.

Механізм дії ізоніазиду пов'язаний з пригніченням ферментів, необхідних

для синтезу міколієвої кислоти, що є основним структурним фрагментом клітинної стінки *M.tuberculosis*. Через те, що синтез міколієвих кислот найбільш активно відбувається в клітинах, що ростуть, ізоніазид чинить бактерицидну дію на мікобактерії в стадії розмноження та бактеріостатичну – в стадії покою.

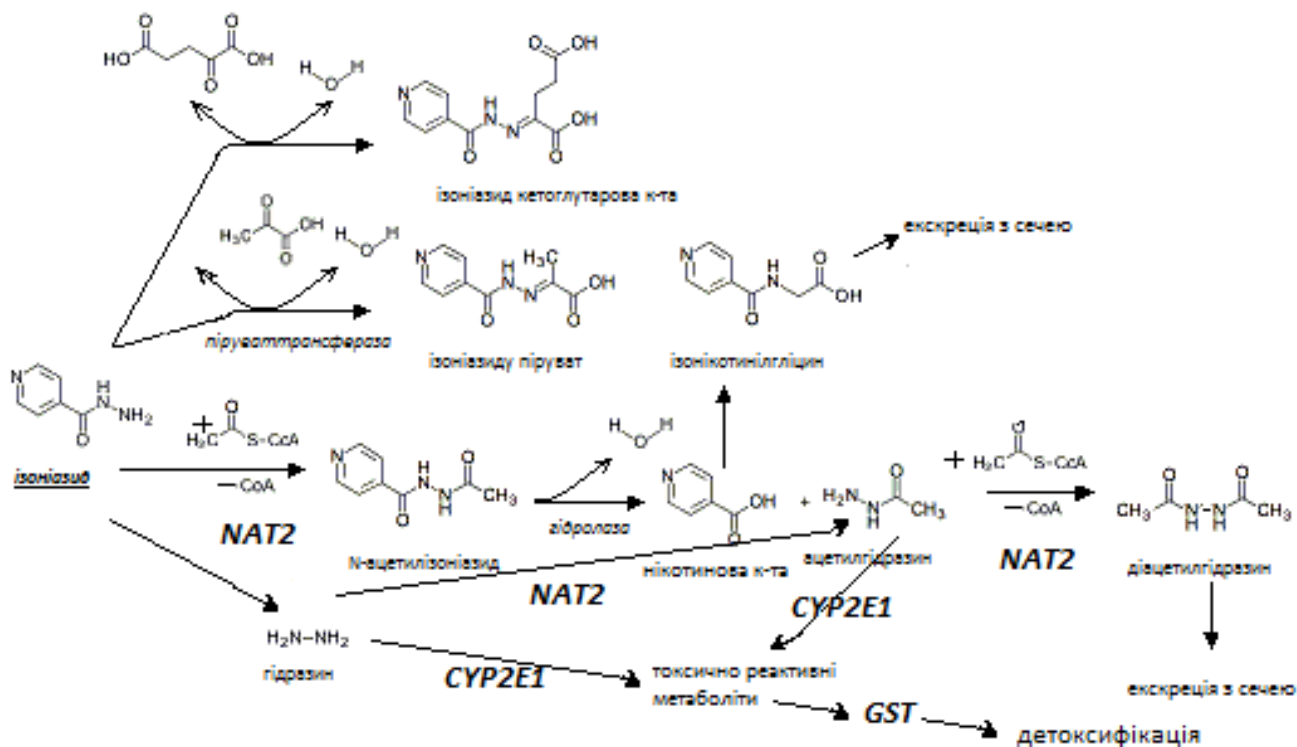


Рис. 1. 1 Метаболізм ізоніазиду

Детоксикація ізоніазиду відбувається за допомогою ариламін-N-ацетилтрансферази-2 (NAT2) з утворенням першого продукту N-ацетилізоніазиду, після гідролізу якого ізонікотинова кислота екскретується в вигляді ізонікотингліцину (див.рис.1.1). В той же час NAT2 працює далі та закриває нефротоксичну аміногрупу ацетилгідразину, що являється сильним нуклеофілом, після чого нетоксичний діацетилгідразин екскретується з сечею [111,115]. Токсичний потенціал прямо пропорційний кількості аміногруп ($-NH_2$). Позитивно заряджені молекули ізоніазиду, ацетилгідразину, що несуть на собі одну аміногрупу, легко зв'язуються з негативно зарядженими молекулами фосфоліпідів клітинної мембрани та поглинаються шляхом ендоцитозу, потрапляють в лізосоми, де не деградують, а накопичуються. Це може призводити до витіку лізосомальних ферментів детоксикації та зпринчинити

клітинну смерть [19]. Утворення ацетилгідазинів здійснюється у печінці, мабуть, під впливом залежної від цитохрому Р-450 монооксигенази. На відміну від інших метаболітів ізоніазиду ацетилгідазини дуже гепатотоксичні. Так як у швидких інактиваторів цих метаболітів утворюється набагато більше, ніж у повільних, у них значно частіше виникає таке ускладнення ізоніазидотерапії у хворих на туберкульоз, як гепатит. Він виникає здебільшого під час приймання ізоніазиду у великих дозах - більше 10 мг/кг на добу, особливо у жінок. Це зумовлено тим, що у жінок інтенсивніше утворюються токсичні ацетилгідазини через більш високу активність цитохрому Р-450 гепатоцитів [190].

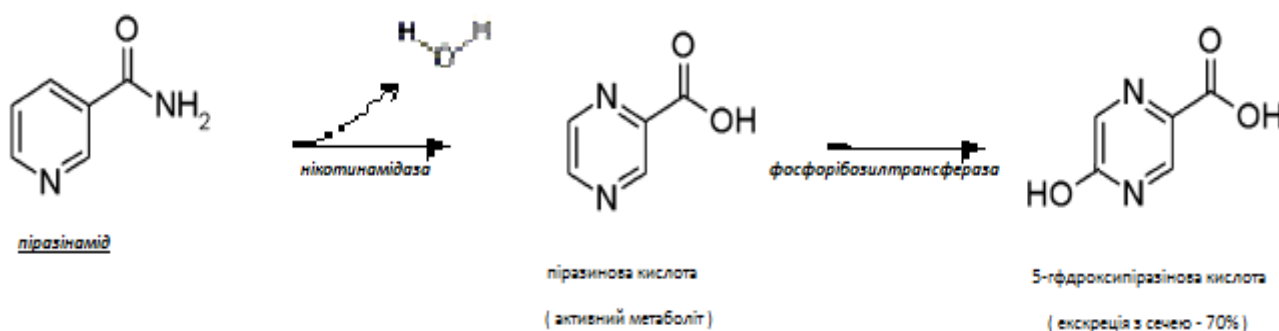


Рис. 1. 2 Метаболізм піразинамиду

Піразинамід діє бактеріостатично на *M.tuberculosis*, що активно діляться. Препарат гідролізується до піразиної кислоти (див.рис.1.2), яка є хімічно активною як в кислому середовищі лізосом, так і в макрофагах. Після процесу гідроксилювання з організму з сечею за рахунок гломерулярної фільтрації екскретується менш токсична 5-гідроксипіразинова кислота.

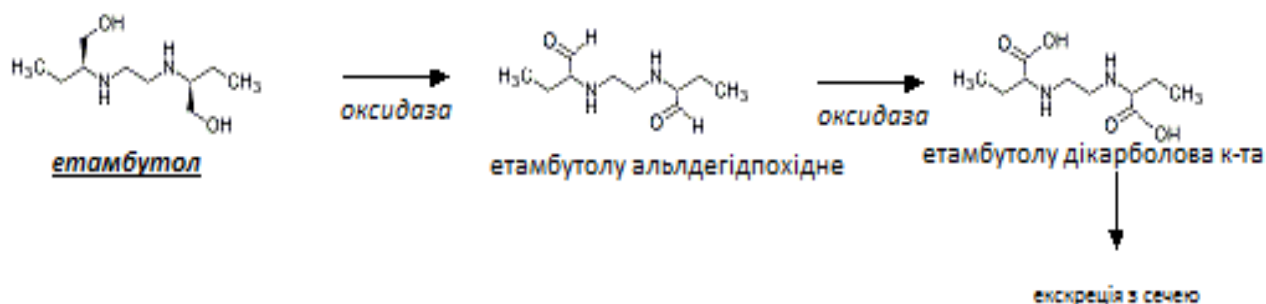


Рис. 1. 3 Метаболізм етамбутолу

Етамбутол діє туберкулостатично, пригнічуючи дію арабінозилтрансферази,

чим спиняє синтез бактеріальної ДНК. В результаті оксидазних реакцій етамбутол перетворюється на дикарбоксильну кислоту (див.рис.1.3), що виводиться нирками. 20 % препарату виводяться в незмінному вигляді.

Рифампіцин інгібує бактеріальну ДНК-залежну РНК-полімеразу, що призводить до гальмування синтезу РНК у бактерій. На РНК-полімеразу людини препарат не діє. На рис. 1.4 показано шлях перетворення препарату. В печінці рифампіцин метаболізується до ще більш активного деацетилованого метаболіту, бо містить більше полярних груп [105].

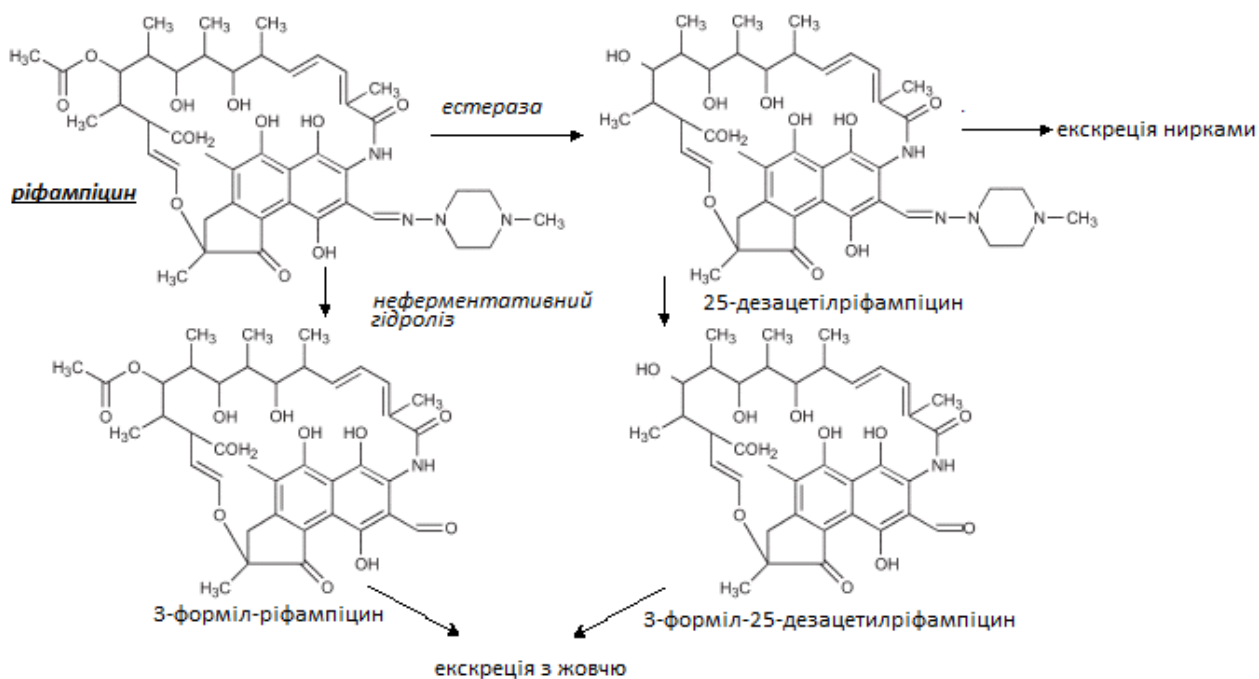


Рис. 1. 4 Метаболізм рифампіцину

Детоксикація рифампіцину відбувається шляхом з'єднання з глюкуроновою кислотою та виведення менш токсичного метаболіту з сечею та жовчю [103].

Рифампіцин потенціює ізоніазидові ураження печінки, особливо у повільних інактиваторів. При такому поєднанні протитуберкульозних препаратів ризик виникнення такого ускладнення різко зростає. Це зумовлено тим (як вважає більшість дослідників), що рифампіцин має властивість індукувати ферменти печінкового метаболізму ксенобіотиків, зокрема монооксигеназу. У зв'язку з цим інтенсивніше метаболізується ізоніазид, у більшій мірі накопичуються ацетилгідазини у печінці. Крім того, гепатотоксичність цих метаболітів зростає через часткове окислення їх у нестабільні високотоксичні продукти.

Вони, фіксуючись на макромолекулах гепатоцитів (переважно білках і ферментах) пошкоджують їх. Вважають, що за таким механізмом проявляється гепатотоксичність хлороформу, чотирехлористого вуглецю, фторотану, парацетамолу, циклофосфану тощо.

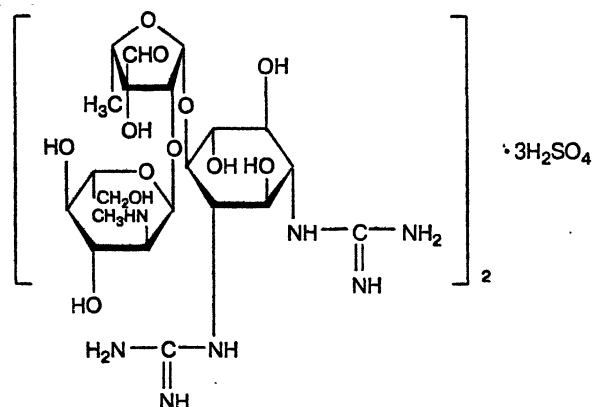


Рис. 1. 5 Будова молекули стрептоміцину

Стрептоміцин, неоміцин, канаміцин відносяться до групи аміноглікозидів, що здатні до порушення синтезу білка в мікробній клітині. Препарати зв'язуються з 30S-субодиницею рибосом бактерії, що заважає руху рибосоми по ланцюгу матричної РНК. Аміноглікозиди також порушують процеси зчитування кодів РНК, що призводить до синтезу функціонально неактивних білків. Також бактерицидний тип дії зумовлюється здатністю до порушення проникливості цитосироваткатичної мембрани мікроорганізмів. Препарати практично не метаболізуються та виводяться нирками в незмінному вигляді, створюючи в сечі високі концентрації.

Молекула канаміцину містить 4 аміногрупи, молекула неоміцину – 6 аміногруп (рис. 1. 6).

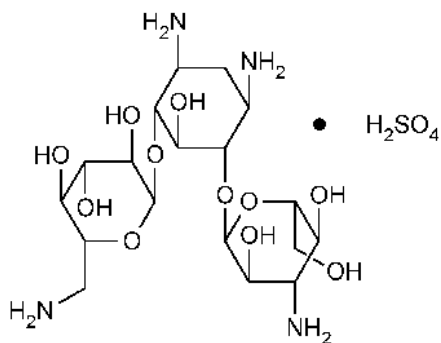


Рис. 1. 6 Будова молекули канаміцину

Молекула стрептоміцину несе на собі 4 вільних аміногрупи, препарат за рахунок гломерулярної фільтрації поступає в сечу на 80 % від первинного об'єму та екскретується з сечею в незмінному вигляді [15-18,20,21].

Гідроксильні групи деактивуються фосфаттрансферазою, та препарати майже повністю виводяться гломерулярною фільтрацією, максимально концентруються в нефроні, що перевищує концентрацію в крові в 10-20 разів [15-18,22,23].

Через 2 міс від моменту діагностування захворювання на туберкульоз бактеріальний аналіз дає результати хіміорезистентності штамів *M.tuberculosis*, що викликали хворобу в того чи іншого хворого.

У випадку резистентності бактерій до препаратів I ряду, призначаються деякі протитуберкульозні препарати II ряду, такі як офлоксацин, левофлоксацин, канаміцин, неоміцин, амікацин, капреоміцин, етіонамід, протіонамід, кислота пара-аміносаліцилова [13].

Офлоксацин повністю всасується в шлунково-кишківниковому тракті (близько 95 %), абсолютна біодоступність – 98 %. Проникає в клітини (лейкоцити, альвеолярні макрофаги) більшості органів та тканин. В печінці (приблизно 5 %) перетворюються на N-оксид офлоксацину та диметилфлоксацину. Виводиться переважно нирками в незмінному стані (80-90 %); позанирковий кліренс складає менше 20 %. Після однократного прийому 0,2г в сечі виявляється протягом 20-24 год.

Циклосерин діє бактерицидно, інгібуючи фермент аланін-D-аланінлігазу та порушуючи синтез клітинної стінки мікроорганізмів. Препарат виводиться нирками, 35 % його перетворюються в невідомий метаболіт.

Еволюційно мітохондріальні рибосоми не втратили чутливості до антибіотиків, тому являються ще однією мішенню до дії хіміопрепаратів. Втрата мітохондріями їхніх функцій призводить до зупинки продукції енергії та порушення прохідної здатності іонних каналів. Результатом цього патологічного ланцюга є некроз клітин проксимальних каналців нирок [19].

Проте, навіть за наявності стійкості до основних препаратів, не всі вони

відмінюються, тому хворий продовжує отримувати декілька з них. Так, найчастіше, залишаються ізоніазид, ріфампіцин та етамбутол, зокрема, ізоніазид. Тому, ферменти, що беруть участь в деактивації ізоніазиду, а це ариламін-N-ацетилтрансфераза-2, та впливаються на час циркуляції та кількість токсичних продуктів обміну цього препарату, мають розглядатись в першу чергу.

1.3 Глутатіон-S-трансферази та N-ацетилтрансферази людини

Більшість ксенобіотиків, що попадають в організм, підлягають біотрансформації не мають прямого біологічного впливу, але насамперед різноманітним перетворенням, так званих [118]. Екзогенні ксенобіотики в процесі детоксикації, як правило, трансформуються в менш активні та більш інертні метаболіти [210,176], але деякі проміжні продукти метаболізму мають токсичні властивості [41].

Система захисту організму від пагубної дії ксенобіотиків включає в себе три фази: I – активацію, II – детоксикацію та III – виведення. Саме генетично обумовлена система біотрансформації, деградації та виведення чужорідних речовин робить зумовлює унікальні індивідуальні властивості організму щодо адаптаційних можливостей, тобто стійкості або чутливості до ушкоджуючих факторів середовища. Причиною генетичних та фенотипових відмінностей «екогенетичних реакцій» є поліморфізм відповідних генів, генів «зовнішнього середовища» [158].

Фаза-I біотрансформації забезпечується, в основному, багаточисельним сімейством ферментів – цитохромів P450, мікросомальною епоксидгідролазою а також іншими ферментами, такими як алкогольдегідрогеназа, альдегіддегідрогеназа та інші. Основні функції цієї фази полягають в утворенні в молекулі субстрату (ксенобіотика) гідрофільних груп, завдяки чому відбувається детоксикація десятків тисяч речовин. Важливою особливістю системи ферментів I-ї фази є їх вибіркова

локалізація та висока потужність на головних шляхах поступлення ксенобіотиків в організм – харчовому (печінка, травний тракт), дихальному (легені, бронхи) та багаточисельність шляхів метаболізму: гідроксилювання, епоксидування, окислення за сіркою та азотом, десульфурація та ін. Проте ферменти цієї системи слабо представлені в інших органах та тканинах, тобто вони не можуть захистити організм при інших способах поступлення. На жаль, вони нерідко ведуть до появи токсичних метаболітів, перетворюючи, наприклад, хлороформ в найсильнішу печінкову отруту – фосген, а нешкідливий парацетамол – в шкідливий метаболіт, що ушкоджує нирки та печінку [133, 165, 202].

Головними механізмами першої фази метаболізму ксенобіотиків є цитохром-НАДФ•Н-залежне окислення, реакції відновлення й гідролізу, що каталізуються ферментами монооксигеназної системи. Завданням фази-1 є перетворення ліпофільних сполук у гідрофільні, реакційно здатні метаболіти, шляхом включення в їх молекули карбоксильних, гідроксильних, сульфгідрильних чи аміногруп, які стають центрами кон'югації. Таким чином, молекули готуються до II-ї, синтетичної фази. Одним з важливих ферментів, задіяних у I-ій фазі, є алкогольдегідрогеназа [144,173].

Відомі декілька десятків тисяч ксенобіотиків, що окислюються за допомогою цитохромів P450. Важливими складовими детоксикаційної системи P450 є форма CYP1A1, яка метаболізує поліциклічні ароматичні вуглеводи, що присутні в продуктах згоряння, цигарковому димі, продуктах нафтопереробки і CYP2E1, що приймає участь в метаболізмі нітрозамінів, етанолу і речовин з низькою молекулярною масою. Відповідні гени картовані на 15 і 10 хромосомах в ділянках довгих плечей: 15q22–q24 (CYP1A1) та 10q24.3–qter (CYP2E1). Установлений взаємозв'язок між низькою вагою новонароджених і поліморфізмом двох генів: CYP1A1 і GSTT1 [111, 159]. Проведеними дослідженнями виявлена кореляція між поліморфізмом CYP1A1 і CYP2E1 і схильністю до легеневих захворювань

[227].

Епоксидгідролази є ферментами нецитохромного окислення та відіграють важливу роль в активації й детоксикації поліциклічних ароматичних гідрокарбонів [123]. Відомо, що мікросомальна епоксидгідролаза (mEPXH – одна з чотирьох ізоформ) може бути у двох функціональних формах, «повільній» і «швидкій» із різною ензиматичною активністю. Багатьма дослідженнями встановлено асоціацію між зниженою активністю mEPXH та схильністю до онкологічних захворювань та хронічних обструктивних захворювань легень [155].

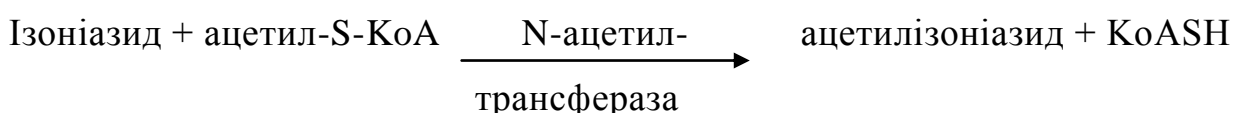
До генів детоксикації II-ї фази відноситься суперсімейство глутатіонтрансфераз [111, 168, 230, 237]. Ферменти II-ї фази біотрансформації, головним призначення якої є нейтралізація (деактивація, детоксикація) гідрофільних та часто токсичних продуктів фази 1 за допомогою різних гідролаз та трансфераз, наявні у всіх клітинах [139]. Вони функціонують при любых шляхах поступлення ксенобіотиків, здійснюють або завершують детоксикацію, а інколи виправляють помилки першої фази. У цій фазі приймають участь глутатіонтрансферази, глюкуронілтрансферази, сульфотрансферази, ацетилтрансферази, метилтрансферази, які перетворюють токсичні проміжні продукти метаболізму фази-1 в полярні, водорозчинні, нетоксичні сполуки, що підлягають виведенню з організму [86, 187, 108]. Під час II-ї фази відбуваються ферментативні реакції кон'югації гідрофільних метаболітів, що утворились в I-ій фазі, а також – екзогенних електрофільних сполук з утворенням нетоксичних продуктів, що легко виводяться з організму [86, 183, 194]. Детоксикація при допомозі глутатіону відіграє ключову роль у забезпеченні резистентності клітин до перекисного окислення ліпідів, вільних радикалів, алкілуванню білків та у попередженні пошкоджень ДНК [228]. Крім того, глутатіонтрансферазі M1 належить важлива роль внутріклітинних переносників білірубінів, гормонів, а також у біосинтезі деяких фізіологічно активних речовин. GST присутні в найрізноманітніших

тканинах і виявляють виражену між тканинну різницю у відношенні різноманітних класів глутатіонтрансфераз. Особливо висока їх концентрація в печінці, плаценті, легенях, головному мозку, нирках, кишківнику [112, 216].

Крім глутатіонтрансфераз, існують два типи ферментів N-ацетилтрансферази – NAT1 та NAT2 [161]. Обидва гени, які відповідають за їх синтез, ідентифіковані, клоновані та картовані в ділянці 8p21-p23. Обидва ферменти забезпечують фазу-2 детоксикації шляхом ацетилювання багатьох ксенобіотиків, особливо ліків, які містять ароматичні амінні або гідразинові групи, наприклад, сульфаніламід, ізоніазид, клонозепам, кофеїн. До субстратів, які детоксуються NAT1 та NAT2, відносяться також токсичні нітрозаміни у цигарковому димі, оксидантах та пестицидах.

Вважають, що існує декілька (не менше двох) видів ацетилтрансферази, які беруть участь у метаболізмі ксенобіотиків. Найбільш вивчена N-ацетилтрансфераза, яка забезпечує біотрансформацію похідних гідразиду ізонікотинової кислоти, зокрема ізоніазиду, а також таких лікарських засобів, як сульфадимезин, апресин, фенелзин, диафенілсульфон.

Цей фермент локалізується в печінці людини, мавпи, щурів, кролів і інших тварин, а також у слизовій оболонці тонкої кишки, але з меншою активністю. Знаходиться він, ймовірно, не в цитоплазматичній сітці, а в мітохондріях. Активність N-ацетилтрансферази не змінюється під впливом агентів внутрішнього і зовнішнього середовища. Лише у новонароджених дітей інколи трапляється тимчасове уповільнення знешкодження ізоніазиду через дефіцит пантотенової кислоти – структурного елемента цього ферменту. Метаболізм вказаних лікарських засобів, який забезпечується ним, проходить шляхом передачі ацетильного радикала від ацетил-КоА до препарату з утворенням ацетилпохідних метаболітів.



Вивчення ролі N-ацетилтрансферази в метаболізмі лікарських засобів, як і їх фармакогенетики, почалось після введення в клінічну практику ізоніазиду, коли виникла необхідність у виявленні сутності відмінностей в індивідуальній реакції організму на його введення. Вже перші клінічні спостереження показали, що хворі на туберкульоз неоднаково реагують на цей хіміотерапевтичний препарат. Одні хворі переносять його добре, в інших набагато частіше виникають такі небажані ефекти, як головний біль, запаморочення, подразливість, безсоння, нудота, блювання, втрата апетиту, біль за грудниною, тахікардія.

Виявилось, що в основі неоднакового реагування хворих на ізоніазид лежить різна інтенсивність його метаболізму. Встановлено, що після однократного внутрішньом'язового введення стандартної дози ізоніазиду (4 мг на 1 кг маси тіла хворого) в одних хворих виділяється з сечею близько 6-7 % введеної кількості препарату у вигляді ацетилізоніазиду, в інших - майже вдвічі більше. Це зумовлено тим, що в першій групі хворих метаболізм ізоніазиду через ацетилювання здійснюється менш інтенсивно, ніж у іншій. Концентрація його в крові буде вищою у тих осіб, у яких цей процес проходить повільніше, нижчою - у хворих з високою інтоксикацією. Період напіввиведення ізоніазиду в осіб, які швидко інактивують, становить 45-80 хв, у повільно знешкоджувальних - 140-200 хв і більше.

Встановлено, що відмінності в швидкості ацетилювання ізоніазиду у хворих зумовлені різною каталітичною активністю N-ацетилтрансферази: при швидкій інактивації вона висока, при зниженій - набагато нижча. Інші параметри цього ферменту, як-от константа Міхаеліса, субстратна специфічність, термостабільність залишаються однаковими. Тому слід вважати, що відмінності в каталітичній активності N-ацетилтрансферази є лише кількісними. Мабуть, у хворих зі швидкою інактивацією її синтезується більше, при повільній - менше.

Визначення швидкості ацетилювання ізоніазиду має велике практичне

значення не тільки з прогнозування негативних реакцій хіміотерапії, але й у зв'язку з необхідністю індивідуалізації лікування. Хворим, які відносяться до фенотипу швидких інактиваторів ізоніазиду, цей препарат, як і інші засоби, які метаболізуються N-ацетилтрансферазою, призначають в більших дозах, ніж тим, які є повільними інактиваторами. Зокрема хворим на туберкульоз ізоніазид призначають у добовій дозі 0,9 г швидким інактиваторам, а 0,6 г – повільним. Крім того, призначення цього протитуберкульозного засобу хворим, в яких метаболізм здійснюється повільно, доцільно поєднувати його з вітаміном В6 (піридоксину гідрохлоридом), бо він попереджує виникнення таких ускладнень, як поліневрит, гепатит тощо.

Активність NAT спостерігається в печінці, легенях, товстому кишківнику, нирках та сечовому міхурі [164]. Численні біохімічні дослідження великих сімей та популяційних вибірок дозволили встановити наявність «швидких» та «повільних ацетиляторів». Причиною молекулярної основи «швидких» та «повільних ацетиляторів» є поліморфізм, обумовлений мутаціями гену *NAT2* [152]. Активність ферментів ацетилювання в усіх «повільних ацетиляторів» знижена в порівнянні з нормою («швидкими ацетиляторами») в середньому на 20 %. Істотним є те, що завдяки різноманітним модифікаціям детекція швидких та повільних алелей *NAT2* за схемою «ПЛР – рестрикція – електрофорез – візуалізація» [86] можлива навіть із плям крові, які нанесені на фільтрувальний папір. Останнє робить реальним скринування «швидких» та «повільних ацетиляторів» в популяції [181]. Численними дослідженнями чітко встановлена асоціація поліморфізмів *NAT2* із різноманітними захворюваннями та з різноманітною чутливістю до лікарських препаратів [186, 137, 167, 234].

Разом з тим, «швидке ацетилювання» далеко не завжди сприятливе. Установлено, що «швидкі ацетилятори» мають достовірно більший популяційний ризик несімейного раку товстої кишки, який рідше

спостерігається в «повільних ацетиляторів» [172, 165, 119]. Однак, повільне ацетилювання в цілому містить у собі більше прихованої небезпеки для організму, ніж швидке, коли інактивація виникаючих у фазі-1 токсичних продуктів не відбувається або затримана в часі. При цьому реакційно здатні електрофільні метаболіти (вільні радикали, перекиси, спирти та ін.) при взаємодії з макромолекулами клітини, можуть індукувати цитотоксичний та мутагенний ефекти. У висновку необхідно відзначити, що в організмі біохімічні функції системи NAT чітко скоординовані з функціями інших ферментів детоксикації, у тому числі з Системою Метаболізму ліків в клітині, яку іноді розглядають у складі комплексу ферментів евакуації ксенобіотиків з організму – фази-III детоксикації [108, 135].

Фаза-III біотрансформації – евакуація – виведення з організму продуктів детоксикації здійснюється через легені, нирки, кишківник. Важлива роль у цих процесах належить білку сироватки крові – альбуміну, який зв'язує та транспортує метаболіти екзогенних та ендогенних субстратів, у тому числі продукти I-ї фази та II-ї фази детоксикації. Більшість гідрофільних ксенобіотиків після біотрансформації та деградації через каскад детоксикації поступають з клітин у кров, звідки вони виводяться із сечею. Ксенобіотики великої молекулярної маси (>300 кДа) та підвищеної гідрофобності виводяться з жовчю [128]. Завданням III-ї фази є захист від дії вільних радикалів та перекисних сполук, що утворюються при метаболізмі ксенобіотиків [86].

Ефект ксенобіотиків визначається, в першу чергу, класом токсичності речовини, тривалістю її дії, віком та індивідуальною чутливістю до неї організму [36]. На сьогодні є добре вивчені загальні механізми дії ксенобіотиків:

- генотоксичність – порушення структури та процесів репарації ДНК, нестабільність хромосом, хромосомні аберації;

– ферментотоксична дія – зв’язування SH-груп ферментів або заміщення есенціальних металів із металоферментів, пригнічення мітохондріального дихання та порушення ферментів дихального ланцюга циклу Кребса [33];

– мембранопатологічна дія – посилення перекисного окислення ліпідів.

Активні продукти I-ї фази метаболізму ксенобіотиків (дезацетилріфампін, піразинова кислота [34]) поступають в загальний кровотік і можуть негативно впливати на функцію систем організму. З печінки надходять в кров також продукти II-ї фази метаболізму (дезацетилріфампін [98]). З крові продукти перетворення можуть захоплюватися нирками (глюкуроновий кон’югат дезацетилріфампіну [36]), легеньми, іншими органами, повторно печінкою для екскреції з жовчю (дезацетилріфампін [42]). З жовчю метаболіти надходять в порожнину кишок, де частково реабсорбуються і повторно надходять в печінку (цикл печінкової рециркуляції). Не дивлячись на домінуючу роль печінки в метаболізмі ксенобіотиків, інші органи також беруть участь в цьому процесі [26,27]. Нирки містять такі важливі ензими I і II фаз метаболізму як глутатіон-S-трансфери [101], аріламін-N-ацетилтрансфери 2, сульфотрансфери. З ферментів другої фази найбільш представлені NAT2, а також *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTM3* і *GSTP1* [98].

Детоксикація (II фаза) грає ключову роль в метаболізмі ксенобіотиків, у тому числі, більшості лікарських засобів. Важливу роль тут відіграють ферменти суперсімейства глутатіон-S-трансфераз [107], а, також, аріламін-N-ацетилтрансфери 2.

До функціональних поліморфізмів генів належать:

- точкові мутації в кодуючих районах генів, що обумовлюють амінокислотні заміни. У результаті цього змінюється каталітична активність, ферментативна стабільність і / чи субстратна специфічність;

- дупліковані гени, що визначають підвищений рівень ферментів в організмі;

- повністю або частково делетовані гени, обумовлюють втрату генного продукту;

- варіанти, які виникають в результаті порушення сплайсингу, що призводить до зміни білкових продуктів [1,13,14,44,60].

Гени «схильності» поділяються на гени «зовнішнього середовища», гени-тригери та гени рецепторів. Гени, які кодують ферменти, що приймають участь у фазах I та II детоксикації, відносяться до генів «зовнішнього середовища» (алкогольдегідрогеназа) та генів-тригерів (*GSTM1*, *NAT2*) [11,21,100].

Група генів-тригерів представлена генами, білкові продукти яких відіграють ключову роль у механізмах активації та деградації природних метаболітів (наприклад, амінокислот). Якщо внаслідок мутації функція цих генів порушується, вони можуть стати причиною схильності організму до важких мультифакторних захворювань [3,59,104]. Самостійною групою генів схильності виступають гени рецепторів, що кодують структуру та функції мембранних білків, які визначають внутрішньоклітинне надходження ксенобіотиків та інфекційних агентів. Функціонально неповноцінні варіанти генів схильності створюють схильність до різних захворювань. Тестування генів схильності дозволяє встановити асоціацію між функціонально неповноцінними алелями та реакцією організму на вплив ксенобіотиків. У залежності від особливостей геному, різні індивідууми можуть зберігати стійкість, або, навпаки, виявляти підвищену чутливість до пошкоджуючих агентів [94].

На поліморфних генах N-ацетилтрансферази-2 (*NAT2*) синтезуються ферменти, що метаболізують різні канцерогени тютюнового диму [24,27]. *NAT2* бере участь в метаболізмі ліків, у тому числі при взаємодії лікарських взаємодіях. Ознака швидкості ацетилювання ізоніазиду передається за спадковістю. Вважають, що вказані дві групи людей складають самостійні фенотипи. Фенотип повільних інактиваторів ізоніазиду відповідає гомозиготі рецесивним геном, який визначає ознаку метаболізму цього

препарату методом ацетилювання. Фенотип швидких інактиваторів відповідає або гетерозиготному генотипу, що має один рецесивний ген, чи гомозиготному, який не має такого гена [150,204]. Різна здатність NAT2 N-ацетилювати різні ксенобіотики пов'язана з поліморфізмом гена *NAT2* [52,81,96,102]. Залежно від варіантів активності останнього, всіх людей можна розділити на три групи – повільних, швидких та надшвидких ацетиляторів. Повільні ацетилятори (гомозиготи за рецесивними формами гена *NAT2*), мають два «повільних» аллеля, тому рівень експресії білка NAT2 у них понижений на 20 % [54,56]. Швидкі (гетерозиготи) ацетилятори мають один з «швидких» аллелей *NAT2* дикого типу, надшвидкі (гомозиготи за домінантними формами гена) мають обидва з «швидких» аллелей *NAT2* дикого типу. Приблизно 50 % європейців є повільними ацетиляторами, але наявність повільних або швидких ацетиляторів різна, залежно від географічного регіону [56].

Фенотип швидких інактиваторів ізоніазиду серед білого населення Європи і Америки становить близько 42 %, тоді як серед японців, китайців, корейців і ескімосів – 10 %. Клінічним тестом, який в наш час використовується для визначення швидкості ацетилювання ізоніазиду у хворих, є величина концентрації його в плазмі через 6 год після одноразового приймання його всередину в дозі 10 мг на 1 кг маси тіла. Якщо вміст ізоніазиду становить приблизно 1 мкг на 1 мл плазми, то хворого відносять до фенотипу швидких інактиваторів, а близько 5 мкг/мл – до фенотипу повільних [141,233].

Багатофункціональне суперсімейство глутатіон-S-трансфераз відіграє суттєву роль у забезпеченні резистентності клітин до перекисного окислення ліпідів, вільних радикалів, алкілуванні білків; метаболізмі великої групи ксенобіотиків, до якої входять хіміотерапевтичні препарати [91-93].

Виділено 8 класів глутатіон-s-трансфераз: α , μ , θ , π , ζ , Ω , Δ і κ . Більш детально вивчені μ , θ , π класи глутатіон-s-трансфераз [94]. Глутатіон-s-трансфераза- μ (GSTM1) кодується геном, розташованим на хромосомі

1p13.3 [161], і, в порядку зменшення, експресується в наступних органах: печінка, яєчка, мозок, надниркові залози, нирки, підшлункова залоза, легені і серце.

Глутатіон-S-трансфераза- θ (*GSTT1*) кодується геном, картованим в хромосомі 22p11.2 [161], і в порядку зниження експресується в наступних органах: нирки, печінка, тонкий кишечник, мозок, селезінка, простата, підшлункова залоза, яєчка, серце, легені.

Однією з характерних особливостей ферментів цієї групи, зокрема, глутатіон-S-трансфераза- μ (*GSTM1*) та глутатіон-S-трансфераза- θ (*GSTT1*), є міжіндивідуальна внутрішньопопуляційна варіабельність, зумовлена генетичним поліморфізмом [32,60,65,66]. Останній визначає поділ популяції на групи, що різняться за швидкістю детоксикації ксенобіотиків та ендогенних субстратів. Виявлено генний поліморфізм *GSTM1* і *GSTT1*, зумовлений наявністю протяжної делеції ділянки гена (близько 20kb), в результаті чого порушується синтез молекули ферменту [161]. За результатами багатьох досліджень поліморфізм глутатіон-S-трансфераз, зокрема, гомозиготних делецій (нуль-алель) *GSTM1* і *GSTT1*, є однією з причин чутливості до шкідливої дії факторів довкілля і розвитку різних захворювань [2,16,23,61-64,67,82,85].

Як і печінка, нирки є одним з самих важливих органів детоксикації ксенобіотиків. Вперше це було встановлено в дослідженнях з пентилентетразолом, що спричиняє у тварин судомний ефект [22]. Введення цієї речовини тваринам *per os* (що обумовлює проходження через печінку) не знижувало її активність, а перев'язка судин нирок різко підвищувала чутливість тварин до неї.

Глутатіонопосередкована детоксифікація бере безпосередню участь у захисті організму від оксидативного стресу, що виправдовує вивчення поліморфізму генів глутатіон S-трансфераз у патогенезі різних патологічних станів.

В тканинах людини експресуються три класи цитозольних ферментів: кислі, нейтральні та основні глутатіон-S-трансферази, що відрізняються структурно та функціонально [119]. Основні глутатіон-S-трансферази, також відомі як лігандіни, знаходяться в проксимальних звитих каналцях [109]. В нормі цей клас не знаходять в сечі, але він з'являється при ураженнях каналців, що виникають при ішемії, токсичності Cis-platinum, токсичному ураженні гентаміцином та іншими протитуберкульозними препаратами. Наявність в сечі кислої та основної форм глутатіон-S-трансфераз може бути діагностичним критерієм для оцінки інтоксикації препаратами групи циклоспоринів [39].

Таким чином, знання експресії генів ферментів метаболізму в різних органах і тканинах, а також виявлення їх субстратної специфічності створюють можливість пояснення тканинспецифічного метаболізму ксенобіотиків [40]. Однак для цього необхідне вивчення специфічної взаємодії ферментів I-й і II-ї фази в метаболізмі різних за хімічним складом ендогенних і екзогенних ксенобіотиків, у тому числі, і лікарських препаратів та генотипування поліморфних генів [41].

Підвищення ефективності хіміотерапії та зниження частоти токсичних ускладнень значною мірою залежать від індивідуальних особливостей метаболізму основних хіміотерапевтичних засобів. При призначенні протитуберкульозних препаратів необхідно враховувати фенотип ацетилювання (ізоніазід, піразинамід, ріфампіцин) і швидкість їхньої екскреції, оскільки біотрансформація в організмі проходить за участю ацетилювання, повільна швидкість якого зумовлює токсичні ускладнення їх вживання, що пов'язані з тривалою циркуляцією високих концентрацій неметаболізованої фракції препарату, в той час як дуже висока швидкість зумовлює швидку втрату препаратом активної форми й підвищення росту частоти медикаментозної резистентності мікобактерій, що замикає коло необхідністю вживання більш токсичних препаратів резервного ряду та ще більше ураження організму, в тому числі нирок.

Відмічений вплив поліморфізму за генами *GST* та *NAT2* на наявність ускладнень в процесі лікування туберкульозу. В азіатських популяціях *GSTM1*-null генотип асоційований з підвищеним ризиком гепатотоксичного ефекту протитуберкульозних препаратів, але для *GSTT1*-null генотипу подібний ефект не виявлений [42]. Проведені дослідження показали, що гідразин, який утворюється внаслідок гідролізації ізоніазиду і має тенденцію до накопичення власне у хворих з *GSTM1*-null генотипом [43], та моноацетилгідразин, що накопичується у повільних ацетиляторів з наявністю алелів *NAT2**5 та *NAT2**6 [44], можуть призвести до нефро- та гепатотоксичності. Повільні ацетилятори не можуть в потрібній мірі знешкодити відкриті аміногрупи молекул ПТП та їхніх метаболітів, що дуже легко зв'язуються з клітинною мембраною, запускаючи тим самим процес загибелі клітини [45]. В той же час, дослідження асоціації серед осіб європеїдної раси виявили підвищену частоту гепатотоксичних ускладнень у хворих на легеневий туберкульоз з *GSTT1*-null генотипом, а в випадку делеції гена *GSTM1* подібний ефект не спостерігався [46]. Показано, що повільні ацетилятори, ідентифіковані на підставі оцінок як генетичного, так і фенотипічного поліморфізму *NAT2*, більш схильні до гепатотоксичності в порівнянні з швидкими ацетиляторами, що проявляється більш вираженим збільшенням активності трансаміназ [47].

Так як гени біотрансформації ксенобіотиків беруть участь у метаболізмі ліків, то вони часто є відповідальними за побічні ефекти лікарської терапії [48-51]. Труднощами медикаментозного лікування такого соціально значущого захворювання, як туберкульоз легень, є часті побічні реакції. Ізоніазид, що метаболізується в основному N-ацетилтрансферазою 2 (*NAT2*), з початку його використання залишається одним з найбільш широко використовуваних препаратів в лікуванні туберкульозу. *NAT2*-залежний метаболізм ізоніазиду в нетоксичний ацетілizonіазид і далі, в ацетилгідразин і діацетилгідразин, служить противагою для амідазо-залежного шляху, в результаті якого утворюється токсичний гідразин [52],

що шкодить багатьом системам та органам, зокрема клітинам канальців нирок [19].

1.4 Інформативність різних методів дослідження функціонального стану нирок

Є припущення, що найбільш вірогідним патогенетичним механізмом нефротоксичного ефекту є негативний вплив як на кров'яні судини, так і на канальцевий епітелій нефрона. Тривалий курс терапії антибіотиками може призвести навіть до гострої ниркової недостатності. Але, зважаючи на великий нирковий резерв, доки залишається до 30-40 % нефронів, ці порушення ниркової тканини можуть не проявлятися клінічно. Найбільш достовірні дані для розпізнавання ранніх функціональних розладів (по типу токсикоінфекційної нирки) у хворих на туберкульоз можна отримати лише при дослідженні фільтраційно-реабсорбційної функції креатиніновою пробою. Чисельними дослідженнями підтверджено, що коефіцієнт виділення ендogenous креатиніну – доволі цінний показник визначення функції нирок при різних їх ураженнях. Якщо рівень сечовини у хворих з компенсованою функцією нирок залежить від кількості прийнятої рідини, вмісту білків в їжі та функції печінки, то кількість креатиніну в крові і коефіцієнт його виділення більш постійний, та не залежить від екстраренальних факторів, в тому числі й дебіта сечі [53].

При першому дослідженні помірне зниження приблизно до 60 мл/хв основного ниркового процесу сечоутворення – клубочкової фільтрації – може супроводжувати інфільтративну фазу туберкульозного процесу (токсико-інфекційна нирка). Таке зниження не є протипоказанням до вживання потенційно нефротоксичних антибіотиків, а, у міру зняття явищ туберкульозної інтоксикації величина клубочкової фільтрації доволі часто наростає. Зниження фільтрації в процесі лікування слід розглядати як прояв побічної дії ліків.

Зниження концентраційної здатності нирок, про що свідчить зменшення реабсорбції води в канальцях нижче 97 % і концентраційного індексу ендogenous креатиніну нижче 40, завжди говорить про значну давність і поширеність патологічного процесу в нирках і функціональну їх неповноцінність [54].

Мікроальбумінурія – це виділення нирками (шляхом клубочкової фільтрації) альбуміну в кількості, виявити яку за допомогою звичайних лабораторних методів (клінічний аналіз сечі, наприклад, шляхом осадження сульфосаліциловою кислотою) не вдається – від 30 до 300 мг/добу чи від 20 до 200 мкг/хвилину. При відсутності інфекції сечовидільних шляхів та гострого захворювання підвищена екскреція альбумінів с сечею, як правило, відображає патологію клубочкового апарату нирок [55].

Найчастіше мікроальбумінурія є ознакою первинних або вторинних функціональних чи органічних уражень тубулогломерулярного апарату нирок і може свідчити про генералізоване ушкодження судинної системи та прогресування ниркової недостатності [56]. Потрібно пам'ятати, що мікроальбумінурія зустрічається не тільки при патологічних змінах ниркових клубочків, але й при ураженнях інтерстицію канальців внаслідок порушення реабсорбції білків. При ураженні епітелію канальців мікроальбумінурія супроводжується підвищеною екскрецією імуноглобулінів (IgG), яку також не вдається виявити класичними методами, що потребує проведення додаткових досліджень [57].

В останні роки широко проводяться дослідження й удосконалення методу лазерно-кореляційної спектроскопії, який ґрунтується на зміні спектральних характеристик монохроматичного когерентного випромінювання гелій-неонового лазера в результаті світлорозсіювання при проходженні через дисперсну систему. Взаємодія випромінювання зі світлорозсіюваними частками розширює спектр розсіяного світла. Зміна його частоти відбувається пропорційно швидкості руху часток, що залежить від їх розмірів. Завдяки цьому методу можливо вивчати зміни системи

макромолекулярного складу біорідин у відповідь на розвиток патологічного процесу. Характер макромолекулярних зсувів в сечі, сироватці крові від норми в бік однієї або декількох фракцій (інтоксикаційно-подібні, катаболічно-подібні, дистрофічно-подібні, алерго-подібні, аутоімуно-поібні, алерго-інтоксикаційно-подібні, аутоімуно-інтоксикаційно-подібні та алерго-дистрофічно-подібні) можуть буди додатковими діагностичними критеріями початку патологічних змін та використовуватись для ранньої превентивної діагностики токсичного ураження ПТП тканин нирок на стадії уявного клінічного благополуччя у хворих на легеневий туберкульоз [55].

Висока чутливість методу лазерної кореляційної спектроскопії (ЛКС) відносно білкових інгредієнтів дозволяє використовувати його не лише для аналізу сироватки та сироватки крові, але й для реєстрації білкових складових сечі, котра за результатами більшості загальних методів вважається вільною від білка [56]. Наприклад, було встановлено, що при гломерулонефриті переважали зміни ЛК-спектра, пов'язані зі збільшенням внеску в світлорозсіювання низько- і середньомолекулярних субфракцій (від 0 до 50 нм і від 51 до 200 нм). Тоді як при пієлонефриті і сечокам'яній хворобі збільшувалася екскреція з сечею високо- і надвисокомолекулярний субфракцій (від 200 до 600 нм і вище) [57]. При одночасному дослідженні сироватки крові і складу сечі за варіантами збігів спрямованості встановлених зрушень можна об'єктивно судити не тільки про вираженості цих зрушень, а й про поширення зареєстрованих дисрегуляцій (локалізовані або генералізовані). Очевидно, що на даних принципах може ґрунтуватися оцінка індивідуальної функціональної напруги, що дозволить об'єктивно оцінювати, по-перше, ефективність лікарської терапії хворих на туберкульоз, а, по-друге, ступінь токсичного впливу на загальний та місцеві макромолекулярні системи, зокрема, сечу.

Отже, як видно з огляду літератури, епідемія туберкульозу зростає – на теперішній час, чисельність хворих на туберкульоз в світі складає близько 60 мільйонів. Серед випадків захворювань зросла частота медикаментозно

резистентних мікобактерій туберкульозу, що, в свою чергу, спричиняє масове використання, окрім препаратів I ряду, резервних препаратів II ряду, що є менш ефективними, але більш агресивними, та більш токсичними для різних систем організму хворих. Численними дослідженнями було встановлено, що майже від початку розвитку туберкульозного процесу в легеневій тканині відбувається неспецифічне ураження нирок шляхом розвитку імунної реакції за типом антиген-антитіло, циркулюючі імунні комплекси осідають на базальній гломерулярній мембрані та порушують функцію нирок. При цьому рівень патологічних порушень в нирках традиційно визначається проявом маркерів, що маніфестують виникнення ниркових ускладнень. Однак, традиційна клініко-лабораторна діагностика функції нирок в диференціації тяжкості впливу туберкульозного процесу на орган не є достатньо інформативною в визначенні доклінічних порушень функціонального стану нирок. Лазерна кореляційна спектроскопія біологічних рідин є ефективним допоміжним методом розрізнення патогномонічних порушень макромолекулярного складу біорідин.

Відмічений вплив поліморфізму за генами *GST* та *NAT2* на наявність ускладнень в процесі лікування туберкульозу. Проведені дослідження показали, що гідразин, який утворюється внаслідок гідролізації ізоніазиду, має тенденцію до накопичення власне у хворих з *GSTM1*-null генотипом, та моноацетилгідразин, що накопичується у повільних ацетиляторів з наявністю алелів *NAT2*5* та *NAT2*6*, можуть призвести до нефротоксичності.

Отже, все вищеперераховане визначає актуальність та доцільність проведення подальших досліджень з метою визначення ролі поліморфізму генів *GST* та *NAT2* в розвитку патофізіологічних механізмів порушень видільної функції нирок у хворих на туберкульоз легень та можливість застосування методу ЛКС як додаткового способу отримання патофізіологічних критеріїв розвитку преморбідних станів.

Матеріали розділу представлені в наступних наукових працях:

Сметюк О. О. Важливість превентивної діагностики токсичного ураження нирок протитуберкульозними препаратами у хворих на туберкульоз легень / О. О. Сметюк // Розвиток наукових досліджень 2009 : V міжнар. наук.-практ. конф., 23–25 лист. 2009 р., Полтава : тези доп. – Полтава : ІнтерГрафіка, 2009. – Т. 7. – С. 102–104.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

В дослідженні брали участь 172 хворих на туберкульоз (ТБ) легень, що лікувались в Одеській обласній клінічній протитуберкульозній лікарні (ООКПТЛ) з відділенням інвалідів Великої вітчизняної війни. Клінічні та молекулярно-генетичні дослідження проводилися на базі загально-клінічної та бактеріологічної лабораторій даної лікарні, науково-дослідної лабораторії клінічної біофізики та актуальних інфекції ОНМедУ та лабораторії молекулярної біології Санкт-Петербурзького НДІ ядерної фізики (РФ). На підставі історій хвороби проаналізовані соціально-демографічні дані, показники загального аналізу крові та сечі, рівень глюкози та ліпопротеїнів крові. Контрольну групу склали 34 практично здорові особи, у яких визначали аналогічні показники. Окрему групу склали 205 практично здорових осіб, у яких проведені дослідження поліморфізму *GST*. Робота була виконана на кафедрі клінічної імунології, генетики та медичної біології ОНМедУ.

2.1 Контингент обстежених хворих

Загальна вибірка хворих на туберкульоз легень.

Вибірку склали 172 пацієнта, середній вік $\pm S.D.$ яких був $39,6 \pm 20,4$, из них 53 жінки, середній вік $\pm S.D.$ яких був $31,3 \pm 10,6$ років та 119 чоловіків, середній вік $\pm S.D.$ яких був $39,4 \pm 20,1$ років. Діагноз легеневого туберкульозу у всіх хворих був встановлений базуючись на лінічних даних, даних мікроскопії мокротиння з обов'язковим рентгенологічним дослідженням легень для визначення форми захворювання та розповсюдженості специфічного процесу (загальноприйняті методи). Контрольну групу склали відносно 34 здорові особи віком від 23 до 37

років.

Згідно стандартної схеми DOTS хворі отримували препарати I ряду (ізоніазид, рифампіцин, піразинамід, стрептоміцин, етамбутол) та препарати II ряду— офлоксацин, ципрофлоксацин, левофлоксацин, канаміцин, амікацин, капреоміцин, етіонамід, протіонамід, тіоацетазон, кислоти пара-аміносаліцилову (ПАСК), ріфабутін, залежно від категорії захворювання.

Протитуберкульозну терапію хворі отримували за 1-ою категорією, згідно рекомендаціям ВООЗ (табл. 1.1).

Таблиця 2.1

Режими лікування хворих з розповсюдженим деструктивним туберкульозом легень за протоколами ВООЗ

Маса тела до початку лікуван- ня, кг	Початкова фаза: 2 місяці				Фаза продовження
	4 місяці				
	Ізоніазид+ Ріфампіцин, таблетка 100мг+150мг 150мг+300мг	Піразин- амід, таблетка 500 мг	Етамбу- тол, таблетка 400мг	Стрепто- міцин, порошок для ин'єкцій, 1г основи в флаконі	Ізоніазид + Ріфампіцин, таблетка 100мг+150мг 150мг+300мг
33-50	3 табл. (100мг+150мг) щоденно	3 табл. щоденно	2 табл. щоденно	750 мг щоденно	3 таблетки щоденно
50 та більше	2 таблетки (150 мг+ 300мг) щоденно	4 табл. щоденно	3 табл. щоденно	1 г щоденно	4 таблетки щоденно

2.2 Клінічна характеристика обстежених груп

Групу пацієнтів, хворих на вперше діагностований туберкульоз (ВДТБ) склали 118 осіб. З них чоловіків – 82 особи, жінок – 36 осіб.

Кількість хворих на туберкульоз обох легень дорівнює 73 особи, з ураженням однієї легені – 45 осіб. Хворих на інфільтративний туберкульоз

легень – 63 особи, дисемінований – 51 особа, фіброзно-кавернозний – 4 особи. Кількість хворих з відсутністю бактеріовиділення – 20 осіб, з виділенням бактерій – 98 осіб. Кількість хворих на мультирезистентний туберкульоз легень – 12 осіб.

Групу пацієнтів, хворих на хронічний туберкульоз (ХТБ), склали 54 особи. З них чоловіків – 37 осіб, жінок – 17 осіб.

Кількість хворих на туберкульоз обох легень дорівнює 54 особи. Хворих на інфільтративний туберкульоз легень – 10 осіб, дисемінований – 30 осіб, фіброзно-кавернозний – 4 особи. Кількість хворих з виділенням бактерій 54 особи. . Кількість хворих на мультирезистентний туберкульоз легень – 15 осіб.

2.3 Методики проведення клінічних досліджень

Загальноклінічні лабораторні методи:

- загальний аналіз крові (кількість формених елементів крові визначали в рахунковій камері Горяєва), глюкозу крові визначали глюкозооксидазним мікрометодом, залишковий азот крові визначали гіпобромитним методом, сечовину крові – кольоровою реакцією з диацетилмонооксидом, креатинін крові визначали фотометричним методом ($\lambda = 520$ нм) за методикою кольорової реакції Яффе:

- в центрифужну пробірку відбирали 0,5 мл проби сироватки, добавляли 2,5 мл пікринової кислоти;
- центрифугували 15 хв при 3000 об/хв;
- відбирали 2 мл надосадової рідини в біохімічну пробірку, потім добавляли 120 мкл 10 % розчину NaOH;
- інкубували за кімнатної температури 20 хв;
- вимірювання проводили проти холостої проби, в яку помістили замість проби сироватки 0,5 мл дистилляту, в кюветі з довжиною оптичного ходу 10 мм.

- загальний аналіз сечі, біохімічний аналіз сечі (кількісне визначення загального білка турбідиметричним методом за реакцією з сульфосаліциловою кислотою, фотометричне визначення мікроальбумінів після зв'язування з пірогалолом червоним, сечовину сечі – кольоровою реакцією з діацетилмонооксимом).

Креатинін сечі визначали фотометрично ($\lambda = 520$ нм) за реакцією з пікриновою кислотою (Яффе):

- в колбочку об'ємом 25 мл помістили 100 мкл проби сечі, добавили 500 мкл пікринової кислоти та 500 мкл 10 % розчину NaOH;
- інкубували за комнатної температури 15 хв;
- доводили дистиллятом до мітки;
- вимірювання проводили проти холостої проби в кюветі з довжиною оптичного ходу 10 мм.

Інструментальні методи дослідження функції нирок:

Швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ) та канальцева реабсорбція (КР) на основі концентраційного індексу по відношенню до креатиніну ($K_{кр}$) й розміру діурезу (D) за визначений проміжок часу.

Клиренс ендogenous креатиніну: $K_{оч} = (K_{м}/K_{кр}) \times D$ (мл/хв), де $K_{м}$ — концентрація креатиніну в сечі; $K_{кр}$ — концентрація креатиніну в сироватці; D — хвилинний діурез в мл/хв (дорівнює кількості сечі, що виділилася за 2 год (мл), поділений на 120 хв). $K_{оч}$ виражає ШКФ.

$KР = [(ШКФ - D)/ШКФ] \times 100$. В нормі канальцева реабсорбція коливається від 95 до 99 % клубочкового фільтрату.

2.4 Методики проведення біофізичних досліджень

Вивчення макромолекулярного складу сироватки крові та сечі з використанням методу лазерної кореляційної спектроскопії (ЛКС). Забір біопроб здійснювався натщесерце одномоментно в уранішні години.

Кров для отримання та аналізу сироватки крові брали з IV пальця лівої

руки за стандартною методикою. Через 40-60 хвилин після взяття крові, що зберігалася при кімнатній температурі, згусток в пробірці обводили стерильною скляною паличкою і центрифугували при 1500 об/хв протягом 30 хв. Сироватку крові, що утворилася після центрифугування, відбирали в стерильні пластикові пробірки типу «еппендорф» об'ємом 1,5 мл, швидко заморожували при температурі -20 C° і зберігали до моменту дослідження.

Перед дослідженням зразки розморожували в термостаті при 37 C° протягом 30 хв, після чого сироватку крові розводили в 10 разів стерильним фізіологічним розчином. Для цього 25 мкл сироватки крові переносили в окрему пробірку, куди додавали 200 мкл 0,9 % розчину NaCl. Розведені зразки повторно центрифугували протягом 15 хв при 5000 об/хв. Потім пробу в об'ємі 250 мкл поміщали в кювету спектрофотометра і проводили вимірювання в частотному діапазоні 8192 Гц в кількості 1000 накопичень. Регуляризацію спектра проводили з використанням нелінійної шкали, після чого відповідність спектру тієї чи іншої дискретної семіотичної групи визначали за допомогою програми класифікатора «Blood», що додавався до прибору.

З уранішньої порції сечі, зібраної по загальних правилах, в центрифужну пробірку відливали 10 мл і центрифугували при 1500 об/хв протягом 30 хв. Потім 1 мл надосаду відбирали в стерильні пластикові пробірки типу «еппендорф» об'ємом 1,5 мл, швидко заморожували при температурі -20 C° і зберігали до моменту дослідження.

Перед дослідженням зразки розморожували в термостаті при 37 C° протягом 30 хв, повторно центрифугували протягом 15 хв при 5000 об/хв. Потім пробу в об'ємі 250 мкл поміщали в кювету спектрофотометра і проводили вимірювання в частотному діапазоні 8192 Гц в кількості 1000 накопичень. Регуляризацію спектра проводили з використанням нелінійної шкали, після чого відповідність спектру тієї чи іншої дискретної семіотичної групи проводили за допомогою програми класифікатора «Mhc», що додавався до прибору.

Визначення фенотипу ацетилювання.

Метод базується на пероральному прийомі сульфадимезину (СД) (Р.п. № П.06.02/04843 від 09.03.06 р.) в якості субстрату NAT2 та визначенні продуктів реакції в пробах сечі за 5 годин.

Хворому давали 0,5г СД перорально натщесерце. Через 5 годин після прийому препарату беруть разову порцію сечі, розводили фізіологічним розчином в 25 разів, відбирали аліквоту 5 мл, додавали 0,5 мл 10 % розчину трихлороцтової кислоти, 0,5 мл 7-хлор-4,6-динитробензофуросана, 1 мл ацетатного буфера (0,5 ммоль/л, рН 5,5), та визначають кількість вільного, ацетильованого та загального СД, та потім розраховують відсоткове співвідношення ацетильованого СД до загального СД, що є показником активності поліморфної NAT2 [51].

Фотометрують на спектрофотометрі СФ-46 при довжині хвилі 490 нм в кюветі з довжиною оптичної путі 10 мм.

Для розрахунків будують калібрувальну криву за стандартним розчином СД з концентрацією 2,5, 5, 7,5 та 10 мкг.

Про активність поліморфної NAT2 судять по відношенню ацетильованого СД до його загального вмісту в сечі: значення нижче 70 % свідчать про повільний, а 70 % та вище – про швидкий ацетиляторний фенотип [15,26,52].

2.5 Методики проведення молекулярно-генетичних досліджень

Визначення алелей поліморфної ділянки гена глутатіон-S-трансферази проводили шляхом виділення геномної ДНК із зіскрібка зі слизової оболонки щоби обстежуваних за допомогою комерційного набору „ДНК-сорб-А” для виділення ДНК із клінічного матеріалу (мазки й зіскрібки) та шляхом виділення геномної ДНК із крові обстежуваних за допомогою комерційного набору „ДНК-сорб-Б” для виділення ДНК із клінічного матеріалу (кров) [20].

Поліморфну ділянку *GSTM1*, *GSTT1* ампліфікували за допомогою мультиплексної полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) [5]. на ампліфікаторі „Терцик” фірми „ДНК-технологія” з використанням локуспецифічних олігонуклеотидних праймерів згідно протоколу ПЛР для одномоментного аналізу поліморфізму *GSTM1* та *GSTT1* за Michael Arand etc. (1996). [13,29,44,89].

Поліморфізм гена *NAT2* (три найбільш поширених алеля – S1, S2, і S3 (*NAT2*5*, *NAT2*6*, *NAT2*7* відповідно) й один «швидкий» алель дикого типу F1 (*NAT2*4*)) визначали за допомогою ПЛР на ампліфікаторі “Терцик” фірми “ДНК-технологія” з використанням локуспецифічних олігонуклеотидних праймерів з праймерами 5'-GCTGGGTCTGGAAGCTCCTC-3' та 5'-TTGGGTGATACATACACAAGGG-3' згідно з протоколом для одномоментного аналізу поліморфізму *NAT 2* по Spurr et al. (1995).

Реакцію ферментативного гідролізу ампліфікованого фрагмента ДНК для виявлення поліморфних варіантів гена *NAT2* проводили в оптимальному буфері та за оптимальної температури для кожної з ендонуклеаз рестрикції протягом 3 год. Буфер для рестрикції для *NAT2*4*: 10 мМ трис-НСІ (рН 7,6 при 37°C), 10 мМ MgCl₂, 1 мМ ДТТ. Буфер для *NAT2*5* : 10 мМ трис-НСІ (рН 7,6 при 37°C), 10 мМ MgCl₂, 50 мМ NaCl, 1 мМ ДТТ. Буфер для *NAT2*6* : 50 мМ трис-НСІ (рН 7,6 при 37°C), 10 мМ MgCl₂, 100 мМ NaCl, 1 мМ ДТТ. Буфер для *NAT2*7* : 33 мМ трис-НСІ (рН 7,6 при 37°C), 10 мМ магнію ацетат, 66 мМ калію ацетат, 1 мМ ДТТ [70].

Аналіз продуктів реакції для *GSTM1* та *GSTT1* проводили в 1 %-ному агарозному гелі з наступним фарбуванням етидіумбромідом і візуалізацією в минаючому УФ-світлі. Аналіз продуктів реакцій ампліфікації та наступної рестрикції для *NAT2* проводили в 2 %-ному агарозному гелі з подальшим фарбуванням етидіумбромідом і візуалізацією в минаючому УФ-світлі.

Аналіз отриманих результатів проводили з використанням критерію Стьюдента (коефіцієнта ймовірності) та критерію Пірсона (критерій

відповідності). Використовували «семіотичний» класифікатор, статистичний аналіз даних виконаний за допомогою програм Microsoft Excel та «Statistica» 6.0 [73].

Матеріали розділу представлені в наступних наукових працях:

1. Сметюк О. О. Особливості розподілення поліморфізму глутатіон-S-трансфераз M1 і T1 (*GSTT1*, *GSTM1*) у різних вікових групах / О. О. Сметюк, Ю. І. Бажора, М. М. Чеснокова // Вікові аспекти схильності організму до шкідливого впливу ксенобіотиків : наук.-практ. конф., 18–19 верес. 2008 р., Чернівці : тези доп. – Чернівці, 2008. – С. 41.

2. Сметюк О. О. Можливість ранньої діагностики токсичного ураження протитуберкульозними препаратами / О. О. Сметюк // Читання В. В. Підвисоцького : наук. конф., 27–28 трав. 2010 р., Одеса : тези доп. – Одеса : ОДМУ, 2010. – С. 146–147.

РОЗДІЛ 3

ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНІВ, ЯКІ КОНТРОЛЮЮТЬ ДЕТОКСИКАЦІЮ КСЕНОБІОТИКІВ, У ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ ЛЕГЕНЬ

Відомо, що розвитку різних патологічних станів сприяють не тільки чинники навколишнього середовища, але й індивідуальні спадкові особливості, які визначають різну чутливість і реакцію у людей популяції до впливу одних й тих самих чинників довкілля; що, в свою чергу, вмикає різні індивідуальні адаптаційні можливості, які проявляються виникненням різних патологій. Індивідуальні спадкові особливості визначаються мутантними генами, які сумісні з антенатальним і постнатальним життям, але при впливі несприятливих чинників можуть впливати на розвиток того чи іншого патологічного стану [1,2].

Однією з груп генів, що асоціюються з розвитком різних мультифакторіальних захворювань, є гени ферментів детоксикації ксенобіотиків [6-8]. Багатофункціональне суперсімейство глутатіон-S-трансфераз, ферментів II-ї фази детоксикації ксенобіотиків, відіграє суттєву роль у забезпеченні резистентності клітин до перекисного окислення ліпідів, вільних радикалів, в алкілуванні білків; метаболізмі великої групи ксенобіотиків, у тому числі хіміотерапевтичних препаратів [5-6].

Ксенобіотик – це чужорідна (не бере участь в пластичному або енергетичному обміні) речовина, що потрапила в організм. Практично будь-який лікарський засіб має токсичність і при неправильному його використанні у людей з підвищеною чутливістю може викликати несприятливі ефекти. При використанні ліків внаслідок токсичної дії у багатьох хворих розвиваються так звані побічні, тобто небажані, реакції. Протипухлинні, протитуберкульозні препарати, без яких не уявляється можливим лікування онкопатології та туберкульозу, відносяться до найбільш небезпечних лікарських засобів з тяжким цитотоксичним ефектом

на організм пацієнта [7-9].

Побічні реакції протитуберкульозних препаратів розвиваються в середньому у 10-15 % пацієнтів. При використанні стандартних курсів хіміотерапії ускладнення вживанням ПТП особливо часто виникають у перші 2 міс, а в подальшому ймовірність їх розвитку знижується [11].

Значну групу ускладнень фармакотерапії становлять реакції токсичного характеру, зумовлені фармакологічними властивостями як власне протитуберкульозних препаратів, так і продуктів їх метаболізму. Розвиток токсичних ускладнень залежить також від дози й тривалості застосування лікарських засобів, характеру їх біотрансформації та елімінації, від функціонального стану основних ланок дезінтоксикаційної та екскреторної систем організму. Такі ускладнення мають органний характер, тому що виникають або як результат прямої фармакологічної дії на обмінно-ферментативні процеси в життєво важливих органах і системах, або внаслідок опосередкованого впливу на метаболізм у цих органах [12].

В силу величезного розмаїття ксенобіотиків, що надходять в організм людини, і різноманітності та специфічності ферментів, що беруть участь в їх знешкодженні, можна говорити про індивідуальний ризик різного ступеня. Адже в процесі детоксикації за участю будь-якого з ферментів токсичність одних ксенобіотиків послаблюється (детоксикаційний шлях), а інших – посилюється (токсифікаційний шлях). В наслідок чого можна припустити, що генотип, який був чинником ризику розвитку патологічних станів в одних умовах, може стати чинником стійкості в інших умовах. [13].

GSTM1-null генотип в азіатських популяціях асоційований з підвищеним ризиком гепатотоксичного ефекту протитуберкульозних препаратів, але для *GSTT1*-null генотипу подібний ефект не виявлений [14]. Проведені дослідження показали, що гідразин, який утворюється внаслідок гідролізації ізоніазиду, має тенденцію до накопичення власне у хворих з *GSTM1*-null генотипом [15], та моноацетилгідразин, що накопичується у повільних ацетиляторів з наявністю алелів *NAT2*5* та *NAT2*6* [16], можуть призвести

до нефро- та гепатотоксичності. Повільні ацетилятори не можуть в необхідній мірі знешкодити відкриті аміногрупи молекул ПТП та їхніх метаболітів, що дуже легко зв'язуються з клітинною мембраною, запускаючи тим самим процес загибелі клітини [17].

Враховуючи вищезазначене, доцільним було визначення частоти null-алелей глутатіон-S-трансферази- μ , глутатіон-S-трансферази- θ та поліморфізму генів *NAT 2* (2*4, 2*5, 2*6, 2*7) у хворих на легеневий туберкульоз, які мешкають в Одеському регіоні, асоціації між генотипом *NAT 2* та фенотипом ацетилювання у хворих на легеневий туберкульоз під час лікування ПТП.

3.1 Молекулярно-генетичні дослідження частоти поліморфних локусів генів *GSTM1* і *GSTT1* (глутатіон-S-трансферази) у різних вікових групах мешканців Одеської області

Численними дослідженнями був встановлений зв'язок поліморфізму генів *GSTM1* і *GSTT1* з виникненням деяких захворювань. Так, знайдена асоціація поліморфізму з ризиком розвитку онкологічних захворювань, ураження легеневої системи, системи крові, сполучної тканини та порушень у системі «мати-плацента-плід» [15]. Приблизно 50 % осіб європейського походження демонструють гомозиготну делецію гену *GSTM1*, результатом якої є відсутність ферменту глутатіон-S-трансферази- μ . Все вищесказане визначає актуальність вивчення поліморфізму глутатіон-S-трансферази- μ і глутатіон-S-трансферази- θ (*GSTM1*, *GSTT1*), пропорційного розподілу даного генотипу всередині популяції, визначення можливого зв'язку даного поліморфізму з подовженням життя населення.

При визначенні поліморфних варіантів генів ферментів *GSTT1* та *GSTM1* методом мультиплексної полімеразної ланцюгової реакції варіанти del *GSTT1* та del *GSTM1* відповідають гомозиготному стану за мутацією, що призводить до повної відсутності синтезу ферменту.

Дані щодо поліморфізму генів *GSTM1* та *GSTT1* серед 205 обстежених осіб, з них 59 новонароджених (28,8 %), 70 студентів у віці від 17 до 23 років (34,2 %) і 76 літніх людей (37 %) віком більше ніж 65 років, представлені в табл. 3.1. В якості контрольної групи була обрана група новонароджених, що найменше зазнала впливу чинників навколишнього середовища під час внутрішньоутробного розвитку.

Таблиця 3.1

Розподіл поліморфізму генів *GSTM1* та *GSTT1* серед різних вікових груп мешканців Одеської області.

Обстежувані групи Делеція гена	Частота мутації (%)		
	Новонароджені n=59	Зрілі люди n=70	Літні люди n=76
del <i>GSTT1</i>	11 (18,6 %)	16 (22,9 %)	7 (9,2 %)
del <i>GSTM1</i>	24 (40,7 %)	33 (47,1 %)	54 (72,4 %)*
del обох генів	7 (11,8 %)	9 (12,9 %)	6 (7,9 %)

Примітка. * різниця показників між групою літніх людей та групою контролю достовірна ($p < 0,05$)

Відсотковий розподіл генного поліморфізму в групах новонароджених та студентів відповідає частоті null-генотипів, встановленої для європеїдної раси, для *GSTM1*-40-45 % і для *GSTT1*-15-25 % (за даними OMIM) [15].

Особливий інтерес має група літніх людей. За даними молекулярно-генетичних досліджень частота зустрічаємості null-генотипу *GSTT1* в цій групі дорівнює 9,21 %, а null-генотипу *GSTM1* – 72,4 %. Частота гомозиготної мутації за *GSTM1* достовірна. Цю групу було виділено із загального числа досліджень і, в свою чергу, розбито на підгрупи за віковим показником. В табл. 3.2 представлені отримані дані, що є новизною в даній області дослідження. За критеріями ВООЗ група літніх людей була поділена на три підгрупи за віковим критерієм: похилий вік (65-75 років), старечий (75-90 років) і довгожителі (більше 90 років). Частота мутацій в даних підгрупах наступна: делеція *GSTM1* – 64,7 %, 73,21 %, 66,67 %

відповідно і делеція *GSTT1* – 17,65 %, 7,14 %, 0 % відповідно.

Таблиця 3.2

Розподіл поліморфізму генів *GSTM1* та *GSTT1* всередині групи літніх мешканців Одеської області.

Група літніх людей Делеція гена	Частота мутації (%)		
	похилий вік (65-74)	старечий вік (75-89)	довгожителі (90-95)
	n=17	n=56	n=3
del <i>GSTT1</i>	3 (17,7 %)	4 (7,1 %) ¹	0 (0 %) ²
del <i>GSTM1</i>	11 (64,7 %)	41 (73,2 %) ³	2 (66,7 %)
del обох генів	1 (5,9 %)	3 (5,4 %)	0 (0 %)

- Примітки: 1. 1 – різниця показників між групою людей похилого віку та групою людей старечого віку ($p < 0,05$);
 2. 2 – різниця показників між групою людей старечого віку та групою довгожителів ($p < 0,05$);
 3. 3 – різниця показників між групою літніх людей та групою контролю достовірна ($p < 0,05$)

При порівнянні показників частоти делеції *GSTM1* в групі літніх людей – 72,37 % і вищої межі норми для європеїдної раси – 45 % виявилось, що ці показники достовірно відрізняються ($p < 0,01$). У групі літніх людей з підвищенням вікового показника спостерігається достовірне зниження частоти делецій *GSTT1* ($\chi^2 = 0,81$): похилий вік – 17,65 % ($p = 0,05$), старечий – 7,14 % ($p < 0,05$) і довгожителі – 0 % в залежності від вікового показника.

Цей факт може вказувати на вірогідний зв'язок даної мутації з глибоким порушенням імунних реакцій організму людини з туберкульозною інфекцією та розвитком хронізації туберкульозного процесу.

Отримані результати досліджень дозволяють зробити наступні попередні припущення:

- збільшення частоти делецій *GSTM1* з підвищенням вікового показника свідчить про низький вклад алелей *GSTM1* в адаптаційні можливості організму;

- зменшення частоти делецій *GSTT1* з підвищенням вікового показника свідчить про можливий вплив алелей *GSTT1* на адаптаційні здатності організму.

3.2 Молекулярно-генетичні дослідження частоти поліморфних локусів генів *NAT2* (ариламін-N-ацетилтрансфераза 2) (*2*4*, *2*5*, *2*6*, *2*7*) у практично здорових мешканців Одеської області

Ариламін-N-ацетилтрансфераза 2 бере участь в метаболізмі ліків, у тому числі при взаємодії лікарських препаратів. Залежно від варіантів активності гену *NAT2* всіх людей можна розділити на повільних та швидких ацетиляторів.

Таблиця 3.3

Розподіл алельного поліморфізму гену *NAT2* серед мешканців Одеської області.

Алель	Частота мутації (%)
Обстежувані групи	Контрольна група n=36
<i>NAT2*4</i>	21 (29,2 %)
<i>NAT2*5</i>	32 (44,4 %)
<i>NAT2*6</i>	19 (26,4 %)
<i>NAT2*7</i>	0 (0 %)

Приблизно 50 % європейців є повільними ацетиляторами, в російській популяції швидкі ацетилятори складають 37,8 %, повільні – 62,2 % [16], але наявність різних типів ацетиляторів різниться залежно від географічного регіону та етнічної групи [13].

Відсотковий розподіл частоти алелів в контрольній групі (див. табл. 3.3) відповідає частоті алелів, встановленої для європейської раси, для *NAT 2*2*4* – 20-25 %, *NAT 2*2*5* – 32-37 %, *NAT 2*2*6* – 28-32 %, *NAT 2*2*7* – 0-5 %) [16]. Ми бачимо, що частота дикого алелю *NAT2*2*4*, що обумовлює синтез більш активного ферменту та високу швидкість ацетилювання ксенобіотиків, притаманна для Одеського регіону, зумовлює більш низьку кількість швидких ацетиляторів, що може впливати на загальний рівень

детоксикаційної системи організму мешканців даного регіону.

3.3 Молекулярно-генетичні дослідження частоти поліморфних локусів генів *GSTM1* і *GSTT1* (глутатіон-S-трансферази) у хворих на легеневий туберкульоз

Результати обстеження 172 хворих на вперше діагностований туберкульоз легень та хворих на хронічний туберкульоз легень, що звернулись до ООКПТЛ представлені в табл. 3.4.

Таблиця 3.4

Розподіл поліморфізму генів *GSTM1* та *GSTT1* в групі хворих на туберкульоз легень

Обстежувані групи Делеція гена	Частота мутації (%)		
	Контрольна група n=34	Хворі на туберкульоз легень, n=172	P ₁
del <i>GSTT1</i>	9 (26,5 %)	41 (23,8 %)	0,74
del <i>GSTM1</i>	16 (47,1 %)	71 (41,3 %)	0,53
del обох генів	5 (14,7 %)	19(11,0 %)	0,54

Відсотковий розподіл генного поліморфізму в групі хворих на туберкульоз легень відповідає частоті нуль-алелей, встановленої для європеоїдної раси, для *GSTM1*-40-45 % і для *GSTT1*-15-25 % [11].

Таблиця 3.5

Розподіл поліморфізму генів *GSTM1* та *GSTT1* в групі хворих на туберкульоз легень в залежності від типу туберкульозного процесу

Делеція гена Обстежувані групи	Частота мутації (%)		Частота мутації (%)		
	Хворі на ВДТБ легень, n=118	P ₁	Хворі на ХТБ легень, n=54	P ₁	P ₂
del <i>GSTT1</i>	32 (27,1 %)	0,94	9 (16,7 %)	0,27	0,14
del <i>GSTM1</i>	35 (29,7 %)	0,06	36 (66,7 %)*	0,07	0,001
del обох генів	12 (10,2 %)	0,46	7 (5,9 %)	0,82	0,69

Примітка. * різниця достовірна (p <0,05)

Цей факт може вказувати на вірогідний зв'язок даної мутації з ослабленою боротьбою організму людини з туберкульозною інфекцією та розвитком хронізації туберкульозного процесу.

3.4. Молекулярно-генетичні дослідження частоти поліморфних локусів генів *NAT2* (ариламін-N-ацетилтрансфераза 2) (*2*4*, *2*5*, *2*6*, *2*7*) у хворих на легеневий туберкульоз

Відсотковий розподіл частоти алелів в контрольній групі та групі хворих на туберкульоз легень відповідає частоті алелів, встановленої для європеоїдної раси, для *NAT2*4* – 20-25 %, *NAT2*5* – 32-37 %, *NAT2*6* – 28-32 %, *NAT2*7* – 0-5 %) [12] (табл. 3.6).

Таблиця 3.6

Розподіл алельного поліморфізму гену *NAT 2* в групі хворих на туберкульоз легень

Алель	Частота мутації (%)		P ₁
	Контрольна група n=34	Хворі на туберкульоз легень, n=172	
<i>NAT2*4</i>	21 (30,9 %)	39 (11,3 %)*	0,001
<i>NAT2*5</i>	32 (44,4 %)	163 (47,4 %)	0,96
<i>NAT2*6</i>	19 (27,9 %)	127 (36,9 %)	0,16
<i>NAT2*7</i>	0 (0 %)	15 (4,4 %)	0,08

Примітка. *різниця достовірна (p < 0,05)

Як видно з табл. 3.7 частота алелю *NAT2*4* суттєво нижча (11,3 % та 5,5 %, відповідно, p < 0,01, проти 30,9 %) в загальній групі хворих та групі хворих на ВДТБ легень проти контрольної групи. В свою чергу ,відсотковий вклад алелю *NAT2*4* в групі хворих на ХТБ легень достовірно вищий (24,1 %, p < 0,05 проти 5,5 %), ніж в групі хворих на ВДТБ легень.

Частка поліморфного варіанту *NAT2*6* в групі хворих на ВДТБ легень достовірно відрізняється (51,8 %, p < 0,05 проти 26,4 %) від групи контролю.

Таблиця 3.7

Розподіл алельного поліморфізму гену *NAT 2* в групі хворих на туберкульоз легень в залежності від типу туберкульозного процесу

Алель	Частота мутації (%)		Частота мутації (%)		
	Хворі на ВДТБ легень, n=118	P ₁	Хворі на ХТБ легень, n=54	P ₁	P ₂
<i>NAT2*4</i>	13 (5,5 %)	0,001	26 (24,1 %)	0,32	0,001
<i>NAT2*5</i>	103 (43,6 %)	0,62	60 (55,6 %)	0,27	0,04
<i>NAT2*6</i>	111 (47,0 %)	0,005	16 (14,8 %)	0,03	0,001
<i>NAT2*7</i>	7 (2,9 %)	0,06	8 (7,4 %)	0,05	0,24

Примітки: 1. P₁ – рівень значущості при порівнянні групи хворих та групи контролю;

2. P₂ – рівень значущості при порівнянні групи хворих на ХТБ легень та групи хворих на ВДТБ легень

Поліморфний варіант *NAT2*6* суттєво частіше ($p < 0,05$) зустрічається в групі хворих на ВДТБ легень (51,8 %) проти групи хворих на ХТБ легень (15,8 %). В свою чергу, варіант *NAT2*6* більш притаманний для групи хворих на ХТБ (55,6 % проти 43,6 %, $p < 0,05$)

Частота гомозигот за алелем дикого типу *NAT 2*4* (швидкі ацетилятори) в загальній групі хворих на легеневий туберкульоз достовірно нижча від групи контролю (6,7 % проти 22,2 %, $p < 0,05$) (табл. 3.8).

Таблиця 3.8

Розподіл поліморфних варіантів гену *NAT2* в загальній групі хворих на туберкульоз легень

Генотип	Частота мутації (%)	Частота мутації (%)	
		Хворі на туберкульоз легень, n=172	P ₁
Обстежувані групи	Контрольна група n=34		
<i>NAT2*4/2*4</i>	7 (20,6 %)	10 (5,8 %)*	0,004
<i>NAT2</i> гетерозиготи	14 (41,1 %)	64 (37,2 %)	0,66
<i>NAT2*5/*2*5</i> , <i>2*6/2*6, 2*7/2*7</i>	13 (38,2 %)	98 (56,9 %)*	0,04

Примітка. *різниця достовірна ($p < 0,05$)

Як видно з табл.3.9 частота гомозигот за алелем дикого типу *NAT2**4 (швидкі ацетилятори) в групі хворих на ВДТБ легень достовірно нижча від групи контролю (5,1 %, відповідно, проти 20,6 %, $p<0,05$) .

Таблиця 3.9

Розподіл поліморфних варіантів гену *NAT2* в групі хворих на туберкульоз легень в залежності від типу туберкульозного процесу

Генотип	Частота мутації (%)	Частота мутації (%)		Частота мутації (%)		
		Хворі на ВДТБ легень, n=118	P ₁	Хворі на ХТБ легень, n=54	P ₁	P ₂
Обстежувані групи	Контрольна група n=34					
<i>NAT2</i> *4/2*4	7 (20,6 %)	6 (5,1 %)*	0,04	4 (7,4 %)	0,69	0,54
<i>NAT2</i> гетерозиготи	14 (41,1 %)	51 (43,2 %)	0,83	13 (24,1 %)	0,09	0,02
<i>NAT2</i> *5/*2*5 2*6/2*6, 2*7/2*7	13 (38,2 %)	61 (51,7 %)	0,17	37 (68,5 %)*	0,005	0,04

Примітки: 1. P₁ – рівень значущості при порівнянні групи хворих та групи контролю;

2. P₂ – рівень значущості при порівнянні групи хворих на ХТБ легень та групи хворих на ВДТБ легень

Також було визначено, що гомозигот за *NAT2**5/*2*5, 2*6/2*6, 2*7/2*7 достовірно більше серед хворих на ХТБ легень та в загальній групі хворих на легеневий туберкульоз в порівнянні з групою контролю (68,5 % та 56,9 %, відповідно, проти 38,2 %, $p<0,05$), що може вказувати на можливу роль генотипу повільного метаболізму на меншу здатність організму до протистояння туберкульозній інфекції.

3.5 Результати дослідження фенотипу ацетилювання ферментами *NAT2* (N-ацетилтрансфераза 2) (2*4, 2*5, 2*6, 2*7) у хворих на легеневий туберкульоз

Встановлено, що відмінності в швидкості ацетилювання ізоніазиду у

хворих зумовлені різною каталітичною активністю N-ацетилтрансферази: при швидкій інактивації вона висока, при зниженій – набагато нижча, що обумовлено наявністю різних поліморфних варіантів гена *NAT 2*.

Розподіл обстежених за фенотипом *NAT 2* (швидкі та повільні ацетилятори) в дослідних групах співпадає з розподілом поліморфізму генів *NAT 2* (табл. 3.10 та 3.11).

Таблиця 3.10

Розподіл варіантів фенотипу за *NAT2* в загальній групі хворих на туберкульоз легень

Фенотип	Частота фенотипу (%)	Частота фенотипу (%)	
		Хворі на туберкульоз легень, n=172	P ₁
Обстежувані групи	Контрольна група n=34		
Швидкі ацетилятори <i>12±1,8 мг/мл</i>	7 (20,6 %)	16 (9,3 %)	0,06
Повільні ацетилятори <i>33±7,9 мг/мл</i>	27 (79,4 %)	156 (90,7 %)	0,06

Швидких ацетиляторів в загальній групі хворих на легеневий туберкульоз та групі хворих на ВДТБ легень достовірно менше, порівнюючи з групою контролю (9,3 % та 6,8 %, відповідно, проти 20,6 %, $p < 0,05$).

Таблиця 3.11

Розподіл варіантів фенотипу за *NAT2* в групі хворих на туберкульоз легень в залежності від типу туберкульозного процесу.

Фенотип	Частота фенотипу (%)	Частота фенотипу (%)		Частота фенотипу (%)		
		Хворі на ВДТБ легень, n=118	P ₁	Хворі на ХТБ легень, n=54	P ₁	P ₂
Обстежувані групи	Контрольна група n=34					
Швидкі ацетилятори <i>12±1,8 мг/мл</i>	7 (20,6 %)	8 (6,8 %)*	0,05	7 (12,9 %)	0,3	0,4
Повільні ацетилятори <i>33±7,9 мг/мл</i>	27 (79,4 %)	110 (93,2 %)*	0,05	47 (87,0 %)	0,3	0,4

Примітка. * різниця між групами хворих та контролем достовірна ($p < 0,05$)

Отримані результати досліджень дозволяють зробити наступні проміжні

ВИСНОВКИ:

- в загальній групі хворих на легеневий туберкульоз та групі хворих на ВДТБ легень повільних ацетиляторів достовірно більше, ніж в групі контролю (93,3 % та 94,4 %, відповідно, проти 77,8 %, $p < 0,05$);
- збільшення частоти null-алелю *GSTM1* в групі хворих на ХТБ легень свідчить про наявність асоціації між мутацією та хронізацією туберкульозного процесу;
- висока частка поліморфних варіантів *NAT2*5* та *NAT 2*6* в групі хворих на легеневий туберкульоз легень вказує на можливий вплив низької швидкості ацетилювання патогенних чинників зовнішнього середовища на захворюваність туберкульозом легень;
- серед хворих на легеневий туберкульоз повільних ацетиляторів достовірно більше, ніж у групі здорових осіб, що може мати негативні наслідки токсичної дії ліків при тривалій протитуберкульозній терапії;
- фенотип ацетилювання у хворих на легеневий туберкульоз, які отримують ПТП, відповідає генотипам за *NAT2*.

Матеріали розділу представлені в наступних наукових працях:

1. Сметюк О. О. Вікові особливості поліморфізму генів глутатіон-S-трансфераз M1 та T1 у мешканців Одеської області / О. О. Сметюк, М. М. Чеснокова, Ю. І. Бажора // Досягнення біології та медицини. – 2009. – № 2. – С. 65-67.
2. Сметюк О. О. Зв'язок поліморфізмів генів GST та NAT2 з типом перебігу туберкульозного процесу / Ю. І. Бажора, О. О. Сметюк // Інтегративна антропологія. – 2011. – Т. 18, № 2. – С. 7–10.
3. Сметюк О. О. Популяційна частота 0-алеля глутатіон-S-трансферази в різних вікових групах Одеської області / О. О. Сметюк // Вчені майбутнього : міжнар. наук. конф. молодих вчених, 15–16 жовт. 2007 р., Одеса : тези доп. – Одеса : ОДМУ, 2008. – С. 88–89.
4. Сметюк О. О. Генетичний поліморфізм глутатіон-S-трансфераз M1 і T1 у хворих на легеневий туберкульоз в Одеській області / О. О. Сметюк, В. О. Іванова //

Молодь – медицині майбутнього : міжнар. наук. конф. студентів та молодих вчених, 24–25 квіт. 2008 р., Одеса : тези доп. – Одеса : ОДМУ, 2008. – С. 66–67.

5. Сметюк О. О. Особливості розподілення поліморфізму делеції глутатіон-S-трансфераз М1 і Т1 в різних вікових групах всередині групи похилого віку / О. О. Сметюк, О. О. Супрун, В. О. Іванова // Наукові дослідження – теорія та експеримент 2008 : IV четверта міжнар. наук.-практ. конф., 19–21 травн. 2008 р., Полтава : тези доп. – Полтава : ІнтерГрафіка, 2008. – Т. 5. – С. 62–63.

РОЗДІЛ 4

СТАН СИСТЕМНОГО ТА МІСЦЕВОГО НИРКОВОГО МЕТАБОЛІЗМУ У НОСІЇВ ПОЛІМОРФНИХ ВАРІАНТІВ ГЕНОТИПІВ ГЕНІВ ДЕТОКСИКАЦІЇ КСЕНОБІОТИКІВ ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ ЛЕГЕНЬ

Однією з токсикологічних проблем, пов'язаних з використанням ліків, є наявність у багатьох з них так званих побічних, тобто небажаних, ефектів. Як правило, ліки, приносячи користь в одному, завдають шкоди в іншому. Існують дуже небезпечні медикаментозні засоби, використання яких пов'язане з суттєвим ризиком. Виправданням їх застосування є загроза життю пацієнта і відсутність інших медикаментозних засобів, що усувають цю загрозу. До числа таких засобів належать насамперед протипухлинні, протитуберкульозні препарати [73]. Механізм розвитку ускладнень фармакотерапії залежить від фармакокінетики та фармакодинаміки протитуберкульозних засобів. Побічні реакції можуть виникати у процесі всмоктування, розподілу, вивільнення із комплексу з білками, метаболізму (ферментативна індукція чи інгібіція), екскреції цих ліків. Крім того, побічні реакції спричиняються токсичною дією медикаментів на обмінні процеси, функції органів і систем, а також залежать від підвищеної чутливості організму хворого до повторного введення препаратів [75].

Значну групу ускладнень фармакотерапії становлять реакції токсичного характеру, зумовлені фармакологічними властивостями як власне протитуберкульозних препаратів, так і продуктів їх метаболізму. Розвиток токсичних ускладнень залежить також від дози й тривалості застосування лікарських засобів, характеру їх біотрансформації та елімінації, від функціонального стану основних ланок дезінтоксикаційної та екскреторної систем організму. Такі ускладнення мають органний характер, тому що виникають або як результат прямої фармакологічної дії на обмінно-ферментативні процеси в життєво важливих органах і системах, або внаслідок

опосередкованого впливу при метаболізм у цих органах [76]. Отже, виходячи з вищенаведеного, метою роботи було встановлення можливих змін основних регуляторних систем організму на проведення хіміотерапії у хворих на туберкульоз.

4.1 Клінічна характеристика системного метаболізму та деяких показників крові обстежених хворих

Відповідно до задач дослідження було обстежено 100 хворих на легеневий туберкульоз, що лікувалися в Одеській обласній клінічній протитуберкульозній лікарні. З них – 69 хворих на ВДТБ легень та 31 хворий на ХТБ легень. 36 практично здорових людей віком від 23 до 35 років ввійшли до групи контролю.

На основі загальноклінічних методів дослідження були отримані наступні характеристики системного метаболізму. Помірна анемія (Hb 90-110 г/л) спостерігалась у 11 % хворих на момент звернення до ООКПТЛ та виражена (Hb <90 г/л) – у 8 %, через 3 міс лікування помірна анемія спостерігалась у 13,8 % хворих на момент звернення до ООКПТЛ та виражена (Hb <90 г/л) – у 16,6 %. Підвищена швидкість осідання еритроцитів, зумовлена осіданням комплексів антиген-антитіло на їх поверхні, зустрічалась у 29 % хворих на туберкульоз на долікувальному етапі та у 35 % через 3 міс лікування. Зміни картини «білої крові» характеризувалися 57 % хворих з лейкоцитозом (вище 7 Г/л), у 29 % – зсув лейкоцитарної формули вліво (паличкоядерні нейтрофіли до 14 %), у 13 % хворих – зсув формули вправо, що характеризувало ступінь активності запального процесу регенаторні можливості кровоутворення.

За даними біохімічного аналізу крові у 20 % хворих визначався підвищений рівень загального білірубіну на початку лікування, що зріс за рахунок непрямой фракції. Через 3 міс протитуберкульозної терапії відсоткова частка таких хворих достовірно виросла до 41,6 % ($p < 0,05$). Відсоткова частка хворих з підвищеним рівнем трансаміназ складала для аланінамінотрансферази — 18 % з

помірним рівнем підвищення та 23 % з високим рівнем, для аспартатамінотрансферази — 24 % з помірним рівнем підвищення та 9 % з високим рівнем ферменту в сироватці крові.

Тимолова проба, підвищена у 27 % хворих на долікувальному етапі, через три міс хіміотерапії визначалася на високому рівні у 35 % хворих.

Встановлені клінічні показники вказують на присутні процеси запалення в організмі. Також, показники токсичного ураження печінки вказують на стан порушення дезінтоксикаційної системи організму, що внаслідок цього не справляється з рівнем потрапляючих в кров ксенобіотиків у вигляді продуктів розпаду бактерій, легеневої тканини та лікарських засобів.

4.2 Клінічна характеристика функціонального стану нирок обстежених хворих

Враховуючи те, що більшість антибіотиків екскретується нирками, порушення видільної функції останніх зумовлює не тільки тривалу циркуляцію метаболітів, але й порушення фармакодинаміки цих препаратів. Важливу роль при цьому відіграє фенотип метаболізму (повільні та швидкі метаболізатори) протитуберкульозних препаратів ферментами детоксикації ксенобіотиків та швидкість їхньої екскреції. Однією з причин токсичності цих лікарських засобів є наявність аміногруп (2 в ізоніазиді, 3 в стрептоміцині) в їхній структурі. Позитивно заряджені ПТП легко зв'язуються з негативно зарядженою гломерулярною базальною мембраною. По-перше, це тимчасово нейтралізує її заряд, а, по-друге, хімічна речовина ендцитозом переноситься до лізосом, що викликає ферментативну деградацію останніх та клітинну смерть [19].

В результаті обстеження хворих на туберкульоз легень було виявлено суттєве підвищення показників загального білка сечі у частини обстежених (табл. 4.1). Нормальний рівень загального білка сечі спостерігається у 52 % (52 з 100) хворих на легеневий туберкульоз на початку терапії ПТП. Через 3

міс від початку лікування кількість таких хворих знизилася ($p=0,05$) до 30,5 % (11 з 36).

Таблиця 4.1

Вміст загального білка в сечі хворих на легеневий туберкульоз, $\bar{x} \pm m_x$

Обстежувані групи	До лікування	При лікуванні	
		Через 1 місяць	Через 3 місяці
Обстежувані групи	Вміст білка, г/л	Вміст білка, г/л	Вміст білка, г/л
Хворі на туберкульоз легень, $n=100$	$0,03 \pm 0,006$	$0,029 \pm 0,006^2$	$0,068 \pm 0,01^1$
В тому числі: 1. хворі на ВДТБ легень, $n=69$	$0,028 \pm 0,007$	$0,021 \pm 0,006^2$	$0,065 \pm 0,01^1$
- хворі на ХТБ легень, $n=31$	$0,041 \pm 0,014$	$0,054 \pm 0,013^3$	$0,078 \pm 0,02$

Примітки: 1. 1 – різниця показників всередині групи хворих до лікування та через 3 місяці після початку лікування ($p < 0,05$);

2. 2 – різниця показників всередині групи хворих через 1 місяць та через 3 місяці після початку лікування ($p < 0,05$);

3. 3 – різниця показників між групами хворих на ВДТБ та ХТБ легень через 1 місяць після початку лікування ($p < 0,05$)

Цей показник достовірно вищий в групі хворих на ХТБ проти групи хворих на ВДТБ легень тільки через 1 місяць від початку протитуберкульозної терапії ($p < 0,05$), що пояснюється високим вмістом білка в сечі через 3 місяці лікування в обох групах.

Нормальні показники виділення альбумінів з сечею спостерігалися тільки у 18 % (18 з 100) хворих на легеневий туберкульоз на початку терапії ПТП. Через 3 місяці після початку лікування кількість хворих достовірно ($p=0,042$) знизилася до 2,7 % (2 з 36).

Рівень низькомолекулярних білків в сечі в усіх групах хворих на легеневий туберкульоз достовірно вищий від групи контролю ($p < 0,05$) (табл. 4.2).

В результаті обстеження хворих на туберкульоз легень було виявлено суттєве підвищення показників загального білка сечі у частини обстежених (рис. 4.1). Нормальний рівень загального білка сечі спостерігається у 52 % хворих на легеневий туберкульоз на початку терапії ПТП. Через 3 міс від початку лікування кількість таких хворих знизилася ($p=0,05$) до 31 % .

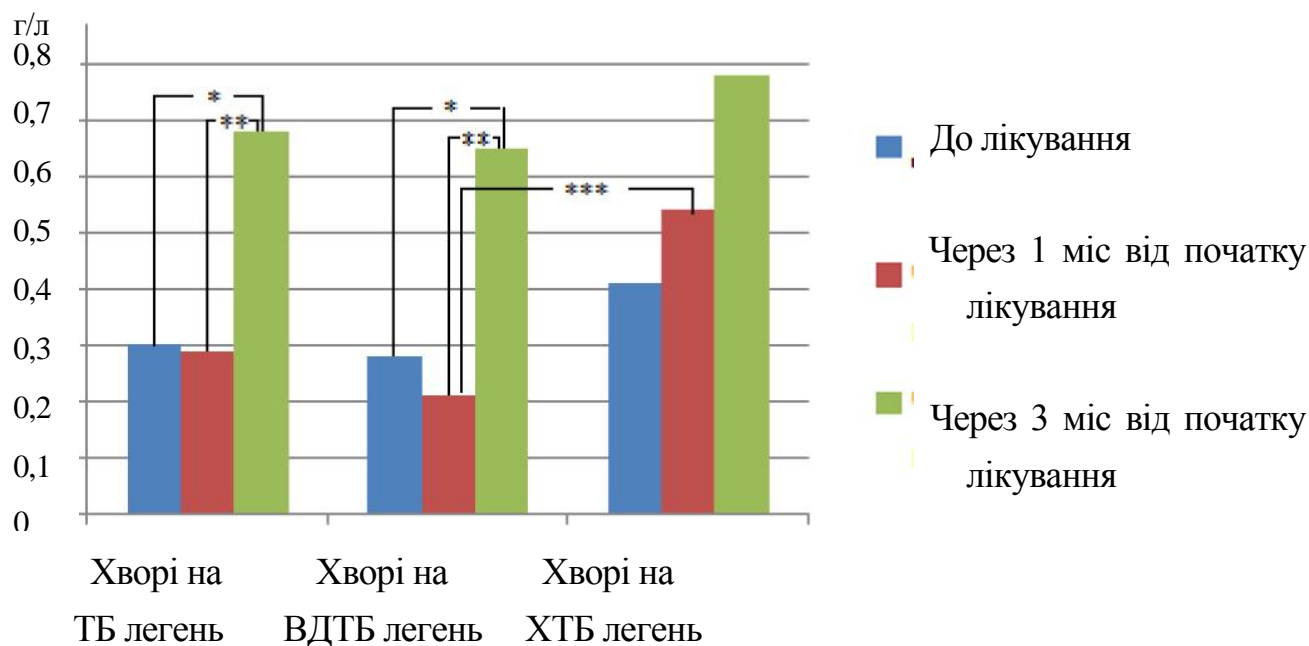


Рис. 4.1 Вміст загального білка в сечі хворих на легеневий туберкульоз

Примітка. *- статистично достовірна різниця ($p<0,05$)

Протягом лікування показник мікроальбумінурії зростає в усіх групах обстежених хворих ($p<0,05$) в порівнянні з початком лікування. Через 3 міс після початку лікування у хворих на ХТБ легень спостерігається значно вищий рівень мікроальбумінурії, ніж на попередніх етапах обстеження ($p<0,05$).

Таблиця 4.2

Рівень мікроальбумінурії у хворих на легеневий туберкульоз, $\bar{x} \pm m_x$

Обстежувані групи	До лікування Вміст білка, мг/л	При лікуванні	
		Через 1 міс Вміст білка, мг/л	Через 3 міс Вміст білка, мг/л
Хворі на туберкульоз легень, $n=100$	$0,18 \pm 0,01$	$0,24 \pm 0,02^2$	$0,29 \pm 0,03^2$
В тому числі: 2. хворі на ВДТБ легень, $n=69$	$0,17 \pm 0,01$	$0,25 \pm 0,02^2$	$0,26 \pm 0,04^2$

Продовження таблиці 4.2			
- хворі на ХТБ легень, n=31	0,21±0,01	0,23±0,02	0,34±0,03 ^{2,3}
Контрольна група, n=36	0,015±0,01 ¹	-	-

Примітки: 1. 1 – різниця групи хворих на туберкульоз легень та групи контролю ($p < 0,05$);

2. 2 – різниця показників всередині групи хворих через 1 міс та через 3 міс після початку лікування ($p < 0,05$);

3. 3 – різниця всередині групи хворих через 1 міс та через 3 міс після початку лікування ($p < 0,05$)

Відсоткова частина хворих з підвищеними показниками мікроальбумінурії 81 % значно більша від кількості хворих з наявністю загального білка в сечі 48 % ($p < 0,001$) на початку лікування та через 3 міс після госпіталізації до ООКПТЛ (96 % проти 68,75 % ($p < 0,005$), відповідно).

Рівень низькомолекулярних білків в сечі в усіх групах хворих на легенеий туберкульоз достовірно вищий від групи контролю ($p < 0,05$) (рис. 4.2).

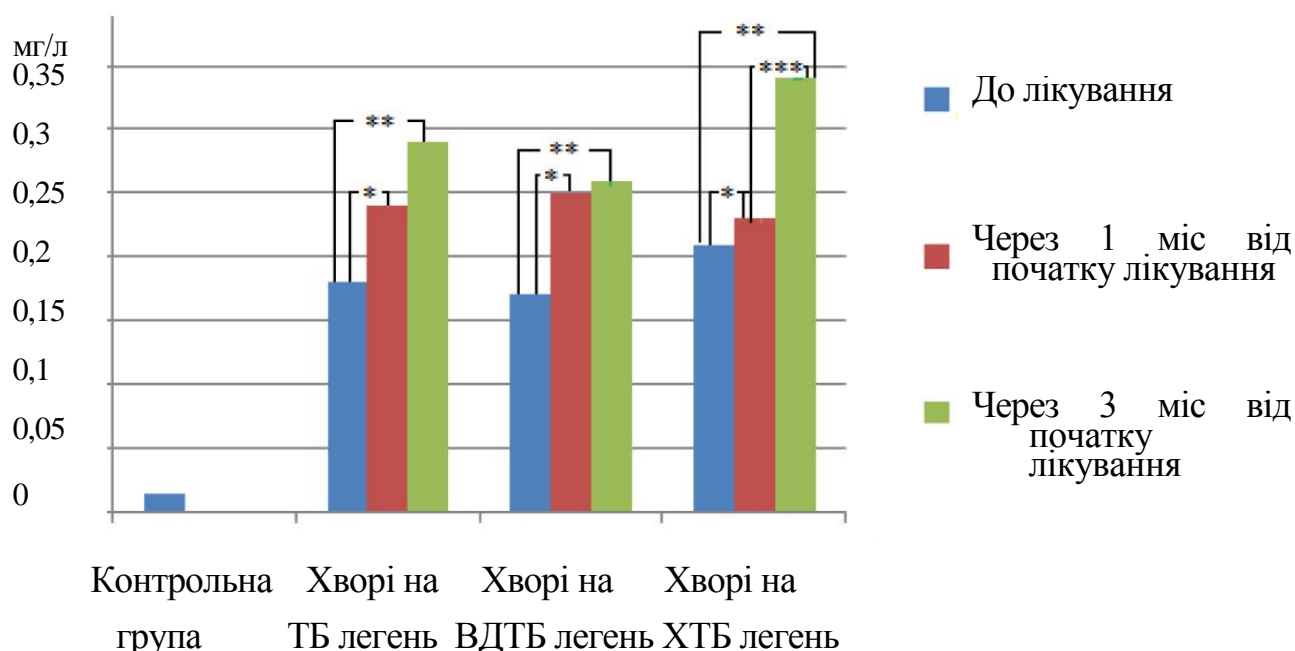


Рис. 4.2 Рівень мікроальбумінурії у хворих на легенеий туберкульоз

Примітка. *- статистично достовірна різниця ($p < 0,05$)

Проте показники залишкового азоту крові не мали інформаційної цінності в ранній та подальшій діагностиці порушення функцій нирок у хворих на туберкульоз легень. Так, в групі здорових людей його показник склав $26,5 \pm 0,4$ мг / 100 мл, а у хворих на туберкульоз легень він коливався від $27,2 \pm 0,3$ до $27,7 \pm 1,3$ мг/100 мл, і залишався незмінним протягом трьох місв лікування.

Отримані результати досліджень дозволяють зробити наступні попередні висновки:

- поява та зростання патологічних показників загального білка сечі та мікроальбумінурії протягом 3-х місв спостереження у хворих на легеневий туберкульоз вказує на порушення функціонального стану нирок на тлі протитуберкульозної терапії;

- достовірно більша кількість хворих з порушенням мікроальбумінурії і у порівнянні з кількістю хворих з наявністю загального білка в сечі свідчить про наявність серйозних порушень функції нирок, що не так наявно діагностуються на підставі загального аналізу сечі.

4.3 Залежність показників порушення видільної функції нирок у обстежених хворих від генотипів *GSTM1*, *GSTT1* та *NAT2*

Активні продукти I фази метаболізму ксенобіотиків (дезацетилрифампіцин, піразінова кислота [34]) поступають в загальний кровотік і можуть негативно впливати на функції систем організму. З печінки надходять в кров також продукти II фази метаболізму (дезацетилрифампіцин [98]). Значну роль в метаболізмі ліків на етапі II фази, у тому числі при взаємодії лікарських препаратів відіграють ферменти суперсімейства глутатіон-s-трансфераз (GST), а також ариламін-N-ацетилтрансферази 2 (NAT2) з притаманним їм генетичним поліморфізмом [121]. Різноманітна швидкість метаболізму лікарських препаратів та їх продуктів перетворення, обумовлена генетичними варіантами *GSTM1*, *GSTT1* та *NAT2* (2*4, 2*5, 2*6, 2*7) і визначає індивідуальний ризик та ступінь вираженості гепато- та нефротоксичності на тлі прийому ПТП.

В нирках людини експресуються три класи цитозольних ферментів: кислі, нейтральні та основні глутатіон-S-трансферази, що відрізняються структурно та функціонально [7]. Основні глутатіон-S-трансферази, також відомі як лігандіни, знаходяться в проксимальних звитих каналцях [8]. В нормі цей клас не знаходять в сечі, але кислі та основні форми глутатіон-S-трансферази з'являються при таких формах ураження каналців як ішемія, токсичність Cis-platinum, токсичне ураження гентаміцином та іншими протитуберкульозними препаратами [9]. Повільні ацетилятори за *NAT2* не можуть в потрібній мірі знешкодити відкриті аміногрупи молекул ПТП та їхніх метаболітів, що дуже легко зв'язуються з клітинною мембраною, запускаючи тим самим процес загибелі клітини [10].

Враховуючи значний вклад зазначених ферментів в біотрансформацію токсичних метаболітів, які порушують видільну функцію нирок і, як наслідок, зміну фармакодинаміки препаратів, доцільним є вивчення зв'язку між поліморфізмом генів детоксикації ксенобіотиків та функцією нирок у хворих на легеневий туберкульоз.

Таблиця 4.3

Вміст загального білка в сечі хворих на легеневий туберкульоз – усіх гомозигот за генами *NAT2*, $\bar{x} \pm m_x$

Обстежувані групи	До лікування		При лікуванні			
	Частка хворих з наявністю білка, %	Вміст білка, г/л	Частка хворих з наявністю білка, %	Вміст білка, г/л	Частка хворих з наявністю білка, %	Вміст білка, г/л
Хворі на ТБ легень, n=45, <i>NAT2</i> гомозиготи	42	0,04± 0,009	56,1	0,03± 0,007	77,8*	0,07± 0,01
Хворі на ВДТБ легень, n=33, <i>NAT2</i> гомозиготи	36,4	0,03± 0,009	48,4	0,02± 0,007	71,4*	0,06± 0,017
Хворі на ХТБ легень, n=12, <i>NAT2</i> гомозиготи	58	0,06± 0,019	80	0,07± 0,016	100	0,11± 0,02

Примітка. * – різниця достовірна (p<0,05)

При порівнянні часток хворих з цим показником через місяць та через 3 місяці після госпіталізації до ООКПТЛ спостерігається збільшення патології у хворих з генотипами *NAT2* гомозиготи ($p < 0,05$) (див. табл. 4.5).

При порівнянні часток хворих з цим показником через 1 місяць та через 3 місяці після госпіталізації до ООКПТЛ спостерігається погіршення показників загального білка сечі у хворих з генотипами *NAT2* гомозиготи, *del GSTT1ma* при наявності алелю *NAT2*5*.

Кількість хворих на туберкульоз гомозигот за генотипом *NAT2*4* недостатня для виявлення наявності закономірностей між конкретним генотипом та змінами вмісту загального білка в сечі.

Відсоткова частка хворих з наявністю загального білка в сечі достовірно зросла у хворих з генотипами *NAT 2* гетерозиготи, *del GSTM1* та при наявності алелю *NAT2*5* через місяць від початку лікування.

Таблиця 4.4

Вміст загального білка в сечі хворих на легеневий туберкульоз – гомозигот за геном *NAT2*4*, $\bar{x} \pm m_x$

Обстежувані групи	До лікування		При лікуванні			
			Через 1 місяць		Через 3 місяці	
	Частка хворих з наявністю білка,	Вміст білка, г/л	Частка хворих з наявністю білка, %	Вміст білка, г/л	Частка хворих з наявністю білка, %	Вміст білка, г/л
Хворі на ТБ легень, n=5, <i>NAT2</i> гомозиготи	20	0,03±0,03	20	0,013±0,01	50	0,009±0,01
Хворі на ВДТБ легень, n=3, <i>NAT2</i> гомозиготи	0	0,0±0,0	0	0,0±0,0	33	0,001±0,001
Хворі на ХТБ легень, n=2, <i>NAT2</i> гомозиготи	50	0,066±0,06	50	0,033±0,03	100	0,033±0,003

Цей показник достовірно вищий в групі хворих на ХТБ проти групи хворих на ВДТБ легень тільки через 1 місяць від початку протитуберкульозної терапії

($p < 0,05$).

При порівнянні часток хворих з цим показником через місяць та через 3 місяці після госпіталізації до ООКПТЛ спостерігається збільшення патології у хворих гомозигот за алелем *NAT2*5* ($p < 0,05$) (див. табл. 4.5).

В той же час відмічається суттєве зростання рівня загального білка сечі через 3 місяці лікування (тривалість інтенсивної фази лікування) порівняно з попередніми етапами обстеження ($p < 0,05$), як у хворих на вперше діагностований туберкульоз так і на хронічний туберкульозлегень.

Цей показник достовірно вищий в групі хворих на ХТБ проти групи хворих на ВДТБ легень тільки через 1 місяць від початку протитуберкульозної терапії ($p < 0,05$).

Таблиця 4.5

Вміст загального білка в сечі хворих на легеневий туберкульоз гомозигот за геном *NAT2*5*, $\bar{x} \pm m_x$

	До лікування		При лікуванні			
			Через 1 місяць		Через 3 місяці	
Обстежувані групи	Частка хворих з наявністю білка, %	Вміст білка, г/л	Частка хворих з наявністю білка, %	Вміст білка, г/л	Частка хворих з наявністю білка, %	Вміст білка, г/л
Хворі на ТБ легень, $n=51$, <i>NAT2*5</i>	39,2	$0,024 \pm 0,006$	$59,5^1$	$0,028 \pm 0,006$	$73,1^2$	$0,076 \pm 0,01$
Хворі на ВДТБ легень, $n=35$, <i>NAT2*5</i>	40	$0,019 \pm 0,007$	46,9	$0,013 \pm 0,005$	70^2	$0,07 \pm 0,014$
Хворі на ХТБ легень, $n=16$, <i>NAT2*5</i>	37,5	$0,033 \pm 0,014$	$90,9^1$	$0,07 \pm 0,017$	83	$0,09 \pm 0,02$

Примітки: 1. 1 – різниця показників всередині групи хворих до лікування та через місяць після початку лікування ($p < 0,05$);

2. 2 – різниця показників всередині групи хворих до лікування та через 3 міс після початку лікування($p<0,05$)

Показники загального білка сечі через 1 міс після початку лікування значно збільшилися серед пацієнтів з генотипами *NAT2* гетерозиготи, делецією *GSTM1* та гетерозигот за алелем *NAT2*5* в групі хворих на ХТБ, що було очікувано та може пояснюватись порушенням компенсаторних процесів у нирках хворих, що довготривалим прийомом протитуберкульозних препаратів, впливом факторів запалення та туберкульозної інтоксикації.

Таблиця 4.6

Вміст загального білка в сечі хворих на легеневий туберкульоз гомозигот за геном *NAT2*2*6*, $\bar{x}\pm m_x$.

	До лікування		При лікуванні			
			Через 1 міс		Через 3 міс	
Обстежувані групи	Частка хворих з наявністю білка, %	Вміст білка, г/л	Частка хворих з наявністю білка, %	Вміст білка, г/л	Частка хворих з наявністю білка, %	Вміст білка, г/л
Хворі на ТБ легень, n=45, <i>NAT2*6</i>	51,1	0,03± 0,008	44,7	0,023± 0,007	70,6	0,06± 0,015
Хворі на ВДТБ легень, n=40, <i>NAT2*6</i>	52,5	0,03± 0,008	41,2	0,024± 0,008	66	0,07± 0,016
Хворі на ХТБ легень, n=5, <i>NAT2*6</i>	40	0,05± 0,03	75	0,024± 0,008	100	0,033

Серед хворих на легеневий туберкульоз з генотипом *NAT2*6 /2*6* не виявлено достовірних змін на більше кількості загального білка сечі впродовж лікування (див. табл. 4.6).

Вміст загального білка в сечі хворих на легеневий туберкульоз – гетерозигот за генами *NAT2*, $\bar{x} \pm m_x$

	До лікування		При лікуванні			
			Через 1 міс		Через 3 міс	
Обстежувані групи	Частка хворих з наявністю білка, %	Вміст білка, г/л	Частка хворих з наявністю білка, %	Вміст білка, г/л	Частка хворих з наявністю білка, %	Вміст білка, г/л
Хворі на ТБ легень, n=30, <i>NAT2</i> гетерозиготи	40	0,018± 0,06	51,8	0,02±0 ,008	64,3	0,06± 0,017
Хворі на ВДТБ легень, n=23, <i>NAT2</i> гетерозиготи	47,8	0,018± 0,08	42,9	0,018± 0,09	60	0,07± 0,02
Хворі на ХТБ легень, n=7, <i>NAT2</i> гетерозиготи	14,3	0,019± 0,01	83,3*	0,02±0 ,008	75*	0,049± 0,03

Примітка. * – різниця достовірна ($p < 0,05$)

Вочевидь, генотип *NAT2*6 NAT2*6* не відіграє суттєвої ролі в розвитку патологічних станів нирок під впливом токсичної дії метаболітів ПТП.

Відсоткова частка хворих з наявністю загального білка в сечі достовірно зростала у хворих з генотипами *NAT 2* гетерозиготи ($p < 0,05$) впродовж всього часу обстеження хворих на хронічний туберкульоз (табл. 4.7).

Можливо система детоксикації гетерозигот за *NAT 2* не може забезпечити антитоксичний захист тканин нирок в ослабленому довготривалим перебігом туберкульозного процесу організмі хворого на хронічний туберкульоз легень.

Як видно з табл. 4.8 та 4.9 зростання частки хворих з підвищеним рівнем загального білка сечі протягом лікування може вказувати на внесок захисної дезінтоксикаційної дії глутатіон-S-трансфераз, що екскретуються в тканинах нирок при наявності немутантного алеля *GSTM1* та *GSTT1*.

Таблиця 4.8

Вміст загального білка в сечі хворих на легеневий туберкульоз з null-генотипами *GSTM1*, $\bar{x} \pm m_x$.

Обстежувані групи	До лікування		При лікуванні			
			Через 1 місяць		Через 3 місяці	
	Частка хворих з наявністю білка, %	Вміст білка, г/л	Частка хворих з наявністю білка, %	Вміст білка, г/л	Частка хворих з наявністю білка, %	Вміст білка, г/л
Хворі на ТБ легень, n=38, del <i>GSTM1</i>	42,1	0,04± 0,09	56,3	0,03± 0,008	66	0,05± 0,02
Хворі на ВДТБ легень, n=24, del <i>GSTM1</i>	41,7	0,03± 0,01	40	0,02± 0,009	60	0,05± 0,01
Хворі на ХТБ легень, n=14, del <i>GSTM1</i>	42,9	0,05± 0,01	83,3*	0,055± 0,015	80	0,07± 0,02

Примітка. * – різниця достовірна (p<0,05)

При порівнянні часток хворих з підвищення вмісту загального білка сечі спостерігалася деяка відмінність між хворими з мутацією за *GSTT1* та *GSTM1*.

Таблиця 4.9

Вміст загального білка в сечі хворих на легеневий туберкульоз з null-генотипами *GSTT1*, $\bar{x} \pm m_x$.

Обстежувані групи	До лікування		При лікуванні			
			Через 1 місяць		Через 3 місяці	
	Частка хворих з наявністю білка, %	Вміст білка, г/л	Частка хворих з наявністю білка, %	Вміст білка, г/л	Частка хворих з наявністю білка, %	Вміст білка, г/л
Хворі на ТБ легень, n=25, del <i>GSTT1</i>	36	0,02± 0,009	42,8	0,02± 0,009	75*	0,06± 0,01
Хворі на ВДТБ легень, n=18, del <i>GSTT1</i>	33,3	0,024± 0,01	43,8	0,015± 0,008	77,8*	0,06± 0,02
Хворі на ВДТБ легень, n=7, del <i>GSTT1</i>	42,9	0,019± 0,01	40	0,05± 0,02	33	0,06± 0,04

Примітка. * – різниця достовірна (p<0,05)

У хворих на туберкульоз, що не мають фермент GSTM, рівень загального білка сечі зріс через місяць після початку лікування в групі хворих на ХТБ, що може пояснюватись більш слабкою захисною дією ферменту при різькому підвищенні надходження токсичних ліків до організму. В той же час у хворих на туберкульоз, що не мають фермент GSTT, рівень загального білка сечі зріс не через місяць, а через 3 міс від початку терапії. Вірогідно, фермент GSTT відіграє важливу роль в роботі неспецифічної антиоксидантної системи при тривалій дії на організм токсичних речовин та їх накопиченні (див. табл. 4.9).

В декількох групах хворих з генотипами *NAT2* гомозиготи (табл.4.10), *del GSTM1* (табл.4.11) кількість хворих з високим рівнем мікроальбумінурії до лікування була дещо нижчою за таку в групах хворих з іншими генотипами *NAT2* ($p < 0,05$).

Таблиця 4.10

Рівень мікроальбумінурії у хворих на легенеий туберкульоз туберкульоз – гомозигот за *NAT2*, $\bar{x} \pm m_x$

Обстежувані групи	До лікування		При лікуванні			
	Частка хворих з високою мікроальбумінурією, %	Вміст білка, мг/л	Частка хворих з високою мікроальбумінурією, %	Вміст білка, мг/л	Частка хворих з високою мікроальбумінурією, %	Вміст білка, мг/л
Контрольна група n=36	0	0,015± 0,01**				
Хворі на ТБ легень, n=45, <i>NAT2</i> гомозиготи	88,9*	0,2± 0,02	100	0,21± 0,01	100	0,27± 0,03
Хворі на ВДТБ легень, n=33, <i>NAT2</i> гомозиготи	87,9*	0,18± 0,02	100	0,23± 0,017	100	0,25± 0,04
Хворі на ХТБ легень, n=33, <i>NAT2</i> гомозиготи	91,7	0,26± 0,06	91,7	0,2± 0,02	100	0,13± 0,009

Примітка. * – різниця достовірна ($p < 0,05$)

Незалежно від поліморфізму генів у всіх хворих на туберкульоз легень

спостерігалась наявність патологічних змін мікроальбумінурії через місяць та 3 місяці після початку лікування ПТП.

Зазначені зміни вказують на незначні порушення та підвищення проникності клітинних мембран ниркових клубочках.

При порівнянні відсоткових часток хворих з наявністю загального білка сечі та високим рівнем мікроальбумінурії в групах, розподілених за генотипами, на ідентичних етапах лікування було встановлено, що рівень низькомолекулярних білків значно перевищує вклад високомолекулярних майже в усіх групах ($p < 0,05$, $4,3 < \chi^2 < 31,7$), за винятком генотипу $NAT2^*2^*4/2^*4$.

Тобто у хворих, що є гомозиготи за $NAT2^*2^*4$, показники мікроальбумінурії, що вказують на преморбідні порушення видільної системи, зустрічаються в меншій кількості випадків, ніж у хворих з іншими варіантами генотипів ферментів $NAT2$ та, безпосередньо, рівень мікроальбумінурії значно нижчий від такого, більш стійкі до токсичної дії протитуберкульозної терапії

Наявність алелей $NAT2^*2^*5$ та $NAT2^*2^*6$ пов'язана зі значною зміною показників ураження тканин нирок протитуберкульозними препаратами ($p < 0,001$, $11,2 < \chi^2 < 31,7$).

Таблиця 4.11

Рівень мікроальбумінурії у хворих на легеневий туберкульоз з null-генотипами $GSTT1$, $\bar{x} \pm m_x$

Обстежувані групи	До лікування		При лікуванні			
	Частка хворих з високою мікроальбумінурією, %	Вміст білка, мг/л	Частка хворих з високою мікроальбумінурією, %	Вміст білка, мг/л	Частка хворих з високою мікроальбумінурією, %	Вміст білка, мг/л
Контрольна група n=36	0	0,015± 0,01*				
Хворі на ТБ легень, n=25, del <i>GSTT1</i>	100	0,24± 0,03	100	0,27± 0,03	100	0,32± 0,03

Продовження таблиці 4.11						
Хворі на ВДТБ легень, n=18, del <i>GSTT1</i>	100	0,2± 0,02	100	0,25± 0,04	100	0,29± 0,04
Хворі на ХТБ легень, n=7, del <i>GSTT1</i>	100	0,3± 0,09	100	0,31± 0,04	100	0,37± 0,07

Примітка. * – різниця достовірна ($p < 0,05$)

Як видно з табл.4.11 в групі хворих з делецією гена *GSTT1* виявили 100 % частоту порушення видільної функції нирок ще на етапі звернення до ООКПТЛ.

В той же час хворі на легеневий туберкульоз з null-генотипами *GSTM1* за показниками мікроальбумінурії можуть вважатися більш стійкими до неспецифічного ураження нирок під час розвитку туберкульозного процесу. Що може бути пов'язане з експресією основних форм глутатіон-S-трансферази-м в проксимальних звитих каналцях, що зв'яляються при винекнинні токсичних ускладнень [38].

Особливу роль в розвитку патологічного стану відіграють генотипи *NAT2* гомозиготи за генами *NAT2*5*, *NAT2*6*, *del GSTM1* та *del GSTT1* ($p < 0,05$, $5,6 < \chi^2 < 23,5$).

Таблиця 4.12

Рівень мікроальбумінурії у хворих на легеневий туберкульоз з null-генотипами *GSTM1*, $\bar{x} \pm m_x$

Обстежувані групи	До лікування		При лікуванні			
	Частка хворих з високою мікроальбумінурією, %	Вміст білка, мг/л	Частка хворих з високою мікроальбумінурією, %	Вміст білка, мг/л	Частка хворих з високою мікроальбумінурією, %	Вміст білка, мг/л
Контрольна група n=36	0	0,015± 0,01*				
Хворі на ТБ легень, n=38, del <i>GSTM1</i>	86,8*	0,17± 0,12	100	0,24± 0,02	100	0,24± 0,04

Продовження таблиці 4.12						
Хворі на ВДТБ легень, n=38, del <i>GSTM1</i>	83,3	0,15± 0,02	100	0,25± 0,04	100	0,26± 0,05
Хворі на ХТБ легень, n=38, del <i>GSTM1</i>	92,9	0,18± 0,03	100	0,22± 0,02	100	0,18± 0,04

Примітка. * – різниця достовірна ($p < 0,05$)

Отримані результати досліджень даного розділу дозволяють зробити наступні проміжні висновки:

- генотипи *NAT2* гетерозиготи, *NAT2* гомозиготи, *del GSTM1*, *del GSTT1* та наявність алелю *NAT2*2*5* можуть бути ендогенним чинником ризику стосовно порушення цілісності клітинних мембран фільтруючої та реабсорбуючої системи нирок під токсичним впливом ПТП.

- зважаючи на те, що 100 % хворих, які мають мутацію *del GSTT1* та високий показник мікроальбумінурії до початку лікування, можна передбачати, що null-алель *GSTT1* може бути чинником ризику щодо ураження базальних мембран клубочків нирок під час первинної імунної відповіді на *M.tuberculosis*.

Матеріали розділу представлені в наступних наукових працях:

1. Сметюк О. О. Порушення видільної функції нирок у хворих на легенеий туберкульоз при різних генотипах *GSTM1*, *GSTT1* та *NAT2* / Ю. І. Бажора, О. О. Сметюк, В. Й. Кресюн // Одеський медичний журнал. – 2011. – Т. 127, № 5. – С. 38–42.

2. Сметюк О. О. Роль визначення поліморфізму генів *NAT2* та *GST* у виявленні токсичного ураження нирок протитуберкульозними препаратами на доклінічному етапі / О. О.Сметюк // Молодь – медицині майбутнього : міжнар. наук. конф. студентів та молодих вчених, 28–29 квіт. 2011 р., Одеса : тези доп. – Одеса : ОНМедУ, 2011. – С. 49–50.

3. Сметюк О. О. Клінічна характеристика місцевого гомеостазу нирок хворих на туберкульоз легень на тлі прийому протитуберкульозних препаратів / О. О. Сметюк // Розвиток наукових досліджень 2011 : VII міжнар. наук.-практ.

конф., 28–30 лист. 2011 р., Полтава : тези доп. – Полтава : ІнтерГрафіка, 2011. – Т.5. – С. 56–60.

РОЗДІЛ 5

ОЦІНКА ТЯЖКОСТІ ТУБЕРКУЛЬОЗНОГО ПРОЦЕСУ З ДОПОМОГОЮ ЛАЗЕРНОЇ КОРЕЛЯЦІЙНОЇ СПЕКТРОСКОПІЇ

Численними дослідженнями встановлено, що в патогенезі туберкульозу частота уражень нирок знаходиться на другому місці після дихальних шляхів [37,48]. При цьому рівень патологічних порушень в нирках традиційно визначається проявом маркерів, що маніфестують виникнення ниркових ускладнень [57]. Однак, сформованим в видільній системі патологічним станам в обов'язковому порядку повинні передувати преморбідні порушення метаболізму, які зумовлюють подальший напрям розвитку патологічного процесу.

Клінічна доцільність верифікації преморбідних станів у видільній системі пов'язана з тим, що на рівні ініційованих функціональною дисрегуляцією встановлені зсуви з помітною ефективністю нівелюються, що дозволяє попередити більш загрозливі наслідки. Важливо підкреслити, що при одному й тому ж індукторі патологічних станів в нирках (в даному випадку туберкульозний процес) спрямованість та їх вираженість гранично різняться, оскільки це визначається індивідуальною епігенетичною програмою полісистемної регуляції функцій організму. Тому для детекції преморбідних функціональних станів доцільно застосовувати тільки ті методи, які дозволяють диференціювати варіанти функціональних напружень.

Досвід, накопичений протягом багаторічних досліджень у нашій лабораторії, дозволяє припустити, що до числа таких методів може належати лазерна кореляційна спектроскопія біологічних рідин. Цей метод дає можливість в кожному дослідженні встановлювати індивідуальний метаболічний статус, за епітопами якого інтерпретуються ті чи інші зсуви в регуляції метаболізму [9,38,39,44]. При одночасному дослідженні сироватки крові та сечі за варіантами збігів спрямованості встановлених зсувів можна об'єктивно судити

не тільки про вираженість цих зрушень, але й про поширеність порушень метаболізму, що реєструються (локалізовані або генералізовані). Очевидно, що на даних принципах може ґрунтуватися оцінка індивідуального функціонального напруження видільної системи, що дозволить об'єктивно оцінювати ефективність лікарської терапії. У зв'язку з чим ми проаналізували результати ЛКС-досліджень сироватки крові та сечі у хворих з вперше діагностованим туберкульозом (n=69) і у хворих на хронічний туберкульоз легень (n=31).

5.1 Результати оцінки ступеня напруженості системного метаболізму у хворих на туберкульоз, отримані при дослідженні сироватки крові

Основною характеристикою ЛК спектру сироватки крові здорової людини є переважання світлорозсіювачих часток з гідродінамічним радіусом 80 – 600 нм (середньо та крупномолекулярні глобуліни сироватки), з бімодальною гістограмою розподілу часток [9]. При різних патологічних процесах відбуваються зміни субфракційного складу сироватки крові (див. табл. 5.1).

Всього було обстежено 100 хворих на легеневий туберкульоз, що лікувалися в ООКПТЛ. З них – 69 хворих на ВДТБ легень та 31 хворий на ХТБ легень. 36 практично здорових людей віком від 23 до 35 років ввійшли до групи контролю.

З метою спрощення інтерпретації отриманих даних ми об'єднали всі варіанти діагностичних симптомокомплексів в 3 групи: 1) гідролітично-спрямовану (інтоксикаційно-спрямовані, катаболічно-спрямовані, дистрофічно-спрямовані), 2) синтетично-спрямовану (сума алергічно-спрямованих та аутоімунно-спрямованих зсувів), 3) змішана (алергічно-інтоксикаційні, аутоімунно-інтоксикаційні і алергічно-дистрофічні), що відображають знижену здатність до диференціювання метаболічних станів.

Табл. 5.1 Основні напрямки зсувів ЛК спектрів сироватки крові при різних патологічних процесах (класифікатор) [77]

Характер гомеостатичних зсувів	Напрямок спектральних зсувів
Алергоподібні зміни	Збільшення відсоткового складок часток у IV зоні спектра, а також на незначному рівні з'являються частки V
Інтотоксикаційно-подібні	Збільшення відсоткового складок часток II зони з помірним збільшенням часток в III зоні
Катаболічно-подібні	Значно збільшується відсотковий вклад часток в III зоні з незначним підвищенням часток в II зоні
Аутоімунно-подібні	Збільшується відсотковий вміст часток в V зоні
Дистрофічно-подібні	Збільшується відсотковий вміст часток в I зоні
Змішані алерго-інтотоксикаційно-подібні	Збільшення відсоткового складок часток у IV зоні з одночасним підвищенням вкладу часток в II зоні
Змішані аутоімунно-інтотоксикаційно-подібні	Збільшення відсоткового складок часток у V зоні з одночасним підвищенням вкладу часток в II зоні
Змішані алерго-дистрофічно-подібні -	Збільшення відсоткового складок часток у V зоні з одночасним підвищенням вкладу часток в I зоні

Як видно з табл. 5.2 та 5.3, нормологічно зважений варіант встановлюється тільки у 7 % обстежених пацієнтів, а різноманітність семіотично-зчеплених груп підкреслює виражену індивідуалізацію метаболічних варіантів. Виходячи з викладеного, початкова ситуація в обстежуваній групі хворих показала помітне пригнічення анаболічної напруженості метаболізму та підвищення катаболічної і змішаної спрямованості метаболічних процесів в організмі ($\chi^2=4,2; 6,7$).

Направленість системних метаболічних зсувів (за даними ЛКС-метрії сироватки крові) у хворих на туберкульоз до та на етапах лікування

Групи хворих Направленість метаболічних зсувів	Всі обстежені хворі на ТБ					
	До лікування		В процесі лікування			
			Через 1 міс		Через 3 міс	
	n=100	%	n=66	%	n=36	%
Нормологічні	6	6	4	6,1	0	0
інтоксикаційно-подібні	22	22	18	27,3	9	25
катаболично-подібні	12	12	7	10,6	2	5,5
дистрофічно-подібні	6	6	1	1,5	2	5,5
алерго-подібні	8	8	10	15,2	1	2,8
аутоімунно-подібні	10	10	8	12,1	5	13,9
алерго-інтоксикаційні	28	28	8	12,1¹	10	27,8²
аутоімунно-інтоксикаційні	8	8	10	15,2	7	19,4
алерго-дистрофічні	0	0	0	0	0	0

Примітки: 1. 1 – різниця показників всередині групи хворих до лікування та через 1 міс після початку лікування ($p < 0,05$);

2. 2 – різниця показників всередині групи хворих через 1 та 3 міс після початку лікування ($p < 0,05$)

Для туберкульозу, як і для будь-якого вираженого процесу інфекційно-запального характеру, притаманна циркуляція в крові комплексів АГ-АТ, зумовлених відповіддю гуморального імунітету. Такі зміни призводять до збільшення вкладу в ЛК-спектр сироватки крові часток розміром від 71нм (IV та V зони).

В свою чергу підвищений рівень імуноглобулінів (IgA та IgM=14нм) пояснює зростання вкладу в ЛК-спектр часток I та II фаз (до 31нм), а підвищений рівень IgG (5-8нм) та продуктів деструкції тканини легень – часток до 11нм (I зона).

Таблиця 5.4

Основні спрямування змін системного метаболізму (за даними ЛКС-метрії сироватки крові) в загальній групі хворих на туберкульоз до та на етапах лікування

Направленість метаболічних зсувів	Групи хворих		Всі обстежені хворі на ТБ			
	До лікування		В процесі лікування			
			Через 1 міс		Через 3 міс	
	n=100	%	n=66	%	n=36	%
Основні спрямування змін системного метаболізму						
нормологічний	6	6	4	6,1	0	0
гідролітичний	40	40	26	39,4	13	36,1
синтетичний	18	18	18	27,3	6	16,7
змішаний	36	36	18	27,3	17	47,2

При одночасному дослідженні сироватки крові і складу сечі за варіантами збігів спрямованості встановлених зсувів можна об'єктивно судити не тільки про вираженість цих зрушень, але й про те, чи є локалізованими або генералізованими зареєстровані поширення порушень метаболізму.

Таблиця 5.3

Основні спрямування змін системного метаболізму (за даними ЛКС-метрії сироватки крові) у хворих на вперше діагностований туберкульоз до та на етапах лікування

Направленість метаболічних зсувів	Групи хворих		Хворі на ВДТБ			
	До лікування		В процесі лікування			
			Через 1 міс		Через 3 міс	
	n=69	%	n=44	%	n=23	%
нормологічний	5	7,2	3	6,9	0	0
гідролітичний	27	39,1	21	47,7³	7	30,4
синтетичний	13	18,8	13	29,5	5	21,6
змішаний	24	34,8	7	15,9¹	11	47,8²

Примітки: 1. 1 – різниця показників всередині групи хворих до лікування та через 1 міс після початку лікування ($p < 0,05$);

2. 2 – різниця показників всередині групи хворих через 1 та 3 міс після початку лікування ($p < 0,05$);

3. 3 – різниця показників всередині групи хворих до лікування та через 3 міс після початку лікування ($p < 0,05$)

Туберкульозний процес супроводжується розладом системного метаболізму, розпадом тканин та токсемією. В кров потрапляють ендотоксини *M.tuberculosis*, продукти деградації білків, гліко-ліпідних комплексів тощо, підвищується рівень імуноглобулінів та імуних комплексів АГ-АТ («антиген-антитіло»).

Таблиця 5.4

Направленість системних метаболічних зсувів (за даними ЛКС-метрії сироватки крові) у хворих на вперше діагностований туберкульоз до та на етапах лікування

Направленість метаболічних зсувів	Хворі на ВДТБ					
	До лікування		В процесі лікування			
			Через 1 міс		Через 3 міс	
	n=69	%	n=44	%	n=23	%
Нормологічні	5	7,2	3	6,9	0	0
інтоксикаційно-подібні	14	20,3	14	31,8	5	21,7
катаболично-подібні	10	14,49	7	15,9	1	4,3
дистрофічно-подібні	3	4,3	0	0	1	4,3
алерго-подібні	7	10,1	8	18,2	1	4,3
аутоіmunно-подібні	6	8,7	5	11,4	4	17,4
алерго-інтоксикаційні	20	28,9	3	6,9*	5	21,7
аутоіmunно-інтоксикаційні	4	5,8	4	9,1	6	26,1^{*4}
алерго-дистрофічні	0	0	0	0	0	0

Примітка. * – різниця достовірна ($p < 0,05$);

Було встановлено, що основний вклад (близько 80 %) в змішану групу ЛК-спектру сироватки крові хворих на до лікувального етапі вносять алерго-

інтоксикаційні та аутоімунно-інтоксикаційні ($\chi^2=17,8$) направлення зсувів сироваткового метаболізму.

Таблиця 5.5

Направленість системних метаболічних зсувів (за даними ЛКС-метрії сироватки крові) у хворих на хронічний туберкульоз до та на етапах лікування

Групи хворих Направленість метаболічних зсувів	Хворі на ХТБ					
	До лікування		В процесі лікування			
			Через 1 міс		Через 3 міс	
	n=31	%	n=22	%	n=13	%
Нормологічні	1	3,2	1	4,5	0	0
інтоксикаційно-подібні	8	25,8	4	18,1	4	30,7
катаболично-подібні	2	6,5	0	0	1	7,7
дистрофічно-подібні	3	9,7	1	4,5	1	7,7
алерго-подібні	1	3,2	2	9,1	0	0
аутоімунно-подібні	4	12,9	3	13,6	1	7,7
алерго-інтоксикаційні	8	25,8	5	22,7^{*3}	5	38,4
аутоімунно-інтоксикаційні	4	12,9	6	27,3^{*3}	1	7,7
алерго-дистрофічні	0	0	0	0	0	0

Примітка. * – різниця достовірна ($p<0,05$)

Необхідно відзначити, що в динаміці лікування різко змінюється характер взаємовідносин між першою та другою групами зсувів у бік першої на фоні стабільності рівня гідролітично-спрямованих зсувів ($p<0,05$). Це дозволяє припустити, що комплексна хіміотерапія, призначена хворим на туберкульоз, помітно модифікує системний імунітет, а саме, його гуморальну ланку, але мало ефективна в плані захисту від інтоксикації.

Тут основний напрямок зсувів показників ЛКС сечі йде в бік анаболічного спрямування метаболічних процесів, що підкреслює внесок процесів імунного запалення в патогенез ураження нирок.

Основні спрямування змін системного метаболізму (за даними ЛКС-метрії сироватки крові) у хворих на хронічний туберкульоз до та на етапах лікування

Направленість метаболічних зсувів	Групи хворих		Хворі на ХТБ			
			До лікування		В процесі лікування	
					Через 1 міс	
	n=31	%	n=22	%	n=13	%
Основні спрямування змін системного метаболізму						
нормологічний	1	3,2	1	4,5	0	0
гідролітичний	13	41,9	5	22,7	6	46,1
синтетичний	5	16,1	5	22,7	1	7,7
змішаний	12	38,7	11	50*	6	46,2

Примітка. * – різниця достовірна ($p < 0,05$)

5.2 Результати оцінки ступеня напруженості місцевого метаболізму у хворих на туберкульоз, отримані при дослідженні сечі

Нирки беруть активну участь в знешкодженні та, з більшою, виведенні продуктів фізіологічного обміну речовин, тож в умовах патологічного процесу через орган проходить занадто велика кількість токсичних ендодуктів, що призводить до залучення резерву ниркової тканини для компенсації патологічних функціональних змін [31].

Суттєво інша ситуація спостерігається в системі місцевого метаболізму видільної системи (див. табл.5.4). Описані зміни констатуються майже в $\frac{3}{4}$ спостережень, що відповідає клінічним даним про часте ураження нирок при туберкульозі.

Одним з найбільш важливих симптомів порушення цілісності клубочків та каналців нирок патологічними процесами та токсичними речовинами, зокрема протитуберкульозними препаратами, є протеїнурія. Однією з причин токсичності цих лікарських засобів є наявність аміногруп (2 в ізоніазиді, 3 в стрептоміцині) в їхній структурі. Позитивно заряджені ПТП легко зв'язуються з

негативно зарядженою гломерулярною базальною мембраною. По-перше, це тимчасово нейтралізує її заряд, а, по-друге, хімічна речовина ендоцитозом переноситься до лізосом, що викликає ферментативну деградацію останніх та клітинну смерть.

Таблиця 5.7

Направленість макромолекулярного складу сечі (за даними ЛКС-метрії сечі) в загальній групі хворих на туберкульоз до та на етапах лікування

Направленість метаболічних зсувів	Групи хворих		Всі обстежені хворі на ТБ			
			В процесі лікування			
			До лікування		Через 1 міс	
	n=100	%	n=66	%	n=36	%
Нормологічні	8	8	6	9,1	0	2,8
інтоксикаційно-подібні	0	0	0	1,5	0	0
катаболічно-подібні	5	5	0	0	1	5,5
дистрофічно-подібні	2	2	1	1,5	0	2,8
алерго-подібні	43	43	17	43,9	9	47,2
аутоімунно-подібні	24	24	4	18,2	1	11,1
алерго-інтоксикаційні	6	6	1	9,1	1	2,8
алерго-аутоімунні	6	6	3	7,8	0	11,1
недиференційовані	6	6	3	9,1	1	16,7*

Примітка. * – різниця достовірна ($p < 0,05$)

Суть можливого пояснення цих факторів полягає в тому, що ПТП атакують рибосоми мітохондрій, що еволюціонували від бактеріальних рибосом, і як наслідок, припиняється енергопродукція та порушується пропускна здатність іонних каналів, що призводить до некрозу проксимальних каналців [7].

Кількість білка в сечі хворих на туберкульоз легень знаходиться на порозі чутливості традиційного загального аналізу сечі, що не завжди дає можливості виявити ступінь протеїнурії.

Основні спрямування змін місцевого метаболізму (за даними ЛКС-метрії сечі) в загальній групі хворих на туберкульоз до та на етапах лікування

Направленість метаболічних зсувів	Групи хворих		Всі обстежені хворі на ТБ			
			До лікування		В процесі лікування	
					Через 1 міс	
	n=100	%	n=66	%	n=36	%
нормологічний	8	8	6	9,1	0	2,8
гідролітичний	7	7	1	3	1	8,3
синтетичний	67	67	21	62,1	9	58,3
змішаний	18	18	7	25,8	2	30,6

З причини можливого ураження гломерулярного фільтраційного бар'єру та реабсорбції в проксимальних каналцях нирок вміст білка в сечі та його фракції відмінні від норми. Туберкульозна інтоксикація, оксидантно-антиоксидантні процеси супроводжуються зміною великої кількості біологічних рідин організму.

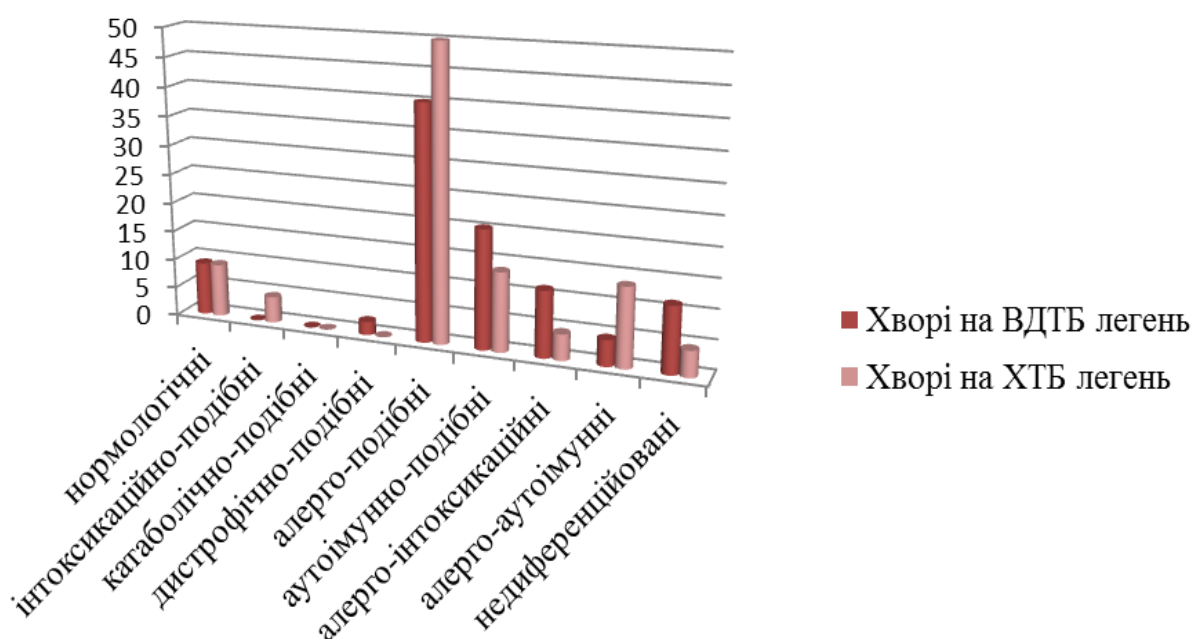


Рис. 5.1 Показники ЛКС-метрії сечі у хворих на вперше діагностований та хронічний туберкульоз легень

Примітка. * - різниця достовірна ($p < 0,05$)

У хворих на туберкульоз легень переважають високомолекулярні фракції сечі, що є компонентами синтетично-спрямованих змін, що ймовірно

відображає активні імунні процеси і надходження в сечу великих білкових молекул внаслідок порушення цілісності ниркового епітелію.

Таблиця 5.9

Направленість місцевих метаболічних зсувів (за даними ЛКС-метрії сечі) у хворих на вперше діагностований туберкульоз до та на етапах лікування

Направленість метаболічних зсувів	Групи хворих		Хворі на ВДТБ			
			До лікування		В процесі лікування	
					Через 1 міс	
	n=69	%	n=44	%	n=23	%
Нормологічні	5	7,2	4	9,1	0	0
інтоксикаційно-подібні	0	0	0	0	0	0
катаболично-подібні	4	5,8	0	0	1	4,3
дистрофічно-подібні	2	2,9	1	2,3	1	4,3
алерго-подібні	28	40,6	18	40,1	13	56,5
аутоімунно-подібні	20	29	9	20,4	2	8,7*
алерго-інтоксикаційні	3	4,3	5	11,4	1	4,3
алерго-аутоімунні	4	5,8	2	4,5	3	12,9
недиференційовані	3	4,3	5	11,4	2	8,7

Примітка. * – різниця достовірна ($p < 0,05$)

При нормальних показниках загального аналізу сечі підвищений рівень низькомолекулярних білків свідчить про початкові порушення процесів фільтрації та реабсорбції у нирках [8].

Таблиця 5.10

Основні спрямування змін місцевого метаболізму (за даними ЛКС-метрії сечі) у хворих на вперше діагностований туберкульоз до та на етапах лікування

Направленість метаболічних зсувів	Групи хворих		Хворі на ВДТБ			
			До лікування		В процесі лікування	
					Через 1 міс	
	n=69	%	n=44	%	n=23	%
нормологічний	5	7,2	4	9,1	0	0
гідролітичний	6	8,7	1	2,3	2	8,7

Продовження таблиці 5.10						
синтетичний	48	69,6	27	61,4	15	65,2
змішаний	10	14,5	12	27,3	6	26,1

В наших дослідженнях було встановлено, що відсоткова частина хворих з підвищеним вмістом мікроальбумінурії 81,4 % значно більша від кількості хворих з наявністю загального білка в сечі 48 % ($p < 0,001$) саме до початку лікування та через 3 міс після госпіталізації до (96,5 % проти 68,75 % ($p < 0,005$), відповідно).

Зазначена вище спрямованість зрушень не піддається модифікації навіть після тримісячного лікування, що свідчить про малу ефективність використовуваної схеми лікування у відновленні значно порушеного обміну речовин ниркових тканин (див. табл. 5.10).

Порівнюючи напрями змін зсувів у системному та локальному метаболізмі хворих на туберкульоз, можна вважати, що патогномонічні зсуви ниркової тканини не піддаються корекції за застосовуваної схеми протитуберкульозної терапії.

Порівнюючи результати системних та місцевих змін макромолекулярного складу у хворих на вперше діагностований та хронічний туберкульоз можна зробити наступні попередні висновки:

- рівень локалізованості катаболічної спрямованості метаболізму в нирковій тканині в однаковій мірі виражений як у хворих на ВДТБ, так і у хворих на ХТБ;

- застосована у обстежених хворих схема лікування в однаковій мірі ефективна щодо порушеної метаболічної регуляції як у ВДТБ, так і у ХТБ (рис. 5.2).

В цілому, наведені результати показали інформативність методу ЛКС біологічних рідин в оцінці порушень системного та місцевого метаболізму при туберкульозній інфекції.

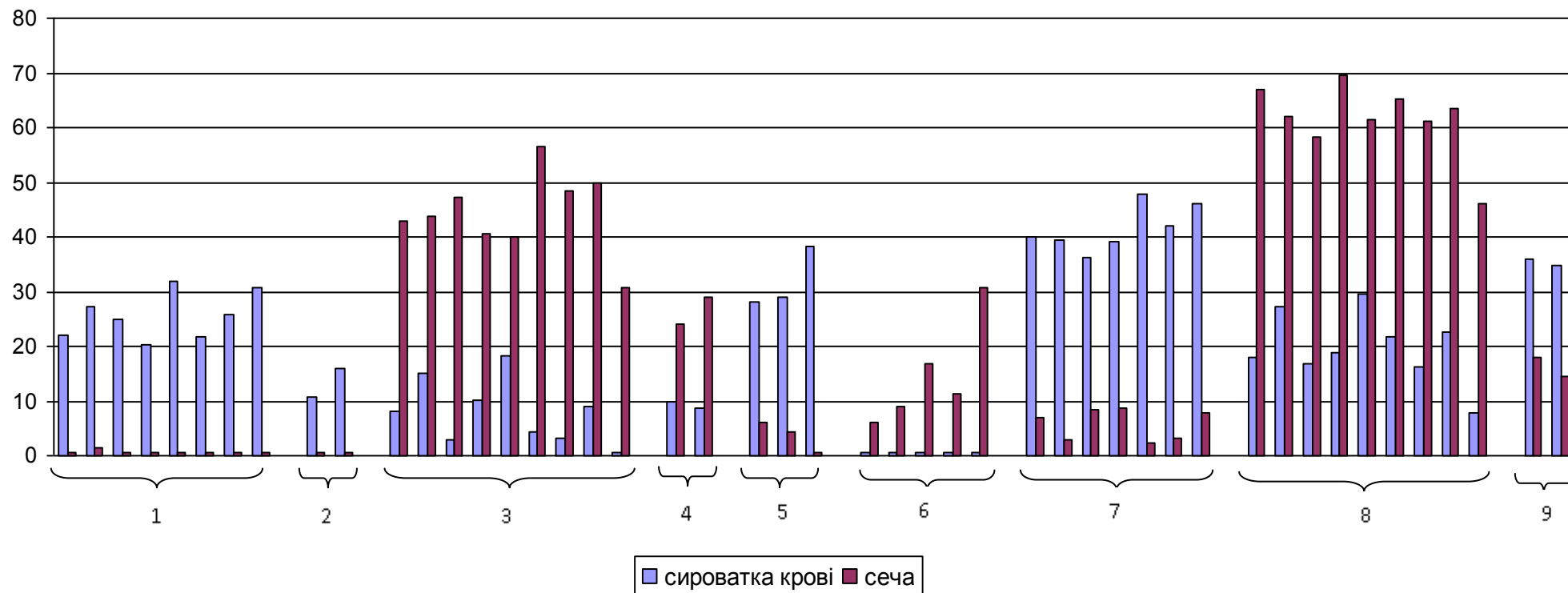


Рис.1 Зіставлення однозначних показників гомеостазу сироватки крові та сечі хворих на туберкульоз легень.

Примітка. По вертикалі: відносний внесок у світлорозсіювання;

По горизонталі: спрямування виявлених зсувів: 1) інтоксикаційно-спрямовані; 2) катаболічно-спрямовані; 3) алергічно-спрямовані; 4) аутоімунно-спрямовані; 5) алерго-інтоксикаційні; 6) алерго-дистрофічні; 7) гідролітично-спрямовані; 8) синтетично-спрямовані зсуви; 9) змішані.

Таблиця 5.11

Направленість місцевих метаболічних зсувів (за даними ЛКС-метрії сечі) у хворих на хронічний туберкульоз до та на етапах лікування

Групи хворих Направленість метаболічних зсувів	Хворі на ХТБ					
	До лікування		В процесі лікування			
			Через 1 міс		Через 3 міс	
n=31	%	n=22	%	n=13	%	
Нормологічні	3	9,7	2	9,1	1	7,7
інтоксикаційно-подібні	0	0	1	4,5	0	0
катаболічно-подібні	1	3,2	0	0	1	7,7
дистрофічно-подібні	0	0	0	0	0	0
алерго-подібні	15	48,4	11	50	4	30,7
аутоімунно-подібні	4	12,9²	3	13,6	2	15,4
алерго-інтоксикаційні	3	9,7	1	4,5	0	0
алерго-аутоімунні	2	6,5	3	13,6	1	7,7
недиференційовані	3	9,7	1	4,5	4	30,7¹

Примітки: 1. 1 – різниця показників всередині групи хворих до лікування та через 1 міс після початку лікування ($p < 0,05$);

2. 2 – різниця показників всередині групи хворих через 1 та 3 міс після початку лікування ($p < 0,05$)

Чисельна перевага синтетично-спрямованих змін метаболічних процесів в нирках (61,6 %, $3,27 < \chi^2 < 21,3$) може бути пов'язана з розвитком неспецифічних реакцій в тканинах нирок. Так, наприклад, циркулюючі в крові антитіла в нирках вступають у взаємодію із антигенами, і утворені імунні комплекси АГ-АТ-комплемента надходять в клубочки, відкладаються на базальній гломерулярній мембрані та призводять до змін функцій клубочків [5].

Характер макромолекулярних зсувів в сечі від норми в бік однієї або декількох фракцій (інтоксикаційно-подібні, катаболічно-подібні, дистрофічно-подібні, алерго-подібні, аутоімунно-подібні, алерго-інтоксикаційно-подібні, аутоімунно-інтоксикаційно-подібні та алерго-дистрофічно-подібні) може бути додатковим діагностичним критерієм початку патологічних змін та

використовуватись для ранньої превентивної діагностики токсичного ураження тканин нирок ПТП на стадії удаваного клінічного благополуччя у хворих на легеневий туберкульоз.

Таблиця 5.11

Основні спрямування змін тканинного метаболізму у нирках (за даними ЛКС-метрії сечі) у хворих на хронічний туберкульоз до та на етапах лікування

Направленість метаболічних зсувів	Хворі на ХТБ					
	До лікування		В процесі лікування			
			Через 1 міс		Через 3 міс	
	n=31	%	n=22	%	n=13	%
нормологічний	3	9,7	2	9,1	1	7,7
гідролітичний	1	3,2	1	4,5	1	7,7
синтетичний	19	61,3	14	63,6	6	46,1
змішаний	8	25,8	5	22,7	5	38,5

Таким чином, лазерна кореляційна спектроскопія є більш діагностично чутливою для виявлення таких процесів в нирках, бо дозволяє не тільки їх діагностувати, але й вказує на можливі механізми цих порушень.

5.3 Зв'язок хронізації туберкульозного процесу та стану системного та місцевого обміну макромолекул хворих на легеневий туберкульоз

У сучасній клінічній практиці оцінка ускладнень туберкульозного процесу здійснюється на основі диференціювання варіантів патоморфологічних процесів (дисеміновані і проліферативні форми), протяжності туберкульозних уражень (односторонніх і двосторонніх уражень легень), титру висіяних збудників і наявності супутніх ускладнень (частіше за все з боку нирок і кісткової системи). Всі перераховані ознаки помітною мірою віддзеркалюють тяжкість прогресуючого процесу в досить тривалих спостереженнях.

Для характерної динаміки процесу у строки окремих курсів комбінованої

терапії традиційно використовують результати загальнолабораторних досліджень, що віддзеркалюють перманентні зрушення в гематологічному статусі, біохімічні порушення в сироватці крові та супутні порушення з боку нирок. Перераховані дослідження з позицій сучасних уявлень про епігенетичну регуляцію дисрегуляторних напружень у системі метаболізму організму не завжди є достатньо інформативними, оскільки виявляють зрушення вже на стадії сформованого патологічного процесу. У зв'язку з цим їх прогностична ефективність апріорі помітно поступається тим підходам, які встановлюють обтяжливі показники на преморбідних стадіях функціональних дисрегуляцій, тобто таких, що передують формуванню патологій. До останніх підходів відноситься раннє виявлення регуляторних напружень в системах сироваткового (загальноорганізмowego) і тканинного макромолекулярного складу, інформованість яких встановлена при багатьох актуальних захворюваннях (Комаров Г.Д. зі співавт., 2001). Це послужило нам підставою для вивчення інформативності лазерної кореляційної спектроскопії біологічних рідин у вивченні патогенезу ускладнень туберкульозного процесу.

Під спостереженням перебувало 58 пацієнтів з встановленою туберкульозною природою легневих уражень. З них – 45 хворих з вперше діагностованим туберкульозом легень і 13 хворих на хронічний туберкульоз легень. Відповідно до стандартної схеми DOTS хворі отримували препарати I ряду (ізоніазид, рифампіцин, піразинамід, стрептоміцин, етамбутол) і препарати II ряду-офлоксацин, ципрофлоксацин, левофлоксацин, канаміцин, амікацин, капреоміцин, етіонамід, протіонамід, тіоацетазон, кислоту пара-аміносаліцилову (ПАСК), рифабутин, залежно від категорії захворювання.

Кожному пацієнту проводили весь традиційний набір мікробіологічних, цитогематологічних та клініко-біохімічних обстежень на базі клінічної лабораторії Одеської ООКПТЛ. Характер співвідношення макромолекул та їх комплексів сироватки крові і сечі встановлювали на лазерному кореляційному спектрометрі ЛКС-03 «Інтокс» (прилад створений у відділі молекулярної та радіаційної біофізики С.-Петербурзького інституту ядерної фізики РАН),

призначеного для вивчення макромолекулярного складу різних біологічних рідин. Аналіз отриманих результатів проводили з використанням «семіотичного» класифікатора (Бажора Ю.І., Носкін Л.А., 2001).

Таблиця 5.12

Частоти зустрічаємості патологічно-виражених значень за окремими лабораторним параметрами, що використовуються в клініці туберкульозу на момент звернення (гематологічна діагностика)

Найменування параметра	Ступінь вираженості	Число спостережень	%
Еритроцити	менше N	5	17 %
	більше N	-	-
Кольоровий показник	знижений	9	15 %
	підвищений	-	-
Гемоглобін	помірно знижений +	4	6 %
	значно знижений ++	7	12 %
	всього	11	18 %
ШОЕ	помірно підвищена +	11	18 %
	значно підвищена ++	15	25 %
	всього	26	43 %
Лейкоцитоз		33	55 %
Зсув формули	вліво	17	28 %
	вправо	7	12 %
	всього	24	40 %
Білірубін загальний		16	27 %
АЛТ	помірно збільшений +	10	17 %
	значно підвищений + +	12	20 %
	всього	22	37 %
АСТ	помірно збільшений +	13	22 %
	значно підвищений + +	4	6 %
	всього	17	28 %
Ліпопротеаза (все в N)	-	-	-

У табл. 5.12 і 5.13 наведені результати виявлення інформативно-значущих зрушень, які встановлюються в периферичній крові та в сечі, за допомогою традиційних клініко-лабораторних підходів обстеження хворих на туберкульоз.

До найбільш частих презентативних відхилень з боку метаболізму крові відносяться показники ШОЕ (43 %), лейкоцитозу (55 %) і зрушення у формулі крові (40 %), що встановлюються у половини хворих. Відносно часто (майже у кожного 3-його пацієнта) виявляється підвищений рівень АЛТ (37 %) і АСТ (28 %), але з помітним внеском помірних значень.

Таблиця 5.13

Частоти зустрічаємості патологічно-виражених значень за окремими лабораторним параметрами, що використовуються в клініці туберкульозу на момент звернення (дослідження сечі)

Найменування параметра	Ступінь вираженості	Число спостережень	%
Мутність сечі		19	31 %
Лейкоцитурія		8	13 %
Слиз		16	27 %
Загальний білок в сечі	+	4	6 %
	++	10	17 %
	всього	14	23 %
Мікроальбумінурія	+	20	33 %
	++	25	42 %
	всього	45	75 %
Швидкість клубочкової фільтрації	помірно знижена	10	17 %
	значно знижена	18	30 %
	помірно збільшена	12	20 %
	значно підвищена	3	5 %
	всього	43	72 %
Канальцева реабсорбція (все в N)	-	-	-

Принципово інша ситуація відстежується за інтерпретації варіантів регуляції системного (табл. 5.14) та місцевого (табл. 5.15) обміну макромолекул на основі ЛКС біологічних рідин (сироватки крові і сечі відповідно).

Як видно з табл. 5.14, тільки в 4-х спостереженнях (7 %) реєструвався нормо логічно-подібний тип метаболічного профілю. Звертає на себе увагу і той факт,

що у хворих на туберкульоз виявляється досить різноманітний набір семіотично-зчеплених варіантів, причому, тільки в 7-ми спостереженнях (12 %) відзначалися початкові ступені вираженості метаболічних зрушень, притому, що в 10-ти спостереженнях (17 %) ступінь вираженості відповідав патологічній зміні.

Таблиця 5.14

Частоти зустрічаємості метаболічних варіантів макромолекулярного профілю у хворих на туберкульоз на момент звернення

Найменування семіотичного варіанта	Ступінь вираженості			Сума	%
	початковий	помірний	виражений		
нормологічний	4	-	-	4	7 %
алергоподібний	-	2	3	5	9 %
інтоксикаційно-подібний	-	5	5	10	17 %
катоболічно-подібний	2	6	-	8	14 %
аутоімунно-подібний	1	2	1	4	7 %
дистрофічно-подібний	-	3	1	4	7 %
змішаний алерго-інтоксикаційний	3	16	-	19	32 %
змішаний аутоімунно-інтоксикаційний	1	3	-	4	7 %
змішаний аутоімунно-дистрофічний	-	-	-	-	-
Всього				58	100 %

З боку місцевого обміну речовин (табл. 5.15) обстежувана група хворих також не відрізняється помітною обтяженістю. Висока частота відхилень від референтних значень виявляється тільки на рівні високочутливої детекції мікроальбумінурії (75 %), при цьому в 1 / 3 спостережень вона знаходиться на початковій стадії вираженості. Практично майже в $\frac{3}{4}$ з числа спостережень встановлюється порушення клубочкової фільтрації, але при цьому, тільки у 1/3 пацієнтів цей розрахунковий параметр знижений, а в $\frac{1}{4}$ з числа спостережень виявляється навіть підвищена швидкість клубочкової фільтрації. Важливо

підкреслити і ту обставину, що в жодному спостереженні не було встановлено порушення функції кальцієвої реабсорбції, а клінічно підтверджений пієлонефрит реєструвався лише в 4-х спостереженнях (7 %). Таким чином, передбачувана інформативність традиційної клініко-лабораторної діагностики в диференціації тяжкості туберкульозного процесу досить не аргументована.

На основі експериментально-теоретичних уявлень (Бажора Ю.І., Носкін Л.А., 2001) про полісистемний аналіз ЛКС-спектрів біологічних рідин до числа прогностично-несприятливих відносяться змішані семіотичні варіанти, які у дослідженій групі встановлювалися у 23 пацієнтів (40 %). Таким чином, в сукупності, обтяжені варіанти метаболічних дисрегуляцій виявлялися більш, ніж у половині спостережень, що свідчить про помітну тяжкість туберкульозної інфекції з боку регуляції системного метаболізму.

Ще більш обтяжена ситуація реєструється стосовно метаболічної регуляції в нирках (див. табл. 5.15).

Таблиця 5.15

Частоти зустрічаємості метаболічних варіантів місцевого метаболізму у хворих на туберкульоз на момент звернення

Найменування Семіотичного варіанта	Ступінь вираженості			Сума	%
	початковий	помірний	виражений		
нормологічний	5	-	-	5	9 %
алергоподібний	3	-	27	30	52 %
інтоксикаційно-подібний	-	-	-		
катоболічно-подібний	-	1	1	2	3 %
аутоімуно-подібний	2	1	9	12	21 %
дістрофічно-подібний	-	-	2	2	3 %
змішаний алерго-інтоксикаційний	-	1	-	1	1 %
змішаний аутоімуно-інтоксикаційний	-	-	1	1	2 %
змішаний аутоімуно-дістрофічний	5	-	-	5	9 %
Всього				58	100 %

Як видно з наведених результатів, серед обстеженої групи у кожного другого пацієнта відзначається алергоподібний семіотичний варіант, причому, з різким пріоритетом вираженого ступеня. Якщо до цих зрушень додати 21 % аутоіммуно-подібних семіотичних варіантів, то ми можемо констатувати виражені імунні зрушення в ниркових тканинах у переважній кількості спостережень (73 %). Подібний регуляторний зсув є важливою обтяжливою ознакою в проблематиці оцінки ефективності використовуваної комплексної терапії туберкульозу.

З позицій фундаментальних уявлень генетично детермінованих механізмів саногенетичної регуляції метаболізму організму та окремих органів різноспрямованість метаболічних зрушень в сироватці крові та в сечі свідчить про ускладнений варіант мікро- (тканинних) і макро- (загальноорганізменних) системних взаємодій, що визначають ступінь локалізації зформованих патологічних процесів. Часто виявляемий рівень алерго-аутоімунних сенсibiliзацій передбачає необхідність доповнювати комплексну антимикробну терапію препаратами, які знижують рівень виявлених імунних порушень.

На основі наведених узагальнень, можна припустити, що варіанти метаболічних зрушень в сироватці крові і в сечі, які виявляються при ЛКС-дослідженнях, в цілому, прогнозують обтяженість туберкульозного процесу. Разом з тим, з урахуванням вираженої різноманітності семіотичних варіантів метаболічних зрушень (див. табл. 5.9 і 5.10), встановленого у відносно нечисленній вибірці, ми припустили, що для даного припущення необхідно обмежити число семіотичних варіантів, з тим, щоб оцінювати тільки їх спрямованість без урахування ступеня вираженості. Для цього серед 8-ми диференційованих семіотичних груп ми виділили три напрямки:

1. гідролітично-спрямовані, куди увійшли варіанти: інтоксикаційно-подібні, катаболічних-подібні і дистрофічно-подібні;
2. проліферативно-спрямовані, куди увійшли варіанти: алерго-подібні та аутоімунно-подібні;
3. змішані, куди увійшли всі три поєднані варіанти.

У клінічній практиці до числа прогностично-інформативних показників туберкульозу найчастіше відносять такі:

1. рівень реєстрованого бактеріовиділення;
2. ступінь поширеності процесу (односторонній, двосторонній);
3. патоморфологічна вираженість (дисемінований, проліферативний);
4. наявність супутніх захворювань.

Оскільки негативні результати бактеріологічних висівів були встановлені тільки в 6-ти спостереженнях (10 %) і ще в 9-ти спостереженнях реєструвався початковий рівень (+) (15 %), то ці групи були об'єднані.

У табл. 5.11 представлені результати співвідношень метаболічних варіантів в сироватці крові і в сечі з рівнями зареєстрованого виділення з мокротою *M.tuberculosis*.

Таблиця 5.16

Співвідношення частоти співвідношень метаболічних варіантів системного і ниркового метаболізму та рівня бактеріовиділення у хворих на туберкульоз

Рівні бakte- ріо виді- лення	Варіанти метаболічних зсувів							
	В сироватці крові				В сечі			
	Нор- моло- гічні	Гідро- літичні	Пролі- фера- тивні	Зміша- ні	Нор- моло- гічні	Гідро- літич- ні	Про- ліфе- ра- тивні	Змі- шані
—, +	15,8 %	14,8 %	14,8 %	14,8 %	15,0 %	0	14,8 %	16,7 %
++	21,4 %	22,2 %	21,4 %	22,2 %	22,2 %	22,2 %	21,9 %	22,2 %
+++	0	21,9 %	21,4 %	22,2 %	0	0,25 %	21,9 %	21,7 %

З наведеного бачимо, що в міру наростання рівня бактеріовиділення в сироватці крові знижується частота зустрічаємості нормологічних варіантів і профілеративно-спрямованих, але при цьому зростає частота зустрічаємості гідролітично-спрямованих і змішаних. Виходячи з наведених результатів, можна вважати, що з підвищенням рівня бактеріовиділення зростає ймовірність анаболічної супресії і посилюється внесок недиференційованих дисрегуляцій в сироватковому метаболізмі на тлі помітного зниження імунного дисбалансу.

Дещо інша ситуація визначається в системі місцевого (у нирках) метаболізму. Перш за все, превалуючий варіант імунних порушень не залежить

від рівня бактеріовиділення. З цього можна зробити висновок, що основний внесок в імунний дисбаланс тканин нирок вносить комплексна антибактеріальна терапія, застосована за аналогічними схемами практично у всіх спостереженнях. Разом з тим, підвищений рівень бактеріовиділення супроводжується помітним зростанням частоти зустрічаємості змішаних функціональних дисрегуляцій і зниження частоти зустрічаємості нормологічно-подібних варіантів. В цілому, результати ЛКС-тестувань як сироваткового, так і ниркового метаболізму збігаються з тими очікуваннями навантаженості туберкульозного процесу, які передбачаються з наростанням бактеріовиділення.

В клінічній практиці досить часто загальна обтяженість туберкульозного процесу трактується з позицій ступеня його поширеності. У вивченій нами групі тільки в 14 спостереженнях був зареєстрований односторонній туберкульозний процес, що характеризується наступними варіантами сироваткового та місцевого метаболізму.

Таблиця 5.17

Співвідношення метаболічних профілів в сироватці крові і в сечі при односторонньому туберкульозному процесі

Характер уражень	Варіанти метаболічних зсувів							
	В сироватці крові				В сечі			
	Нормологічні	Гідролітичні	Проліферативні	Змішані	Нормологічні	Гідролітичні	Проліферативні	Змішані
По всій групі	57,1 %	59,5 %	56,3 %	57,5 %	55,6 %	57,1 %	58,3 %	58,3 %
Односторонній процес	14,3 %	13,9 %	57,5 %	13,6 %	13,6 %	14,3 %	14,0 %	14,3 %

Як видно з табл. 5.17, при односторонньому туберкульозному процесі в сироватці крові в 2 рази частіше виявляються нормологічно-зважені варіанти метаболізму і в 2 рази рідше реєструються недиференційовані метаболічні

дисрегуляції. У місцевому метаболізмі нормологічні варіанти при односторонньому процесі реєструють в 2,5 рази частіше, ніж в цілому, по групі, але важливо, що це відбувається на рівні помітного зниження частоти проліферативно-спрямованих зрушень, різко превалюють на рівні обстеженої вибірки.

З числа супутніх патологій в обстежуваній групі в 14 спостереженнях встановлена емфізема легень і в 4-х спостереженнях – піелонефрит. На жаль, в силу низької частоти детекції клінічних варіантів, супутніх захворювань, немає можливості диференціювати функціональні метаболічні дисрегуляції щодо форм і стадій супутньої патології. Однак, якщо апріорі взяти до уваги те, що супутні патології, в цілому, здатні ускладнювати процеси метаболічної регуляції як на загальноорганізмовому, так і на тканинному рівнях, то це припущення об'єктивно підтверджується наведеними в табл. 5.18 результатами.

Таблиця 5.18

Варіанти метаболічних дисрегуляцій в сироватці крові і в сечі у хворих на туберкульоз із супутніми патологічними ускладненнями.

Варіанти метаболічних зсувів							
В сироватці крові				В сечі			
Нормологічні	Гідролітичні	Проліферативні	Змішані	Нормологічні	Гідролітичні	Проліферативні	Змішані
0%	18,0%	17,6%	18,2%	0%	9,1%	16,9%	18,2%

За частотою гідролітично-спрямованих і змішаних зрушень в сироватці крові виділена група помітно більш обтяжена, ніж узагальнена група. До такого ж висновку можна прийти і на підставі аналізу варіантів метаболічної дисрегуляції в нирках, де частіше, ніж у кожного п'ятого реєструються змішані, найбільш прогностично ускладнені, варіанти.

В клінічній практиці до числа об'єктивних критеріїв, що диференціюють варіанти патоморфологічної картини туберкульозу, відносяться рентгенологічні ознаки інфільтративних і дисемінованих процесів. Ці форми туберкульозного процесу були зареєстровані у досліджуваній групі з гранично близькою частотою, що і дозволило нам з достатнім ступенем достовірності порівняти

частоти зустрічаємості функціональних змін в кожній з підгруп.

Як видно з наведених в табл. 5.19 результатів, при дисемінованих формах туберкульозу в сироватці крові в 1,5 рази рідше реєструються гідролітично-спрямовані метаболічні зрушення, але в тій же пропорції збільшується частота зустрічаємості проліферативно-спрямованих і змішаних зрушень. У органному метаболізмі при інфільтративних формах туберкульозу з переважною частотою (84 %) встановлюються проліферативно-спрямовані метаболічні спрямування, що, швидше за все, й обумовлює часто (майже в половині випадків) встановлюваний інтоксикаційний варіант метаболічних змін на рівні сироваткового макромолекулярного профілю.

Таблиця 5.19

Порівняльний аналіз проліферативних і інфільтративних форм туберкульозу.

Форма туберкульозного процесу	Варіанти метаболічних зсувів							
	В сироватці крові				В сечі			
	Нормологічні	Гідролітичні	Проліферативні	Змішані	Нормологічні	Гідролітичні	Проліферативні	Змішані
Дисемінована	28,6 %	36,4 %	27,3 %	27,9 %	28,6 %	27,3 %	28,1 %	27,8%
Інфільтративна	30,0 %	31,1 %	28,8 %	31,3 %	33,3 %	33,3 %	30,9 %	33,3 %

Підсумовуючи викладені вище результати, ми можемо зробити висновок, що експресна малоінвазивна діагностика біологічних рідин за допомогою ЛКС в достатній мірі диференціює обтяженість функціональних дисрегуляції при різних рівнях вихідного бактеріовиділення, ступеня поширеності туберкульозного процесу, його патоморфологічної вираженості і передбачуваної навантаженості супутніми захворюваннями. Оскільки перерахованими показниками в клінічній практиці найчастіше користуються в оцінці прогнозу ефективності комбінованої терапії, то цілком обґрунтованою є спроба встановити варіанти зустрічаємості метаболічних дисрегуляцій в сироватці крові і в сечі в залежності від інтегральної оцінки терапевтичної

ефективності лікування.

Ранжир терапевтичної ефективності здійснювався на наступних принципах:

1. малоефективна терапія відповідала оцінці – "без змін і стабілізації";
2. ефективна терапія – "часткове розсмоктування туберкульозних осередків на тлі стабілізації процесу";
3. виражено-ефективна терапія – "зменшення розмірів порожнин, зниження кількості вогнищ, ознаки рубцювання".

Підкреслимо, що клінічна оцінка ефективності протитуберкульозної терапії проводилася в інтервалі тримісячного лікування. З урахуванням обмеженості вибраного інтервалу, позначені ранжиром оцінки терапевтичної ефективності були виявлені в наступній пропорції: 1 – 24 спостереження (41 %), 2 – 25 спостережень (42 %), 3 – 10 спостережень (17 %). Важливим є те, що напрями метаболічних змін встановлювалися на момент початку лікування. Такий аналіз передбачає встановлення варіантів терапевтичної ефективності в залежності від початкових спрямувань метаболічних зрушень.

Таблиця 5.20

Ранжир терапевтичної ефективності комбінованої хіміотерапії хворих на туберкульоз легень.

Ранжи ри терапе втич ної ефекти вності	Варіанти метаболічних зсувів							
	В сироватці крові				В сечі			
	Нор- моло- гічні	Гідро- літичні	Пролі- фера- тивні	Зміша- ні	Нор- моло- гічні	Гідро- літич- ні	Про- ліфе- ра- тивні	Змі- шані
Мало ефекти вна	0 %	24,4 %	23,1 %	10,42 %	0 %	0 %	23,6 %	25,0%
Ефект ивна	25,0 %	25,0 %	25,0 %	25,0 %	25,0 %	25,0 %	25,0 %	25,0 %
Поміт ноефек тивна	20,0 %	100 %	100 %	100 %	10,0 %	10,0 %	10,0 %	100 %

Як видно з наведених в табл. 5.20 результатів, малоефективна терапія спостерігалася в підгрупі, в якій відзначалася найбільш висока частота

зустрічаємості гідролітично-спрямованих і змішаних метаболічних зрушень в сироватці крові, а також проліферативно-спрямованих і змішаних зрушень в місцевому метаболізмі. Іншими словами, анаболитична супресія в сироватковому метаболізмі і аутоімунна сенсibiliзація в місцевому метаболізмі часто супроводжують малодиференційовані метаболічні зрушення на загальноорганізменному і тканинному рівнях, представляються показниками малоефективних результатів застосованої терапії.

На основі встановленої прогностичної інформативності варіантів метаболічних дисрегуляцій в сироватці крові і в сечі, ми вважали цілком обґрунтованим вивчити динаміку характеру мінливості напрямів функціональних дисрегуляцій. При цьому, динамічні зрушення гідролітично-спрямованих і змішаних варіантів в бік проліферативно-спрямованого і нормологічно-спрямованого варіанту в сироватці крові припускав позитивну динаміку лікування. Відповідно, динаміка проліферативно-спрямованих і змішаних зрушень в сторону гідролітично-спрямованих і нормологічно-зважених варіантів в сечі також припускав позитивну динаміку лікування. У табл. 5.21 наведено результати відповідності оцінок терапевтичної ефективності специфічної терапії (3 міс лікування) між клінічними спостереженнями і ЛКС-дослідженнями.

Таблиця 5.21

Відповідність оцінок терапевтичної ефективності специфічної терапії (три міс лікування) між клінічними спостереженнями і ЛКС-дослідженнями.

Ранжири терапевтичної ефективності	Оцінка варіантів динамічних зсувів			
	В сироватці крові		В сечі	
	позитивна	негативна	позитивна	негативна
Малоефективна	7,9 %	8,1 %	8,0 %	8,0 %
Ефективна	20,0 %	20,0 %	20,0 %	20,0 %
Помітно-ефективна	7,9 %	8,3 %	7,9 %	8,3 %

Динаміка метаболічних зрушень простежувалася у 36 пацієнтів (61 %),

серед яких на основі клінічних спостережень у 8 хворих реєструвався перший ранжир терапевтичної ефективності (22 %), у 20 хворих – 2-ий ранжир (56 %) і у 8 хворих – 3-ій ранжир (22 %).

Відповідно до наведених результатів, спостерігається високий ступінь кореляції в оцінках ефективності хіміотерапії туберкульозу, заснованих на клінічних ознаках і ЛКС-дослідженнях (див. табл. 5.16). Важливим є факт, що критерії динаміки зрушень у системі системного та місцевого метаболізму гранично близькі. Ця обставина робить перспективною клінічну значимість ЛКС-досліджень як об'єктивного дослідження функціональної навантаженості загальноорганізмного та тканинного гомеостазу в динаміці туберкульозного процесу.

Отримані результати досліджень даного розділу дозволяють зробити наступні проміжні висновки:

- традиційна клініко-лабораторна діагностика функціонального стану нирок в диференціації тяжкості впливу туберкульозного процесу на орган не є достатньо інформативною;

- методом ЛКС було встановлено значущі порушення з боку регуляції системного метаболізму під впливом туберкульозного процесу, що проявлялося в наявності тяжких варіантів зрушень загального обміну речовин серед більшої половини обстежених хворих на туберкульоз;

- високий рівень (73 %) алерго-аутоімунних сенсibiliзацій саме в місцевому нирковому гомеостазі, відмінних від змін в системному метаболізмі та незначних або відсутніх змін клініко-лабораторного комплексу вказує на наявність преморбідного етапу порушень тканин нирок патологічними системними проявами туберкульозного процесу та, можливо, комплексною антимікробною терапією;

- лазерна кореляційна спектроскопія біологічних рідин є ефективним допоміжним методом розрізнення патогномонічних змін системного метаболізму в залежності від наявності бактеріовиділення, типу та ступеня поширеності туберкульозного процесу;

- виявлена динаміка змін та кореляцій між системним та місцевим метаболізмом методом ЛКС сироватки крові та сечі може вважатися прогностичним критерієм позитивної або негативної динаміки ефективності як безпосередньо загальної протимікробної хіміотерапії, а також доповнення її антитоксичною та корегуючою метаболізм терапією.

Матеріали розділу представлені в наступних наукових працях:

1. Сметюк О. О. Оцінка дизрегуляторних станів видільної системи на основі лкс-метрії сироватки крові і сечі хворих на туберкульоз у процесі лікування / Ю. І.Бажора, О. О.Сметюк // Буковинський медичний вісник. – 2011. – Т. 15, №4. – С. 8–13.

2. Сметюк Е. А. Лазерная корреляционная спектроскопия в диагностике токсических нефропатии больных туберкулезом легких / Е. А. Сметюк, М.М.Чеснокова // Клинико-лабораторный консилиум. – СПб, 2011. – Т. 39, № 3. – С. 70. (Биохимия – Биофизика _ Информатика – три кита лабораторной медицины XXI века : конф. 2011 : тези доп.).

РОЗДІЛ 6

ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

На основі приведених в огляді літератури результатів клінічного та експериментального аналізу нефротропного ефекта протитуберкульозних препаратів можна виділити основні напрями досліджень зазначеної проблеми, що спрямовані на розкриття патофізіологічних механізмів порушення ренальних гомеостатичних функцій, спровокованих хіміопрепаратами і токсичними продуктами, які утворюються при туберкульозній інфекції, та розробку клініко-лабораторного комплексу діагностики. Це дасть можливість виявити результати негативного впливу ПТП на діяльність нирок ще на етапі доклінічної маніфестації. Нирки мають інтенсивний кровообіг, високий рівень енергетичного обміну, що обумовлює їх високу чутливість до гіпоксії впливу різних токсичних факторів. Нирки швидко залучаються до патологічних процесів, що відбуваються при оксидативному стресі, який має місце у хворих на туберкульоз внаслідок туберкульозної інтоксикації та дисбалансу оксидантно-антиоксидантної системи. Перед обговоренням власних результатів досліджень необхідно підкреслити, що однією з причин цитотоксичного, а, саме, нефротоксичного ефекту протитуберкульозних препаратів є наявність в молекулах активних функціональних груп. Наприклад, токсичний потенціал прямо пропорційний кількості аміногруп ($-NH_2$). Позитивно заряджені молекули ізоніазиду, ацетилгідразину, що несуть на собі одну аміногрупу, легко зв'язуються з негативно зарядженими молекулами фосфоліпідів клітинної мембрани та поглинаються в процесі ендоцитозу, потрапляють в лізосоми, де не деградують, а накопичуються. Це може призводити до викиду у цитосироватку ферментів детоксикації та спричинити активацію апоптозу чи некроз і клітинну смерть [3,5,19]. Як підтвердження такого висновку можна привести дані експериментальних

спостережень [9-11], згідно яким після курсового введення гентаміцину та рифампіцину ушкодження на рівні каналців та клубочків нирок виявлялися значним зниженням швидкості клубочкової фільтрації, процесів реабсорбції з протеїнурією, зниженням діурезу та зменшенням осмотичного розведення сечі у щурів. При гістохімічному дослідженні клітин нирок тварин досліджуваних груп визначалось пригнічення мітохондріальної активності, енергозабезпечення синтетичних та зниження детоксикаційних можливостей клітин нирок дослідних тварин. Автори припускають, що прогресування тубулярних дисфункцій пов'язане з високою концентрацією препаратів в нирках (особливо в просвіті каналців), обумовлених клубочковою фільтрацією та секрецією препарату нирками каналцевого епітелію. Констатується також, що рівень патологічних змін в нирках залежить від кількості препаратів, що вводили тваринам. Так, в експериментах було встановлено, що в групі морських свинок, які отримували два ПТП: ізоніазід і рифампіцин, у тварин епітелій звитих каналців нирок був набряклий, в стані зернистої дистрофії. В групі морських свинок, які отримували п'ять протитуберкульозних препаратів: ізоніазід, рифампіцин, стрептоміцин, піразінамід і етамбутол, дистрофічні зміни клітин звитих каналців були більш виражені та часто нагадували гіаліново-крапельну дистрофію.

Загально-клінічні методи виявлення патологічного процесу, як правило, передбачають отримання специфічних маркерів. Так, лабораторна діагностика синдрому ендогенної інтоксикації базується на дослідженні концентрації сечовини, креатинину, білірубіну та інших змін в сироватці крові. Іншими показниками можуть бути молекули середньої маси [98], загальної та ефективної концентрації альбуміну [19, 34], показники осмоляльності, розрахунок лейкоцитарних індексів інтоксикації та інші. В свою чергу, вираженість запального процесу прийнято оцінювати за змінами лейкоцитарної формули, ступінню підвищення ШОЕ, вираженості диспротеїнемії та концентрації окремих білків «гострої фази».

Слід підкреслити, що такий традиційний підхід створює певні труднощі в інтерпретації результатів з позиції інтегральної оцінки загального та місцевого метаболізму, оскільки не враховує характер міжмолекулярних взаємовідносин окремих складових, що знаходяться в біологічному середовищі.

Тому в нашому дослідженні була здійснена спроба розробити нові клініко-лабораторні критерії оцінки тяжкості патологічного процесу в тканинах нирок під впливом протитуберкульозних препаратів на базі досліджень сироватки крові та центрифугату сечі методом лазерної кореляційної спектроскопії у хворих на туберкульоз легень в залежності від поліморфних варіантів генів детоксикації ксенобіотиків, а саме глутатіон-S-трансфераз M1 та T1 та ариламін-N-ацетилтрансферази 2. Поліморфізм генів *GST* и *NAT2* відіграє значну роль в появі ускладнень в процесі лікування туберкульозу. Гідразин, що утворюється внаслідок гідролізу ізоніазиду, має тенденцію до накопичення у хворих з *GSTM1*-null генотипом, та моноацетилгідразин, який накопичується в організмі повільних ацетиляторів з наявністю алелей *NAT2*5* та *NAT2*6*, можуть привести до нефротоксичності. Отже, визначення ролі поліморфізму генів *GST* и *NAT2* в розвитку патофізіологічних механізмів порушень видільної функції нирок у хворих на туберкульоз легень та отримання критеріїв розвитку преморбідних станів є дуже важливим в подальших дослідженнях в області лікування туберкульозу.

Дисертаційна робота базується на дослідженні 172 хворих на вперше діагностований туберкульоз легень, хронічний туберкульоз легень, які знаходилися на стаціонарному лікуванні в Обласній клінічній протитуберкульозній лікарні з відділенням інвалідів ВВВ, а також 34 практично здорових осіб.

В процесі роботи були використані наступні методи дослідження: загальноклінічні (вивчення анамнезу захворювання та життя, скарг та даних об'єктивного огляду), лабораторні методи дослідження (загальний аналіз

крові та сечі, визначення в крові рівня β -ліпопротеїдів, сечовини, креатиніну, загального білірубину та його складників, залишкового азоту; визначення в сечі рівня креатиніну, сечовини, альбумінів) для клінічної оцінки стану загального та місцевого метаболізму. Швидкість ацетилювання визначали методом спектрофотометрії метаболітів сульфадимезину в сечі. Активність N-ацетилтрансферази залежить від поліморфності варіантів генів, що кодують ту чи іншу форму білка-фермента. Визначення поліморфізму генів *GSTM1*, *GSTT1* та *NAT2* проводили за допомогою молекулярно-генетичного методу. В роботі використовували метод мультиплексної полімеразної ланцюгової реакції, під час якої на базі виділеної ДНК з крові пацієнтів та специфічних праймерів ампліфікували велику кількість повторів варіантів генів пацієнта. Реєстрацію та аналіз результатів проводили в 1,5 % агарозному гелі в минаючому УФ-світлі. Для аналізу сироватки та сироватки крові відносно білкових інгредієнтів, а також для реєстрації білкових складових сечі, котра за результатами більшості загальних методів вважається вільною від білка, використовували високочутливий метод лазерної кореляційної спектроскопії. Використовували методи стандартної статистичної обробки отриманих результатів за допомогою програми Statistica for Windows.

В роботі проведено аналіз патофізіологічних механізмів порушення функції нирок за умови застосування специфічної протитуберкульозної терапії у хворих з туберкульозом легень в залежності від поліморфізму генів глутатіон-S-трансферази- μ і глутатіон-S-трансферази- θ (*GSTM1*, *GSTT1*) та N-ацетилтрансферази *NAT2*, що обумовлюють індивідуальну відповідь системного та місцевого метаболізму на циркуляцію токсичних хіміопрепаратів та їх похідних в організмі.

Детоксикація при допомозі глутатіону відіграє ключову роль в забезпеченні резистентності клітин до перекисного окислення ліпідів, вільних радикалів, алкілуванні білків та у попередженні пошкодження ДНК [99]. За наявності мутації (при «нульовому» варіанті) білкові продукти взагалі не

синтезуються [23].

В процесі виконання роботи було встановлено, що відсотковий розподіл генного поліморфізму генів *GSTM1*, *GSTT1* та *NAT2* в групі хворих на туберкульоз легень відповідає частоті нуль-алелей, встановленої для європеоїдної раси, для *GSTM1*-40-45 % і для *GSTT1*-15-25 % та для *NAT2**4 – 20-25 %, *NAT2**5 – 32-37 %, *NAT2**6 – 28-32 %, *NAT2**7 – 0-5 %.

Виявлено, що мутація за геном *GSTT1* має можливий вплив на адаптаційні здатності організму, оскільки з підвищенням вікового показника частота наявності у людини гену зростала. Проте частота null-алелю *GSTM1* в групі хворих на ХТБ достовірно відрізняється від показників в групах контролю та хворих на ВДТБ легень (71,4 %, $p < 0,05$ проти 44,4 % та 32,6 %, відповідно). Цей факт може вказувати на вірогідний зв'язок даної мутації з глибоким порушенням імунних реакцій організму людини з туберкульозною інфекцією та розвитком хронізації туберкульозного процесу.

Було визначено, що гомозигот за *NAT2**5/2*5, 2*6/2*6, 2*7/2*7 достовірно більше серед хворих на ХТБ легень та в загальній групі хворих на легеневий туберкульоз в порівнянні з групою контролю (68,4 % та 58,6 %, відповідно, проти 36,1 %, $p < 0,05$), що може вказувати на можливу роль генотипу повільного метаболізму на меншу здатність організму до протистояння туберкульозній інфекції.

Встановлена висока частка поліморфних варіантів *NAT 2**5 та *NAT2**6 в групі хворих на легеневий туберкульоз легень вказує на можливий вплив низької швидкості ацетилювання патогенних чинників зовнішнього середовища на захворюваність туберкульозом легень. До того ж в групі хворих на ХТБ легень було встановлено збільшення частоти null-алелю *GSTM1*, що свідчить про наявність асоціації між мутацією та хронізацією туберкульозного процесу.

Дослідження швидкості ацетилювання в загальній групі хворих на легеневий туберкульоз та групі хворих на ВДТБ легень показали, що

повільних ацетиляторів в цих групах достовірно більше, ніж в групі контролю (93,3 % та 94,4 %, відповідно, проти 77,8 %, $p < 0,05$). Серед хворих на легеневий туберкульоз повільних ацетиляторів достовірно більше, ніж в групі здорових осіб, що може мати негативні наслідки токсичної дії ліків при тривалій протитуберкульозній терапії, в тому числі, на фільтраційний апарат нефронів та функцію реабсорбції. Фенотип ацетилювання, встановлений у хворих на легеневий туберкульоз, які отримують ПТП, відповідає генотипам за *NAT2*.

Було встановлено, що патологічні показники загального білка сечі та мікроальбумінурії зростали протягом 3-х місв спостереження у хворих на легеневий туберкульоз, а це вказує на порушення фільтраційних та реабсорбційної та видільної функції нирок на тлі протитуберкульозної терапії. Достовірно більша кількість хворих з порушенням мікроальбумінурії і, у порівнянні з кількістю хворих з наявністю загального білка в сечі, свідчить про наявність серйозних порушень видільної функції нирок, що не так наявно діагностуються на підставі загального аналізу сечі.

Серед усіх хворих, які мають мутацію *del GSTT1* високий показник мікроальбумінурії визначається ще до початку лікування. Зважаючи на це, можна передбачати, що null-алель *GSTT1* може бути чинником ризику щодо ураження базальних мембран клубочків нирок під час первинної імунної відповіді на *M.tuberculosis*.

На жаль, існуючі методи лабораторної діагностики не завжди дозволяють виявити початкові процеси ураження ниркової функції. За даними літератури цим вимогам відповідає метод лазерної кореляційної спектроскопії. Метод ЛКС дозволяє встановлювати індивідуальний метаболічний статус, за епітопами якого інтерпретуються ті чи інші зсуви в регуляції метаболізму [76, 79, 81].

Завдяки цьому методу можливо вивчати зміни системи метаболізму у відповідь на розвиток патологічного процесу. Характер гомеостатичних зсувів в сечі від норми в бік однієї або декількох фракцій (інтоксикаційно-

подібні, катаболічно-подібні, дистрофічно-подібні, алерго-подібні, аутоімунно-поібні, алерго-інтоксикаційно-подібні, аутоімунно-інтоксикаційно-подібні та алерго-дистрофічно-подібні) можуть бути додатковими діагностичними критеріями початку патологічних змін та використовуватись для ранньої превентивної діагностики токсичного ураження ПТП тканин нирок на стадії уявного клінічного благополуччя у хворих на легеневої туберкульоз [55].

При одночасному дослідженні сироватки крові і складу сечі за варіантами збігів спрямованості встановлених зсувів можна об'єктивно судити не тільки про вираженість цих зрушень, але й про те, чи є локалізованими або генералізованими зареєстровані поширення порушень метаболізму.

В цілому, наведені результати показали інформативність методу ЛКС біологічних рідин в оцінці порушень системного та місцевого метаболізму при туберкульозній інфекції. Необхідно відзначити, що в динаміці лікування різко змінюється характер взаємовідносин між синтетично-спрямованими та катаболічно-спрямованими групами зсувів у бік першої на фоні стабільності рівня гідролітично-спрямованих зсувів ($p < 0,05$). Це дозволяє припустити, що комплексна хіміотерапія, призначена хворим на туберкульоз, помітно модифікує системний імунітет, а саме, його гуморальну ланку, але мало ефективна в плані захисту від інтоксикації.

Було встановлено, що рівень локалізованості катаболічної спрямованості метаболізму в нирковій тканині в однаковій мірі виражений як у хворих на ВДТБ, так і у хворих на ХТБ. Тож застосована у обстежених хворих схема лікування в однаковій мірі ефективна щодо порушеної метаболічної регуляції як у ВДТБ, так і у ХТБ.

Чисельна перевага синтетично-спрямованих змін метаболічних процесів в нирках ($61,6\%$, $3,27 < \chi^2 < 21,3$) може бути пов'язана з розвитком неспецифічних реакцій в тканинах нирок. Так, наприклад, циркулюючі в крові антитіла в нирках вступають у взаємодію із антигенами, і утворені

іmunні комплекси АГ-АТ-комплемента надходять в клубочки, відкладаються на базальній гломерулярній мембрані та призводять до змін функцій клубочків. Окрім того, порушення механізмів детоксикації внаслідок генного поліморфізму може призвести до їх накопичення у клітинах каналцевого епітелію. Бо, з одного боку, у цьому відділі нефрону проходить метаболізм ксенобіотиків, а з другого – реабсорбція білку. Ксенобіотики та їх метаболіти можуть пошкоджувати епітелій проксимальних, що призводить до порушення реабсорбції білків, а натомість протеїнурії. Тобто, можливими причинами протеїнурії можуть бути підвищення завантаження нефрону білком, в першу чергу, мілко дисперсним альбуміном та наступним зменшенням транспорту білка у пошкоджених каналцях. Таким чином, лазерна кореляційна спектроскопія є більш діагностично чутливою для виявлення таких процесів в нирках.

Туберкульозна інтоксикація, оксидантно-антиоксидантні процеси супроводжуються зміною складу більшості біологічних рідин організму. Спрямованість таких метаболічних змін можна оцінити за допомогою метода ЛКС.

У хворих на туберкульоз легень переважають високомолекулярні фракції сечі, що являються компонентами синтетично-спрямованих змін, що вірогідно відображає активні місцеві іmunні реакції та потрапляння в сечу великих білкових молекул внаслідок порушення цілості ниркового епітелію.

Методом ЛКС було встановлено значущі порушення з боку регуляції системного метаболізму під впливом туберкульозного процесу, що проявлялося в наявності тяжких варіантів зрушень загального метаболізму серед більшої половини обстежених хворих на туберкульоз.

Встановлений високий рівень (73 %) алерго-аутоіmunних сенсibiliзацій саме в місцевому метаболізмі, відмінних від змін в системному метаболізмі та незначних або відсутніх змін клініко-лабораторного комплексу, вказує на наявність преморбідного етапу порушень тканин нирок патологічними

системними проявами туберкульозного процесу та, можливо, комплексною антимікробною терапією.

Отже, традиційна клініко-лабораторна діагностика функції нирок в диференціації тяжкості впливу туберкульозного процесу на орган не є достатньо інформативною. В свою чергу, лазерна кореляційна спектроскопія біологічних рідин є ефективним допоміжним методом розрізнення патогномонічних змін системного метаболізму в залежності від наявності бактеріовиділення, типу та ступеня поширеності туберкульозного процесу. Виявлена динаміка змін та кореляцій між системним та місцевим обміном речовин методом ЛКС сироватки крові та сечі може вважатися прогностичним критерієм позитивної або негативної динаміки ефективності як безпосередньо загальної протимікробної хіміотерапії, а також доповнення її антитоксичною та корегуючою метаболізм терапією.

При одночасному дослідженні сироватки крові та сечі за варіантами співпадання спрямованості встановлених зсувів можна об'єктивно судити не тільки про вираженість цих змін, але й про те, чи є локалізованими або генералізованими зареєстровані напрямлення порушення макромолекулярного стану організмowego та органного рівней.

Установлений високий рівень синтетических сенсibiliзаций именно в метаболізме почек, отличных от изменений в системном метаболізме и незначительных или отсутствующих изменений клинiко-лабораторного комплекса, указывает на наличие преморбидного этапа нарушений тканей почек патологическими системными проявлениями туберкулезного процесса и, возможно, комплексной антимікробной терапией.

Таким чином, визначення поліморфізму *GSTT1* і *GSTM1*, повільного метаболізму за NAT2 має значення для прогнозування розвитку токсичної нефропатії, що викликана не лише туберкульозною інтоксикацією, ураженням епітелію циркулюючими імунними комплексами і дисбалансом оксидантно-антиоксидантної системи, але й токсичною дією потитуберкульозних препаратів. Методами ранньої діагностики можуть

стати визначення мікроальбумінурії та виявлення синтетично-спрямованого профілю ЛК-спектрів сечі (рис. 6.1).



Рис. 6.1 Патогенез токсичного ураження нирок при туберкульозній інфекції

Одночасне визначення рівня мікроальбумінурії, макромолекулярного профілю сечі та віріантів генотипів за генами *GSTM1*, *GSTT1* та *NAT2**5, 2*6, 2*7 дозволяє виявити та диференціювати метаболічні зміни нирок у хворих на туберкульоз легень на тлі протитуберкульозної терапії.

Ці показники можуть виступати біомаркерами формування токсичної нефропатії під дією протитуберкульозних препаратів та контролю ефективності лікування туберкульозу.

Матеріали розділу представлені в наступних наукових працях:

1. Сметюк О. О. Стан системного та місцевого ниркового гомеостазу у хворих на туберкульоз легень залежно від поліморфізму генів *NAT2* та *GST* / О. О. Сметюк // Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної

медицини : міжнар. наук. конф. студентів та молодих вчених, 19–20 квіт.
2012 р., Одеса : тези доп. – Одеса : ОНМедУ, 2012. – С. 51–52.

ВИСНОВКИ

В дисертаційній роботі наведені теоретичне узагальнення і нове вирішення наукової проблеми патологічної фізіології, що виявляється у дослідженні патогенетичних особливостей порушень функціонального стану нирок у хворих на туберкульоз під токсичним впливом як інфекції, так і протитуберкульозних препаратів, які визначаються певними особливостями метаболізму, що обумовлені наявністю поліморфних варіантів генів ферментів детоксикації ксенобіотиків, встановлені патогенетичні критерії виявлення груп ризику нефротичних ускладнень туберкульозу легень та протитуберкульозної терапії.

1. Відсотковий розподіл генного поліморфізму глутатіон-S-трансфераз M1 та T1 та ацетилтрансферази NAT2 в групі хворих на туберкульоз легень, та групах практично здорового населення різних вікових груп (новонароджених, дорослих та людей похилого віку) відповідає частоті мутацій, встановленої для європеїдної раси, та складає для *GSTM1* – 41,3 % і для *GSTT1* – 23,8 %, та для *NAT2*4* – 12,2 %, *NAT2*5* – 45,3 %, *NAT2*6* – 42,4 %, *NAT2*7* – 1,7 %.

2. При порівнянні показників частоти делеції *GSTM1* в групі літніх людей – 72,4 % і вищої межі норми для європеїдної раси – 45,0 % виявилось, що ці показники достовірно відрізняються ($p < 0,05$). Збільшення частоти делецій *GSTM1* з підвищенням вікового показника свідчить про низький вклад алелей *GSTM1* в адаптаційні можливості організму. В той же час спостерігається достовірне зменшення частоти делецій *GSTT1* в групі літніх людей з підвищенням вікового показника ($\chi^2 = 0,81$): похилий вік - 17,7 % ($p = 0,05$), старечий - 7,1 % ($p < 0,05$) і довгожителі – 0 %, що може свідчити про можливий вплив алелей *GSTT1* на адаптаційні здатності організму залежно від віку людини та бути чинником ризику при захворюванні на туберкульоз.

3. У 48 % хворих на ВДТБ легень виявили наявність загального білка сечі на початку лікування, через 3 міс лікування кількість хворих з

протеїнурією зростає до 69 %. Більш чутливим показником змін в системі нирок виявився рівень мікроальбумінурії. Якщо на початку лікування підвищений показник мікроальбумінурії було виявлено у 81 % хворих, то через 3 міс після госпіталізації - у 96 % ($p < 0,005$).

4. Зміни в співвідношенні макромолекулярних фракцій сечі у хворих на ВДТБ легень характерні для алерго-аутоімунних проявів (73% , $4,1 < \chi^2 < 22,7$), що можуть бути викликані неспецифічною дією туберкульозної інфекції та токсичним впливом ПТП ще на етапі до клінічних порушень функції нирок.

5. Серед усіх хворих, у яких визначається високий показник мікроальбумінурії ($0,3 \pm 0,09$ мг/л) ще до початку лікування, переважають хворі з null-генотипом за геном *GSTT1* (100 %).

6. В групі хворих на хронічний туберкульоз легень було встановлено збільшення частоти null-алелю *GSTM1* та гомозигот за *NAT2**5/2*5, 2*6/2*6, 2*7/2*7 (повільні ацетилятори) порівняно з групою хворих на ВДТБ легень, що свідчить про наявність асоціації між генотипами та хронізацією туберкульозного процесу.

7. Одночасне визначення рівня мікроальбумінурії, макромолекулярного профілю сечі та варіантів генотипів за генами *GSTM1*, *GSTT1* та *NAT2**5, 2*6, 2*7 дозволяє виявити та диференціювати метаболічні зміни нирок у хворих на туберкульоз легень на фоні протитуберкульозної терапії. Ці показники можуть виступати як біомаркери формування токсичної нефропатії під дією протитуберкульозних препаратів та контролю ефективності лікування туберкульозу.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Абдеев Р. М. Генетический полиморфизм и этнические аспекты фармакогенетики / Р. М. Абдеев, А. Д. Пирузян, М. К. Саркисова // Медицинская генетика. – 2006. – Т. 5, № 6. – С. 11–15.
2. Анализ полиморфизма гена глутатион S-трансферазы M1 в популяциях Волго-Уральского региона / Ю. В. Вахитова, З. М. Султанаева, Т. В. Викторова [и др.] // Генетика. – 2001. – Т. 37, № 2. – С. 268–270.
3. Анализ связи полиморфизм генов GSTT1, GSTM1, CYP2C19 и CYP2E1 с атопией у жителей г.Томска / Фрейдин М.Б., Брагина Е.Ю., Петровский Ф.И. [и др.] // Медицинская иммунология. – 2003. – Т. 5, № ½.- С. 107–113.
4. Апт А. С. Туберкулез: патогенез, иммунный ответ и генетика хозяина / А. С. Апт, Т. К. Кондратьева // Молекулярная биология. – 2008. – Т. 42, № 5. – С. 880–890.
5. Артапетян А. Б. Полимеразная цепная реакция / А. Б. Артапетян // Молекулярная биология. – 1991. – Т. 25, № 4. – С. 926–936.
6. Ассоциация полиморфизма генов ферментов биотрансформации и детоксикации ксенобиотиков с особенностями бронхиальной астмы у детей / С. М. Гавалов, О. А. Рябова, В. А. Вавилин [и др.] // Аллергология. – 2000. – № 3.– С. 4–20.
7. Ассоциация полиморфных генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков с предрасположенностью к бронхиальной астме у детей с наследственной отягощенностью и без таковой / В. А. Вавилин, С. И. Макарова, В. В. Ляхович, С. М. Гавалов // Генетика. – Т. 38, № 4. – 2002. – с. 539–545.
8. Ассоциация полиморфизма NAT2 с риском развития псориаза в московской популяции / Кожекбаева Ж.М., Гра О.А., Фадеев В.С. [и др.] // Молекулярная биология. – 2009. – Т. 43, № 1. – С. 62–76.

9. Бажора Ю. И. Лазерная корреляционная спектроскопия в медицине / Ю. И. Бажора, Л. А. Носкин. – Одесса, 2002. – 400 с.
10. Белов Б. С. Ревматологические аспекты туберкулеза / Б. С. Белов // Русский медицинский журнал. – 2007. – № 8. – С. 670 – 672.
11. Беллендир Е. Н. О поражениях почек при различных формах и локализациях туберкулеза / Э. Н. Беллендир, И. Б. Долгова // Нефрология. – Спб, 1999. – 3, № 3. – С. 33–35.
12. Березняков И. Г. Клинико-фармакологическая характеристика аминокликозидов / И. Г. Березняков // Клиническая антибиотикотерапия. – 2002. – № 5. – С. 18–24.
13. Бикмаева А.Р. Инсерционный полиморфизм гена CYP2E1 у больных инфильтративным туберкулезом легких и в популяциях республики Башкортостан / А. Р. Бикмаева, С. В. Сибиряк, Э. К. Хуснутдинова // Молекулярная биология. – 2004. – Т. 38, № 2. – С. 239–243.
14. Боголепова А. Е. Физиологический анализ функций почки при различных типах диуреза / А.Е. Боголепова, Ю. А. Наточин // Нефрология. – 2005. – Т. 9, № 2. – С. 9–15.
15. База данных для анализа количественных характеристик частоты хромосомных aberrаций в культуре лимфоцитов периферической крови человека / Н. П. Бочков, А. Н. Чеботарев, Катосова Л.Д., Платонова В.И. // Генетика. – 2001. – Т. 37, №4. – С. 549–557.
16. Бочков Н. П. Генетика человека (наследственность и патология). / Н. П. Бочков. – М.: Медицина, 1978. – 377 с.
17. Буловская Л. Н. Определение фенотипа N-ацетилтрансферазной активности / Л. Н. Буловская, Г. Н. Борисенко, О. А. Дробаченко [и др.] // Лаб. дело. – 1990. – № 10. – С. 28–30.
18. Викторов В.В. Полиморфизм гена глутатион-S-трансферазы M1 у больных с генерализованными формами хирургической инфекции / В. В. Викторов // Хирургия. Журнал им. Н.И.Пирогова. – 2001. – № 12. – с. 30–33.

19. Владимирова М.П. Механизмы повреждения и компенсации почек при гентамициновой нефропатии / М. П. Владимирова // IV читання В. В. Підвисоцького: Бюлетень матеріалів наукової конференції, 26–27 трав. 2005 р., Одеса : тези доп. – Одеса : ОДМУ, 2005. – С. 29.
20. Влияние рифампицина на функциональное состояние почек белых крыс / Гоженко А.И., Долوماتов С.И., Лобанов А.К. [и др.] // Нефрология. . – 2005. – Т. 9, № 2. – С. 101–103.
21. Возіанов О. Ф. Гостра ниркова недостатність / О. Ф. Возіанов, А. І. Гоженко, О. С. Федорук. – Одеса: Одес. держ. мед. ун-т., 2003. – 376 с.
22. Волошина В. В. Активность процессов перекисного окисления липидов у больных деструктивным туберкулезом легких в сочетании с железодефицитной анемией / В. В. Волошина, Н. И. Фомичева, Л. И. Данченко // Український пульмонологічний журнал. – 2000. – № 4. – С. 22–24.
23. Гармонов С.Ю. Аналитические методы исследования генетического полиморфизма организма человека / Гармонов С.Ю., Евгенийев М.И., Зыкова И.Е. // Вопросы биологической медицинской и фармацевтической химии. – 2004. – № 1. – С. 3–20.
24. Генетический полиморфизм глутатион-S-трансферазы M1 и T1 у детей, больных бронхиальной астмой таковой / В. А. Вавилин, О. Б. Часовникова, В. В. Ляхович [и др.] // Вопросы современной химии. – 2000. – № 4. – С. 388–398.
25. Метаболізм. / под ред. П. Д. Горизонтова. – М. : Медицина, 1976. – 464 с., ил..
26. Генетический полиморфизм GST, NAT2 и MTRR и предрасположенность к развитию острого лейкоза у детей / Гра О.А., Готов А.С., Кожекбаева Ж.М. [и др.] // Молекулярная биология. – 2008. – Т. 42, № 2. – С. 214–225.

27. Гены и ферменты системы метаболизма ксенобиотиков в онкопатологии / Ляхович В.В., Вавилин В.А., Гуткина Н.И. [и др.] // Вопросы современной химии. – 1997. – Т. 43, № 5. – С. 330–338.
28. Гоженко А. И. Изменение функции почек при острой интоксикации нитритом натрия в эксперименте/ А. И. Гоженко, А. С. Федорук, С. Г. Котюжинская // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2003. – № 1. – С. 28–30.
29. Гоженко А. И. «Приховане» ушкодження проксимального відділу нефрона / А. И. Гоженко, Ю. Є. Роговий, А. С. Федорук // Одеський медичний журнал. – 2001. – № 5. – С. 16–19.
30. Гостра нирково-печінкова недостатність – ускладнення лікування рифампіцином / П'ятночка І.Т., Медвідь Л.І., Корнага С.І. [та ін.] // Інфекційні хвороби. – 2002. – № 2. – С. 104–106.
31. Гребенник Л. И. Об определении производных гидразида изоникотиновой кислоты и продуктов их превращений в организме / Л. И. Гребенник // Проблемы туберкулеза. – 1966. – № 2. – С. 69–74.
32. Григорьева С.А. Связь аллельных вариантов генов детоксикации ксенобиотиков с цитогенетическим ответом на действие мутагена / Григорьева С.А., Никитина В.А., Ревазова Ю.А. // Гигиена и санитария. – 2007. – № 5. – С. 62–63.
33. Дитятков А. Е. Состояние функций дыхания, почек и электролитного состава крови у больных туберкулезом легких при лечении сердечной недостаточности / А. Е. Дитятков, А. Е. Радзевич, В. А. Тихонов // Пробл. туб. – 2002. – № 4. – С. 39–41.
34. Долгова И. Б. Неспецифические поражения почек у больных туберкулезом легких / И. Б. Долгова, Б. М. Ариэль // Нефрология. – 2002. – № 2. – С. 28–34.
35. Игнатенко Г. А. Влияние бета-адреноблокаторов на маркеры прогрессирования хронического гломерулонефрита у гипертензивных

больных с сохранной и сниженной функцией почек / Г. А. Игнатенко, И. В. Мухин, Е. Н. Кошелева // Нефрология. – 2005. – № 4. – С. 53–58.

36. Иллариошкин С.Н. ДНК-диагностика и медико-генетическое консультирование. / С. Н. Иллариошкин. – М. : Медицинское информационное агентство, 2004. – 207 с.: ил.

37. К вопросу о механизме действия некоторых противотуберкулезных препаратов на глутатионзависимую систему детоксикации эритроцитов / Коржов В.И., Жадан В.Н., Коржов М.В. [и др.] // Український хіміотерапевтичний журнал. – 2000. – Т. 5, № 1.– С. 20–22.

38. Ковалив Б.М. Поражение почек при туберкулезе / Б. М. Ковалив. – Изд.2-е, испр. и доп. – М. : Медицина, 1970. – 404 с.

39. Кузнецова О.А., Якупова Э.В., Теппоне С.Л., Викторова Т.В., Блохина Е.Б., Майорова О.А., Бабенко О.В., Залетаев Д.В. Полиморфизм гена глутатион-S-трансфераз классов GSTM1, GSTT1 и GSTP1 у детей с острым лимфобластным лейкозом // Медицинская генетика, 2006, №1 (43).- с.36-41

40. Кулинский В. Н. Биологическая роль глутатиона / Кулинский В.Н., Колесниченко Л.С. // Успехи современной биологии. – 1990. – Т. 110, № 1. – С. 20–33.

41. Кулинский В.И. Обезвреживание ксенобиотиков / В. И. Кулинский // СОЖ. – 1999. – № 1. – С. 8–12.

42. Кутырина И. М. Почечные системы регуляции водно-электролитного баланса при нефротическом синдроме / И. М. Кутырина, В. А. Рогов, К. В. Зверев // Терапевтический архив. – 1991. – Т.63, № 3. – С. 26–30.

43. Куценко С. А. Метаболизм ксенобиотиков / С.А. Куценко // Основы токсикологии. – 2003. – Т. 4.– 119 с.

44. Левашов Ю. Н. Внелегочный туберкулез в России: официальная статистика и реальность / Ю. Н. Левашов, А. Ю. Мушкин, А. Н. Гришко // Проблемы туберкулеза. – 2006. – № 11. – С. 3–6.

45. Лисовая Н.А. Информативность новых лабораторных технологий в диагностике заболеваний почек у детей : автореф. дис. на соискание науч. степени канд. мед. наук / Лисовая Наталья Алексеевна; СПб гос. педиатрическая мед. акад. – СПб, 2001. – 27 с.

46. Лисовая Н. А. Использование лазерной корреляционной спектроскопии в качестве экспертной системы оценки эффективности проводимой терапии при заболеваниях почек у детей / Н. А. Лисовая, Л. А. Носкин, А. В. Папаян [и др.] // Нефрология и диализ. – 2001. – Т. 3, № 1. – С. 53–64.

47. Ляхович В.В. Роль ферментов биотрансформации ксенобиотиков в предрасположенности к бронхиальной астме и формировании особенностей ее клинического фенотипа / Ляхович В.В., Вавилин В.А., Макарова С.И. // Вестник РАМН. – 2000. – № 12. – С. 36-41.

48. Мамолат А. С. Побочные реакции при антибактериальной терапии больных туберкулезом / Мамолат А. С., Чернушенко Е.Ф. – К., 1975. – 156 с.

49. Метаболические процессы ацетилирования у больных гнойно-воспалительными заболеваниями челюстно-лицевой области / Гармонов С.Ю., Погорельцев В.И., Шитова Н.С., Киселева Т.А. // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2008. – № 4.– С. 43–46.

50. Методы изучения почек при токсико гигиенических исследованиях : метод. рекомендації / уклад. : А. И. Гоженко, А. М. Войтенко, Ю. И. Грач. – К. ; Одеса : Друкар. дiм, 1991. – 21 с.

51. Молекулярно-генетические и биофизические методы исследования в медицине / Под ред. Бажора Ю.И., Кресюн В.И., Запорожан В.Н. – К.: Здоров'я, 1996. – 207 с.

52. Молекулярно-генетические механизмы туберкулезной инфекции / Бажора Ю.И., Кресюн В.И., Фещенко Ю.И. и др. – Одесса: Одес. держ. мед. ун-т, 2005. – 296 с.

53. Молекулярно-генетический анализ полиморфизма генов интерлейкина-6, факторов некроза опухолей а и в и глутатион-S-трансферазы М1 у больных хроническим лимфолейкозом / Б. А. Бакиров, О. В. Гринчук, Э. В. Якупова [и др.] // Гематология и трансфузиология. – 2005. – № 1. – С. 18–23
54. Морфофункциональные изменения внутренних органов морских свинок при длительном введении противотуберкулезных препаратов / С. Б. Вольф, Р. Е. Лис, Л. Е. Виноградова, О. Н. Шинкевич // Проблемы туберкулеза. – 2007. – № 7. – С. 42–45.
55. Нерсесян А. А. Клиника, диагностика и лечение мочепоолового туберкулеза / А. А. Нерсесян, Я. А. Меркурьева, З. Х. Корнилова // Проблемы туберкулеза. – 2006. – № 9. – С. 5–15.
56. Наточин Ю. В. Основы физиология почки / Ю. В. Наточин. – Ленинград : Медицина, 1982. – 208 с.: ил.
57. Наточин Ю. В. Физиология почки: формулы и расчеты / Ю. В. Наточин. – Ленинград : Наука, 1974. – 60 с.
58. Неинвазивный метод определения биохимического фенотипа ацетилирования / Евгеньев М.И., Гармонов С.Ю., Зайнутдинов Л.А., Маланичева Т.Г. // Казанский медицинский журнал. – 2004. – Т. 85, № 5.– С.338–390.
59. Неинвазивные методы определения фенотипа ацетилирования / Евгеньев М.И., Гармонов С.Ю., Гисмятов Р.Г. [и др.] // Вопросы биологической медицинской и фармацевтической химии. – 2003. – № 3. – с.34–39.
60. Общий курс физиологии человека и животных. В 2 кн. Кн. 2. Физиология висцеральных систем: Учеб. для биол. и мед. спец. вузов / А.Д. Ноздрачев, Ю.И. Баженов, И.А. Баранникова и др.; Под ред. А.Д. Ноздрачева. – М.: Высш. шк., 1991. – 528 с.: ил.
61. Оценка активности холинэстеразы у быстрых и медленных ацетилираторов / Гармонов С.Ю., Погорельцев В.И., Шитова Н.С. [и др.] //

Вопросы медицинской, биологической и фармацевтической химии. – 2005. – № 3. – С. 27–30.

62. Оценка значимости побочных реакций противотуберкулезных препаратов при лечении туберкулеза / Фещенко Ю.И., Черенько С.А., Мальцев В.И. [и др.] // Укр. мед. часопис. – 2008. – Т. 65, – № 3. – С. 117–125.

63. Оценка фенотипа ацетилирования у больных ангиной на фоне базисной терапии и лечения ксимендоном / Кравченко И.Э., Гармонов С.Ю., Зарипова Р.Г. [и др.] // Вопросы биологической медицинской и фармацевтической химии. – 2006. – № 4. – С. 22–25.

64. Папаян А.В. Маркеры оценки функции почек и оценка прогрессирования почечной недостаточности / Папаян А.В., Архипов В.В., Береснева Е.А. // Терапевтический архив. – 2004. – № 4. – С. 83–90.

65. Пирузян Л.А. Лазерная корреляционная спектроскопия макромолекулярных комплексов в сыворотке крови как эффективный метод оценки течения заболевания бронхиальной астмой у детей / Л. А. Пирузян, И. Е. Ковалев, В. Л. Ковалева [и др.] // Биохимия, биофизика, молекулярная биология. Доклады Академии наук. – 2004. – Т. 395, № 6. – С. 832–836.

66. Пішак В. П. Тубуло-нтерстиційний синдром / В. П. Пішак, А. І. Гоженко, Ю. Є. Роговий. – Чернівці: Медична академія, 2002. – 221 с.

67. Пішак В. П. Універсальність ушкодження проксимального каналця при захворюваннях нирок/ В. П. Пішак, В. В. Білоокий, Ю. Є. Роговий // Клінічна та експериментальна патологія. – 2005. – Т. 4, № 1. – С. 72–76.

68. Побочное действие антибиотиков группы аминогликозидов: безопасность при медицинском применении / А.П. Викторов, К.А. Посохова, Е.В. Матвеева, Логвина И.А. // Семейна медицина. – 2006. – №3. – С.25–28.

69. Поиск ассоциация полимерных маркеров генов, кодирующих ферменты антиокислительной защиты, с развитием диабетической

полинейропатии у больных сахарным диабетом типа1 / Зотова Е.В., Савостьянов К.В., Чистяков Д.А. [и др.] // Молекулярная биология.-Т38. – №2 – 2004. – с. 244-249

70. Полиморфизм в генах человека, ассоциирующихся с биотрансформацией ксенобиотиков Спицын В.А., Макаров С.В., Пай Г.В., Бычкова Л.С. // Вестник ВОГиС. – 2006. – Т. 10, № 1. – С. 97–105.

71. Полиморфизм генов биотрансформации ксенобиотиков GSTT1, GSTM1, CYP2E1 и CYP2C19 у больных атопической бронхиальной астмой / Е. Ю. Брагина, М. Б. Фрейдин, И. А. Тен, Л. М. Огородова // Бюллетень СО РАМН. – Т. 117, № 3. – 2005. – С.121–125

72. Полиморфизм генов системы детоксикации и предрасположенность к болезни двигательного нейрона в российской популяции / Скворцова В.И., Сломинский П.А., Шадрина М.И. [и др.] // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2006. – №1.– С. 4–13.

73. Полиморфизм генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков и особенности бронхиальной астмы у детей / Ляхович В.В., Гавалов С.М., Вавилин В.А. [и др.] // Пульмонология. – 2002. – Т. 12, № 2. – С. 31–38.

74. Полиморфизм глутатион-S-трансфераз M1 и T1 в ряде популяции России / Попова С.Н., Сломинский П.А., Галушкин С.Н. [и др.] // Генетика. – 2002. – Т. 38, № 2.- С. 281–284.

75. Полиморфизм ферментов биотрансформации ксенобиотиков у детей с атопическим дерматитом / Казначеева Л.Ф., Вавилин В.А., Ляпунова А.А. [и др.] // Аллергология – 2002. – № 4. – С. 15–17.

76. Полиморфные маркеры генов глутатион-S-трансфераз M1 и T1 и болезнь двигательного нейрона у пациентов из Москвы / Шадрина М.И., Кондратьева Н.А., Сломинский П.А. [и др.] // Генетика. – 2002. – Т. 38, № 11. – С. 1566–1568.

77. Полоников А.В. Полиморфизм генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков и их комплексное влияние на предрасположенность к мультифакториальным заболеваниям: автореф. дисс. . докт. мед наук. — Москва, 2006. — 48 с.

78. Посохова К.А., Вікторов О.П. Побічна дія антибіотиків аміноглікозидов: сучасний погляд на проблему // Фармацевтичний журнал. — 2005. — № 2. — С. 57–58.

79. Потапова А.В. Тубулоинтерстициальные нарушения при нефротоксическом действии антибиотиков / Потапова А.В., Дзгоева Ф.У., Кутырина И.М. // Урология и нефрология. — 1995. — № 3. — С.114–115.

80. Рестрикционный анализ гена N-ацетилтрансферазы (NAT2) у европеоидов Западной Сибири / Никишина М.В., Макарова С.И., Акишев А.Г. [и др.] // Генетика. — 2004. — Т. 40, № 11.— С. 1557–1561.

81. Райе Р.Х. Биологические эффекты токсических соединений: курс лекций / Райе Р.Х., Гуляева Л.Ф. — Новосибирск, 2003. — 203 с.

82. Ратнер М.Я. Современные представления о значении медиаторов в патогенезе фиброза почечного интерстиция / Ратнер М.Я. // Терапевтический архив. — 1997. № 12. — С. 87–88.

83. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва — М. : Медиасфера, 2003. — 312 с.

84. Ренальні дисфункції у білих щурів за умов курсового введення гентаміцину / Гоженко А.І., Владимірова М.П., Кузьменко І.А., Котюжинська С.Г. // Одеський медичний журнал. — 2007. —Т. 99, № 1.— с. 12–15.

85. Роговий Ю. Є. Цитокінова регуляція запалення при туберкульозі легень / Ю. Є. Роговий, М. М. Кузьмін, В. І. Сливка // Одеський медичний журнал. — 2004. — № 3. — С. 45–48.

86. Рябов С.И. Диагностика болезней почек / Рябов С.И., Наточин Ю.В., Бондаренко Б.Б. // Л. : Медицина, 1979. — 256 с.

87. Саприн А.Н. Ферменты метаболизма и детоксикации ксенобиотиков / Саприн А.Н. // Успехи биологической химии. – 1991. – Т. 32. – С. 146–172.
88. Середенин С.Б. Лекции по фармакогенетике. М.: Мед. информ. агенство, 2004. – 303 с.
89. Сидорова И. Е. Изучение генетического полиморфизма и цитогенетических нарушений у лиц, имевших контакт с токсичными химическими соединениями / Сидорова И.Е, Ревазова Ю.А., Сафронов В.В. // Гигиена и санитария. – 2004. – № 6.- С. 59–62.
90. Сравнительный анализ наследственной компоненты подверженности туберкулезу у тувинцев и русских / Фрейдин М.Б., Рудко А.А., Колоколова О.В. [и др.] // Молекулярная биология. – 2006. – Т. 40, № 2.– С. 252–262.
91. Тубулоинтерстициальный компонент хронического гломерулонефрита : клинико-функциональная диагностика / Ратнер М.Я., Бродский М.А., Зубкин М.Л. [и др.] // Терапевтический архив. – 1991. – № 6. – С. 12–15.
92. Ферментные системы ацетилирования, окисления и антиоксидантной защиты у больных сахарным диабетом 2-го типа / С. Ю. Гармонов, Т. А. Киселева, И. Г. Салихов [и др.] // Вопросы биологической медицинской и фармацевтической химии. – 2006. – № 3.– С. 36–41.
93. Фетисова И.Н. Полиморфизм генов глутатион-S-трансфераз в семьях с первичным бесплодием / И. Н. Фетисова // Медицинская генетика. – 2006. – Т. 5, № 11. – С. 31–34.
94. Хакимов М. А. Взаимосвязь течения нефротуберкулеза у больных с разными сочетаниями гинетических маркеров / М. А. Хакимов, А. М. Убайдуллаев, К. С. Казаков // Проблемы туберкулеза. – 2007. – № 11. – С. 19–22.

95. Хакимов М. А. Организация раннего выявления нефротуберкулеза в группах риска/М. А. Хакимов // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2007. – № 9. – С. 44–46.
96. Цвиренко С. В. Полиморфизм генов, кодирующих глутатион-S-трансферазы M1 и T1 у детей с острым лимфобластным лейкозом / Цвиренко С.В., Цаур Г.А. // Клиническая лабораторная диагностика. – 2006. – № 2. – С. 23–34.
97. Шаповал О. Н. Проблемы и перспективы лечения туберкулеза / О. Н. Шаповал // Провизор. – 2005. – № 20. – С. 23–26.
98. Шаповалов В. П. Вплив інтенсивної антимікобактеріальної поліхіміотерапії на функцію нирок у хворих із вперше діагностованим туберкульозом легень / В. П. Шаповалов, Б. І. Квасницький, В. М. Мельник // Український хіміотерапевтичний журнал. – 2002. – Т. 14, № 2. – С. 43–48.
99. Шаповалов В. П. Синдром пульмо-ренальної дисфункції у хворих на вперше діагностований деструктивний туберкульоз легень / В. П. Шаповалов, О. Л. Кухарчук, Б. І. Квасницький // Буковинський медичний вісник. – 2002. – Т. 6, № 3. – С. 133–137.
100. Шишкин А.Н., Кирилюк Д.В. Дисфункция эндотелия у пациентов с прогрессирующими заболеваниями почек / Шишкин А.Н., Кирилюк Д.В. // Нефрология. – 2005. – Т. 9, № 2. – С. 16–22.
101. Эмануэль В.Л. Лабораторная диагностика заболеваний почек. – Изд.2-е, испр. и доп. – Спб. – Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2006. – 248 с.
102. A Multiplex Polymerase Chain Reaction Protocol for the Simultaneous Analysis of the Glutathione-S-Transferase GSTM1 and GSTT1 Polymorphisms / Arand M, Muhlbauer R, Hengstler J, [et al.] //Analytical biochemistry – 1996. – V.236. – P.184–186
103. A.Hamdi ; C.Tulin ; A.Hasan ; O.Kayhan ; S.Fatih ; U.Bulent Lack of association between the glutathione-s-transferase genes (GSTT1 and GSTM1) and nasal polyposis //Rhinology 2006,vol.44,№1,14-18

104. Alan J. Townsend, Kinsley K. Kinningham, Daret St. Clair, Thomas R. Tephly, Charles S. Morrow, and F. Peter Guengerich. Symposium Overview: Characterization of Xenobiotic Metabolizing Enzyme Function Using Heterologous Expression Systems. // *Toxicological sciences* (1999) 48, 143–150
105. Ana Rossini, Davy C.M. Rapozo et al. Frequencies of *GSTM1*, *GSTT1*, and *GSTP1* polymorphisms in a Brazilian population // *Genet. Mol. Res.* (2002) 1 (3): 233-240
106. Biopharmaceutics, Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Antituberculosis Drugs./ Budha N R, Lee R E., Meibohm B// *Curr Med Chem.* – 2008. -V.15. – №8. – P.809-825.
107. Genotyping of *N*-Acetyltransferase2 polymorphism in the prediction of adverse drug reaction to Isoniazid in Japanese patients./Hiratsuka M, Kishikawa Y, [et al.]//*Drug Metabol. Pharmacokin.* – 2002. – V.17 (№4). – P.357-362
108. Glutathione S-transferase *GSTM1* and *GSTT1* polymorphisms and colorectal cancer risk: a prospective study./D.M. Gertig, M. Stampfer, C. Haiman,[et al.]// *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention.* – 2008. – V.7. – P. 1001-1005.
109. Glutathione transferases as mediators of signaling pathways involved in cell proliferation and cell death./ Laborde E // *Cell Death and Differentiation.* – 2010. – V.17. – №9. – P. 1373–1380.
110. Hurley L.S. Trace elements and teratogenesis [Text] / L.S. Hurley // *Med. Clin. N. Am.* – 1976. – Vol. 60. – P. 771–778.
111. Hypoplasia in Lviv regional northwest district. / N. Lukyanenko, S. Pechenik, T. Wilczok, P. Nogaj // *Placentologic monitoring studies and ecotoxicologic aspects of genetic disease. Materials of International Conference* (13-15 May, 2000, Krakow, Poland). – P. L-12.
112. Identification of a MAD2-binding protein, CMT2, and its role in mitosis [Text] / T. Habu, S.H. Kim, J. Weinstein, T. Matsumoto // *EMBO J.* – 2002. – Vol. 21, N 23. – P. 6419–6428.

113. Identification of a vertebrate sister-chromatid separation inhibitor involved in transformation and tumor genesis [Text] / H. Zou, T.J. McGarry, T. Bernal, M.W. Kirschner // *Science*. – 1999. – V. 285. – P. 418–422.

114. Identification of individuals with alpha-1-antitrypsin deficiency by a targeted screening program / R. Bals, R. Koczulla, V. Kotke et al // *Respir Med*. – 2007. – V.101,№8. – P.1708-1714.,

115. In vitro cytotoxicity of docetaxel in childhood acute leukemia's [Text] / R. Consolini, C.H. Pui, F.G. Behm et al. // *J. Clinic. Oncol*. – 1998. – V. 16. – P. 907-913.

116. Income inequality and mortality: importance to health of individual incomes, psychological environment, or material conditions [Text] / J.W. Lynch, G. Davey Smith, G.A. Kaplan, J.S. House // *Br. Med. J*. – 2000. – Vol. 320. – P. 1200-1204.

117. Indoor coal combustion emissions, GSTM1 and GSTT1 genotypes, and lung cancer risk: a case-control study in Xuan Wei, China [Text] / Q. Lan, X. He, D.J. Costa et al. // *Cancer Epidemiol Biomarkers*. – 2000. – N 9. – P. 605 – 608.

118. Infante-Rivard C. Xenobiotic-Metabolizing genes and small-for-gestational-age births: interaction with maternal smoking [Text] / C. Infante-Rivard, C.R. Weinberg, M. Guiguet // *Epidemiology*. – 2006. – Vol. 17, N 1. – P. 38-46.

119. Influence of CYP1A1, GSTM1, GSTT1, and NQO1 genotypes and cumulative smoking dose on lung cancer risk in a Swedish population [Text] / A.K. Alexandrie, F. Nyberg, M. Warholm, A. Rannug// *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. – 2004. – V. 13. – P. 908-914.

120. Inglis I.A. The pathology and pathogenesis of chronic lead nephropaty occurring in Queensland [Text] / I.A. Inglis, D.A. Henderson, B.T. Emmerson // *J. Pathol*. – 1978. – V. 124. – P. 65-73.

121. Inhibition of human m-epoxide hydrolase gene expression in a case of hypercholanemia [Text] / Q. Zhu, W. Xing, B. Qian et al. // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2003. – V. 1638. – P. 208-216.
122. Intellectual impairment in children with blood lead concentrations below 10 µg per decilitre [Text] / R.L. Canfield, C.R. Henderson, D.A. Cory-Slechta et al. // *The New England Journal of Medicine.* – 2003. – Vol. 348, N 16. – P. 1517-1526.
123. International programme of chemical safety. Environmental health criteria. Scientific principals and methods for assessing allergic hypersensitization associated with exposure to chemicals. – WHO: Geneva, Switzerland. – 1997. – 382 p.
124. International Programme on Chemical Safety. Environmental Health Criteria, Inorganic Lead. – Geneva, Switzerland: WHO. – 1995. – Vol. 165. – 300 p.
125. Involvement of deprivation and environmental lead in neural tube defects: a matched case-control study [Text] / J.P. Bound, P.W. Harvey, B.J. Francis et al. // *Arch. Disease Child.* – 1997. – Vol. 76. – P. 107-112.
126. Iron deficiency associated with higher blood lead in children living in contaminated environments [Text] / A. Bradman, B. Eskenazi, P. Sutton et al. // *Environ. Health Perspect.* – 2001. – Vol. 109, N 10. – P. 1079-1084.
127. Ishihara H. Studies on lipoperoxide of normal pregnant women and of patient with toxemia of pregnancy [Text] / H. Ishihara // *Clin. Chem. Acta.* – 1978. – Vol. 84. – P. 1-9.
128. Jakab M. Follow up cytogenetic analysis of peripheral blood lymphocytes in workers occupationally exposed to polychlorinated biphenyls [Text] / M. Jakab, J. Major, A. Tompa // *Central European J. Occup. Environ. Med.* – 1995. – Vol. 1. – P. 206–216.
129. Jakab M. Genotoxicological investigations in nurses preparing cytostatic infusions [Text] / M. Jakab, J. Major, A. Tompa // *Central Eur. J. Occup. Environ. Med.* – 1995. – Vol. 1. – P. 365–366.

130. Janes H. Case-crossover analyses of air pollution exposure data: referent selection strategies and their implications for bias [Text] / H. Janes, L. Sheppard, T. Lumley // *Epidemiology*. – 2005. – Vol. 16, N 6. – P. 717-726.
131. Jarup L. Hazards of heavy metal contamination [Text] / L. Jarup // *Br. Med. Bulletin*. – 2003. – Vol. 68. – P. 167-182.
132. Joffe M. Infertility and environmental pollutants [Text] / M. Joffe // *Br. Med. Bulletin*. – 2003. – Vol. 68. – P. 47-70.
133. Johnston J.D. Reproductive and developmental hazards and employment policies [Text] / J.D. Johnston, G.G. Jamieson, S. Wright // *Brit. J. Med.* – 1992. – Vol. 49, N 2. – P. 85-94.
134. Jonson K.L. Frequency, distribution and clonality of chromosome damage in human lymphocytes by multicolor FISH [Text] / K.L. Jonson, J.D. Tucker, J.I. Nath // *Mutagenes.* – 1998. – V. 13(3). – P. 217-227.
135. Kallio M.J. Human inhibitor of apoptosis protein (IAP) survivin participates in regulation of chromosome segregation and mitotic exit [Text] / M.J. Kallio, M. Nieminen, J.E. Eriksson // *FASEB J.* – 2001. – Vol. 15, N 14. – P. 2721–2723.
136. Katsouyanni K. Ambient air pollution and health [Text] / K. Katsouyanni // *Br. Med. Bull.* – 2003. – Vol. 68. – P. 143-156.
137. Kerr J.F.R. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics [Text] / J.F.R. Kerr, A.N. Wyllie, A.R. Currie // *Br. J. Cancer*. – 1972. – V. 26. – P. 239–257.
138. Kim J. Calcium-mediated activation of c-Jun NH₂-terminal kinase (JNK) and apoptosis in response to cadmium in murine macrophages [Text] / J. Kim, R.P. Sharma // *Toxicological Sciences*. – 2004. – Vol. 81, N 2. – P. 518-527.
139. Kimber I. Chemical – induced hypersensitivity [Text] / I. Kimber // *In.: Exper. Immun.* / Ed. By Smidowich R.J., Holsapple M.P. – Boca Raton, New York, London, Tokyo. – 1996. – P. 391-417.

140. Klonoff-Cohen H. Outdoor carbon monoxide, nitrogen dioxide, and sudden infant death syndrome / Klonoff-Cohen H., Lam P.K., Lewis A. // *Archives of Disease in Childhood*. – 2005. – Vol.90. – P.750-753.
141. Kodavanti U.P. Inhaled environmental combustion particles cause myocardial injury in the Wistar Kyoto Rat [Text] / U.P. Kodavanti, C.F. Moyer, A.D. Ledbetter // *Toxicol. Sci.* – 2003. – Vol. 71, N 2. – P. 237-245.
142. Krammer P.H. CD95(APO-1/Fas)-mediated apoptosis: live and let die [Text] / P.H. Krammer // *Advances in Immunology*. – 1999. – V. 71. – P. 163–210.
143. Krieger N. Theories for social epidemiology in the 21st century: an ecosocial perspective [Text] / N. Krieger // *Intern. J. Epidem.* – 2001. – Vol. 30, N 4. – P. 668-677.
144. La Ecografia en el diagnostico de la nefrocalcinosis infantil/ A proposito de ciner observaciones [Text] / J.A. Lopez, A. Martinez. P. Saer et al. // *Ann. esp. Pediatr.* – 1985. – Vol. 23, N 4. – P. 253-258.
145. Lactational exposure and neonatal kinetics of methylmercury and inorganic mercury in mice [Text] / J. Sundberg, S. Junsson, M.O. Karlsson, A. Oskarsson // *Toxicology and Applied Pharmacology*. – 1999. – Vol. 154, N 2. – P. 16-169.
146. Lanphear B.P. Biomarkers in paediatric research and practice [Text] / B.P. Lanphear, C.F. Bearer // *Archive of Disease in Childhood*. – 2005. – Vol. 90. – P. 594-600.
147. Laraque D. Lead poisoning. Successes and 21st centures challenges [Text] / D. Laraque, L. Trasande // *Pediatrics in review*. – 2005. – Vol. 26. – P. 435-443.
148. Lazutka J.R. Lessons From Cytogenetic Studies Of Chernobyl Accident Victims [Text] / J.R. Lazutka // *Epidemiology*. – 1994. – N 9. – P. 676
Hiratsuka M, Kishikawa Y *et al.* Genotyping of *N*-Acetyltransferase2 polymorphism in the prediction of adverse drug reaction to Isoniazid in Japanese patients. *Drug Metabol. Pharmacokin.* 17 (4): 357-362 (2002)

149. Hoitsma AJ, Wetzels JF, Koene RA. Drug-induced nephrotoxicity. Aetiology, clinical features and management. *Drug. Saf.* 191 Mar-Apr; 6(2): 131-147
150. Huang YS Genetic polymorphisms of drug-metabolizing enzymes and the susceptibility to antituberculosis drug-induced liver injury./Huang YS.//*Expert Opin Drug Metab Toxicol.* – 2007. – V.3(№1). – P.1-8.
151. Ifosfamide nephrotoxicity: limited influence of metabolism and mode of administration during repeated therapy in paediatrics / A. V. Boddy, M. English, A. D. Pearson [et al.] // *Eur. J. Cancer.* – 1996. – 32A, № 7. – P. 1179 – 1184.
152. Ifosfamide–induced nephrotoxicity: mechanism and prevention / I. Nissim, O. Horyn, Y. Daikhin [et al.] // *Cancer Res.* – 2006. – Vol. 66, № 15. – P. 7824–7831.
153. Ifosfamide–induced renal tubular defect / M. J. Torres–Valdivieso, J. Lopez–Perez, C. Melero [et al.] // *Med. Pediatr. Oncol.* – 1994. – Vol. 22, № 2. – P. 144–146.
154. Ifosfamide–induced subclinical nephrotoxicity and its potentiation by cisplatin / R. Rossi, S. Danzebrink, D. Hillebrand [et al.] // *Med. Pediatr. Oncol.* – 1994. – Vol. 22, № 1. – P. 27–32.
155. Increased risk of antituberculosis drug-induced hepatotoxicity in individuals with glutathione S-transferase M1 'null' mutation./Roy B, Chowdhury A, Kundu S,[et al.]//*J Gastroenterol Hepatol.* – 2001. -V.16(№9). – P.1033-1037.
156. Influence of glutathione S-transferase M1 and T1 homozygous null mutations on the risk of antituberculosis drug-induced hepatotoxicity in a Caucasian population./Leiro V, Fernandez-Villar A, Valverde D, [et al.] *A. Liver Int.* – 2008. – V.28(6). – P.835-839.
157. Inman S. R. Simvastatin and L–arginine preserve renal function after ischemia/reperfusion injury / S. R. Inman, N. A. Davis, M. E. Mazzone // *Am. J. Med. Sci.* 2005. – Vol. 329, № 1. – P. 13–17.

158. Interaction of Angiotensin II and Nitric Oxide in Isolated Perfused Afferent Arterioles of Mice / A. Patzak, R. Mrowka, E. Storch [et al.] // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 2001. – № 12. – P. 1122–1127.
159. Jones D. P. Renal toxicity of cancer chemotherapeutic agents in children: ifosfamide and cisplatin / D. P. Jones, R. W. Chesney // *Curr. Opin. Pediatr.* – 1995. – Vol. 7, № 2. – P. 208–213.
160. Jonker J. W. Pharmacological and Physiological Functions of the Polyspecific Organic Cation Transporters: OCT1, 2, and 3 (SLC22A1-3) / J. W. Jonker, A. H. Schinkel // *The Journal of Pharmacology And Experimental Therapeutics.* – 2004. – Vol. 308. – P. 2–9.
161. Kakoki M. The influence of nitric oxide synthase 1 on blood flow and interstitial nitric oxide in the kidney / M. Kakoki, A.-P. Zou, D. L. Mattson // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2001. – Vol. 281, № 1. – P. R91–R97.
162. Khaper N. Effects of afterload-reducing drugs on pathogenesis of antioxidant changes and congestive heart failure in rats / N. Khaper, P. K. Singal // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 1997. – Vol. 29, № 4. – P. 856–861.
163. Lead and mercury in breast milk [Text] / C. Gundacker, B. Pietschnig, K.J. Wittmann et al. // *Pediatric.* – 2002. – Vol. 110. – P. 873-878.
164. Levy S.M. An Update on Fluorides and Fluorosis [Text] / S.M. Levy // *J. Can. Dent. Assoc.* – 2003. – Vol. 69. – P. 286–291.
165. Levy S.M. Review of fluoride exposures and ingestion [Text] / S.M. Levy // *Community Dent. Oral Epidemiol.* – 1994. – Vol. 22. –P. 173–180.
166. Li Y. Prevalence and distribution of developmental enamel defects in primary dentition of Chinese children 3-5 years old [Text] / Y. Li, J.M. Navia, J.Y. Bian // *Community Dent. Oral Epidemiol.* – 1995. – Vol. 23. – P. 72–79.
167. Limaye D.A. Cytotoxicity of Cadmium and characteristics of its transport in cardiomyocytes [Text] / D.A. Limaye, Z.A. Shaikh // *Toxicology and Applied Pharmacology.* – 1999. – Vol. 154, N 1. – P. 59-66.

168. Liska D.G. The detoxification enzyme systems [Text] / D.G. Liska // *Altern. Med. Rev.* – 1998. – V. 3 (3). – P. 187-198.
169. Littlefield L.G. Premature separation of centromeres in marrow chromosomes from an untreated patients with acute myelogenous leukemia [Text] / L.G. Littlefield, E.E. Joiner, A.M. Sayer // *Cancer Genet Cytogenet.* – 1985. – V. 16. – P. 109–116.
170. Lockitch G. Perspectives on lead toxicity [Text] / G. Lockitch // *Clin. Biochem.* – 1993. – Vol. 26. – P. 371-381.
171. Lucotte G. The vitamin D receptor Fok1 start codon polymorphism and bone mineral density in osteoporotic postmenopausal French woman [Text] / G. Lucotte, G. Mercier, A. Burckel // *Clinical Genetics.* – 1999. – V. 56(3). – P. 221-224.
172. Luisetti M. α 1-antitrypsin deficiency: a report from the 2nd meeting of the Alpha One International Registry, Rapallo (Genoa, Italy), 2001 [Text] / M. Luisetti, M. Miravittles, R.A. Stockley // *Eur Respir J.* – 2002. – V. 20. – P. 1050-1056.
173. Macdonell J.E. Lead levels in domestic water supplies and neural tube defects in Glasgow [Text] / J.E. Macdonell, H. Campbell, D.H. Stone // *Arch. Dis. Child.* – 2000. – Vol. 82. – P. 50-55.
174. MacGregor J.T. Integration of cytogenetic assays with toxicology studies [Text] / J.T. MacGregor, J.D. Tucker, D.A. Eastmond // *Environ. Mol. Mutagen.* – 1995. – Vol. 25. – P. 328-337.
175. Mackenbach J.P. The origin of human disease: a short story on “where diseases come from” [Text] / J.P. Mackenbach // *J. Epidemiol. Commun. Health.* – 2006. – Vol. 60. – P. 81-86.
176. MAD2 haplo-insufficiency causes premature anaphase and chromosome instability in mammalian cells [Text] / L.S. Michel, V. Liberal, A. Chatterjee et al. // *Nature.* – 2001. – Vol. 409, N 6818. – P. 355–359.
177. Major J. Genotoxicological investigation of hospital nurses occupationally exposed to ethylene-oxyde: I. Chromosome aberrations, sister

chromatid exchanges, cell cycle kinetics, and UV-induced DNA synthesis in peripheral blood lymphocytes [Text] / J. Major, M. Jakab, A. Tompa // *Environ. Mol. Mutagen.* – 1996. – Vol. 27. – P. 84–92.

178. Major J. Multiple end-point genotoxicity monitoring of Hungarian historical and industrial control subjects [Text] / J. Major, M. Jakab, A. Tompa // *Central European J. Occup. Environ. Med.* – 1997. – Vol. 3. – P. 87–101.

179. Mammalian p53 mediates association of the spindle checkpoint protein Mad2 with the cyclosome/anaphase-promoting complex, and is involved in regulating anaphase onset and late mitotic events [Text] / M. Kallio, J. Weinstein, J.R. Daum et al. // *J. Cell Biol.* – 1998. – V. 141. – P. 1393–1406.

180. Managing elevated blood lead levels among young children: recommendations from the advisory committee on childhood lead poisoning prevention [Text] // Atlanta: Centers for disease Control and Prevention. – 2002. – 214 p.

181. Mancini G. Immunochemical quantization of antigens by single radial immunodiffusion [Text] / G. Mancini, A.O. Garbonaro, G.F. Heremnus // *Immunochemistry.* – 1965. – Vol. 2. – P. 239-254.

182. Mannervick B. Glutathione transferases – structure and catalytic activity [Text] / B. Mannervick, U.H. Danielson // *CRC Crit. Rev. Biochem.* – 1988. – V. 23. – P. 283—337.

183. Marcus P.M. NAT2 slow acetylation and bladder cancer risk: a metaanalysis of 22 case–control studies conducted in the general population [Text] / P.M. Marcus, P. Vineis, N. Rothman // *Pharmacogenetics.* – 2000. – V. 10. – P. 115–122.

184. L-arginine reduces tubular cell injury in acute post–ischaemic renal failure / M. Jerkic, J. Varagic, D. Jovovic [et al.] // *Nephrol. Dial. Transplant.* – 1999. – Vol. 14, № 6. – P. 1398–1407.

185. Mansour M. A. L-arginine ameliorates kidney function and urinary bladder sensitivity in experimentally–induced renal dysfunction in rats / M. A.

Mansour, O. A. Al-Shabanah, H. A. El-Khashef // J. Biochem. Mol. Biol. – 2003. – Vol. 36, № 4. – P. 373–378.

186. Melatonin attenuates ifosfamide-induced Fanconi syndrome in rats / G. Sener, O. Sehirli, B. C. Yegen [et al.] // Journal of Pineal Research. – 2004. – Vol. 37, № 1. – P. 17–25.

187. Metabolism of ifosfamide during a 3 day infusion / J. M. Hartley, L. Hansen, S. J. Harland [et al.] // Br. J. Cancer. – 1994. – Vol. 69, № 5. – P. 931–936.

188. Metabolism of Ifosfamide to Chloroacetaldehyde Contributes to Antitumor Activity In Vivo / K. Borner, J. Kisro, S. K. Bruggemann [et al.] // Drug Metab. Dispos. – 2000. – Vol. 28, № 5. – P. 573 – 576.

189. Mizuno N. Impact of Drug Transporter Studies on Drug Discovery and Development / N. Mizuno, T. Niwa, Y. Yotsumoto, Y. Sugiyama // Pharmacol Rev. – 2003. – Vol. 55. – P. 425–461.

190. Molecular genetics and epidemiology of the NAT1 and NAT2 acetylation polymorphisms./Hein DW, Doll MA, Fretland AJ, [et al.]//Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. – 2000. – V.9. – P.29–42.

191. Munteanu L, Golea O, Nicolicioiu M, Tudorache V. Specific features of acute renal failure in patients treated with rifampicin. *Pneumologia*. 2002 Jan-Mar;51(1):15-20.

192. Murray AN, Cassidy MJ, Templecamp C. Rapidly progressive glomerulonephritis associated with rifampicin therapy for pulmonary tuberculosis. *Nephron* 1987; 46(4): 373–376

193. Murray M. Competitive inhibition of human liver microsomal cytochrome P450 3A-dependent steroid 6 beta-hydroxylation activity by cyclophosphamide and ifosfamide in vitro / M. Murray, A. M. Butler, I. Stupans // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 1994. – Vol. 270, № 2. – P. 645–649.

194. Muthukumar T. Acute renal failure due to rifampicin: a study of 25 patients / T. Muthukumar, M. Jayakumar, E. M. Fernando, M. A. Muthusethupathi // Am. J. Kidney Dis. – 2002. – Vol. 40, № 4. – P. 690–696.

195. Nephroprotection by Theophylline in Patients with Cisplatin Chemotherapy: A Randomized, Single-Blinded, Placebo-Controlled Trial / P. Benoehr, P. Krueth, C. Bokemeyer [et al.] // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 2005. – Vol. 16. – P. 452–458.
196. Nigam S. K. Acute renal failure. III. The role of growth factors in the process of renal regeneration and repair / S. K. Nigam, W. Lieberthal // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* – 2000. – Vol. 279, № 1. – P. F3–F11.
197. Nissim I. Glycine attenuates Fanconi syndrome induced by maleate or ifosfamide in rats / I. Nissim, J. M. Weinberg // *Kidney Int.* – 1996. – Vol. 49, № 3. – P. 684–695.
198. Nuclear magnetic resonance and high-performance liquid chromatography-nuclear magnetic resonance studies on the toxicity and metabolism of ifosfamide / P. J. Foxall, E. M. Lenz, J. C. Lindon [et al.] // *Ther. Drug. Monit.* – 1996. – Vol. 18, № 4. – P. 498–505.
199. Osmotic Response Element-binding Protein (OREBP) Is an Essential Regulator of the Urine Concentrating Mechanism / A. K. Lam, B. C. Ko, S. Tam [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2004. – Vol. 279, № 46. – P. 48048–48054.
200. Overexpression of Glutathione S-Transferase α in Clear Cell Renal Cell Carcinoma./Chuang S, Chu P, Sugimura J,[et al.]//*Am J Clin Pathol.* – 2005. – V.123. – №3. – P. 421-429.
201. Persson A. E. Mechanisms for macula densa cell release of rennin / A. E. Persson, A. Ollerstam, R. Liu, R. Brown // *Acta Physiologica Scandinavica.* – 2004. – Vol. 181, № 4. – P. 471–474.
202. Pharmacokinetics and metabolism of ifosfamide administered as a continuous infusion in children / A. V. Boddy, S. M. Yule, R. Wyllie [et al.] // *Cancer Res.* – 1993. – Vol. 53, № 16. – P. 3758 – 3764.
203. Pharmacokinetics and whole-body distribution of the new chemotherapeutic agent beta-D-glucosylisophosphoramidate mustard and its effects on the incorporation of [methyl- ^3H] –thymidine in various tissues of the

rat / J. Stuben, R. Port, B. Bertram [et al.] // *Cancer Chemother. Pharmacol.* – 1996. – Vol. 38, № 4. – P. 355–365.

204. Polymorphisms in Drug-Metabolizing Enzymes as Modifiers of Cancer Risk/Nigel K. Spurr, Alan C. Gough, Francis I. Chinegwundoh, [et al.]//*Clinical chemistry.* – Vol.41(№12). – 1995. – P.1864-1869

205. Possible involvement of arylamine N-acetyltransferase 2, Glutathione S-transferase M1 and T1 genes in the development of endometriosis./Baranova H, Canis M, Ivaschenko T,[et al.]//*Molecular Human Reproduction* – 1999. -V.5(№7). – P.636-641.

206. Production of Heparin Binding Epidermal Growth Factor-like Growth Factor in the Early Phase of Regeneration After Acute Renal Injury Isolation and Localization of Bioactive Molecules / M. Sakai, M. Zhang, T. Homma [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 1997. – Vol. 99, № 9. – P. 2128–2138.

207. Progressive glomerular toxicity of ifosfamide in children / V. K. Prasad, I. J. Lewis, S. R. Aparicio [et al.] // *Med. Pediatr. Oncol.* – 1996. – Vol. 27, № 3. – P. 149–155.

208. Protective effect of human ulinastatin against gentamicin-induced acute renal failure in rats / M. Nakakuki, F. Yamasaki, T. Shinkawa [et al.] // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* – 1996. – Vol. 74, № 1. – P. 104–111.

209. Protective effect of L-arginine against nephrotoxicity induced by cyclosporine in normal rats / M. A. Mansour, M. H. Daba, A. Gado [et al.] // *Pharmacol Res.* – 2002. – Vol. 45, № 6. – P. 441–446.

210. Protective effects of recombinant human growth hormone on cirrhotic rats / S. Chen, H. T. Wang, B. Yang [et al.] // *World J. Gastroenterol.* – 2004. – Vol. 10, № 19. – P. 2894–2897.

211. Reimschuessel R. Development of new nephrons in adult kidneys following gentamicin-induced nephrotoxicity / R. Reimschuessel, D. Williams // *Ren. Fail.* – 1995. – Vol. 17, № 2. – P. 101–116.

212. Rekha VV, Santha T, Jawahar MS. Rifampicin-induced renal toxicity during retreatment of patients with pulmonary tuberculosis. *J Assoc Physicians India*. 2005 Sep;53:811-3.
213. Renal function in children and adolescents following 72 g/m² of ifosfamide / C. Arndt, B. Morgenstern, D. Wilson [et al.] // *Cancer Chemother. Pharmacol.* –1994. – Vol. 34, № 5. – P. 431–433.
214. Renal toxicity of ifosfamide in pilot regimens of the intergroup rhabdomyosarcoma study for patients with gross residual tumor / B. Raney, L. G. Ensign, J. Foreman [et al.] // *Am. J. Pediatr. Hematol. Oncol.* – 1994. – Vol. 16, № 4.– P. 286–295.
215. Rifampicin–associated acute renal failure: pathophysiologic, immunologic, and clinical features / A. S. De Vriese, D. L. Robbrecht, R. C. Vanholder [et al.] // *Am. J. Kidney Dis.* – 1998. – Vol. 31, № 1. – P. 108–115.
216. Rifampicin–induced acute renal failure: a series of 60 patients / A. Covic, D. J. Goldsmith, L. Segall [et al.] // *Nephrol. Dial. Transplant.* – 1998. – Vol. 13, № 4.– P. 924–929.
217. Rodriguez–Barbero A. Gentamicin activates rat mesangial cells. A role for platelet activating factor / A. Rodriguez–Barbero, A. M. Rodriguez–Lopez, R. Gonzalez–Sarmiento, J. M. Lopez–Novoa // *Kidney Int.* – 1995. – Vol. 47, № 5. – P. 1346–1353.
218. Roels H. A. Usefulness of biomarkers of exposure to inorganic mercury, lead, or cadmium in controlling occupational and environmental risks of nephrotoxicity / H. A. Roels, P. Hoet, D. Lison // *Ren. Fail.* – 1999. – Vol. 21, № 3–4. – P. 251–262.
219. Role of NO in endothelin–regulated drug transport in the renal proximal tubule / S. Notenboom, D. S. Miller, P. Smits [et al.] // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* – 2002. – Vol. 282, № 3. – P. F458–464.
220. Rossi R. Partial and complete de Toni–Debre–Fanconi syndrome after ifosfamide chemotherapy of childhood malignancy / R. Rossi, J. H. Ehrich // *Eur. J. Clin. Pharmacol.* –1993. – Vol. 44, Suppl. – P. S43–S45.

221. Saad S. Y. Inhibition of nitric oxide synthase aggravates cisplatin-induced nephrotoxicity: effect of 2-amino-4-methylpyridine / S. Y. Saad, T. A. Najjar, M. H. Dana, A. C. Al-Rikabi // *Chemotherapy*. – 2002. – Vol. 48. – P. 309–315.
222. Saleh S. Protective Effects of L-Arginine against Cisplatin-Induced Renal Oxidative Stress and Toxicity: Role of Nitric Oxide / S. Saleh, E. El-Demerdash // *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*. – 2005. – Vol. 97, № 2. – P. 91–97.
223. Sally Pemble, Klaus R. Schroeder, Sharon R. Spencer, David J. Meyer, Ernst Hallier, Hermann M. Bolt, Brian Ketterer and John B. Taylor Human glutathione S-transferase Theta (GSTT1): cDNA cloning and the characterization of a genetic polymorphism // *Biochem. J.* (1994) 300, 271-276
224. Sarab Lizard-Nacol, Bruno Coudert, Pascal Colosetti, Jean-Marc Riedinger, Pierre Fargeot, and Patrick Brunet-Lecomte. Glutathione S-transferase M1 null genotype: lack of association with tumour characteristics and survival in advanced breast cancer // *Breast Cancer Res.* (1999); 1(1): 81–87
225. Schwartz A, Perez-Canto A. Nephrotoxicity of antiinfective drugs. *Int J Clin Pharmacol Ther* 1998; 36(3): 164-167
226. Schwarz A. Nephrotoxicity of antiinfective drugs / A. Schwarz, A. Perez-Canto // *Int. J. Clin. Pharmacol Ther.* – 1998. – Vol. 36, № 3. – P. 164–167.
227. Serum levels of thiobarbituric acid reactive substances predict cardiovascular events in patients with stable coronary artery disease: a longitudinal analysis of the PREVENT study / M. F. Walter, R. F. Jacob, B. Jeffers [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2004. – Vol. 44, № 10. – P. 1996–2002.
228. Severe, irreversible renal failure after ifosfamide treatment. A clinicopathologic report of two patients / J. S. Berns, A. Haghghat, A. Staddon [et al.] // *Cancer*. – 1995. – Vol. 76, № 3. – P. 497–500.
229. Short- and Long-Term Influences of Heavy Metals on Anionic Drug Efflux from Renal Proximal Tubule / S. A. Terlouw, C. Graeff, P. H. Smeets [et

al.] // The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. – 2002. – Vol. 301, № 2. – P. 578–585.

230. Silibinin protects against cisplatin-induced nephrotoxicity without compromising cisplatin or ifosfamide anti-tumour activity / C. Bokemeyer, L. M. Fels, T. Dunn [et al.] // Br. J. Cancer. – 1996. – Vol. 74, № 12. – P. 2036 – 2041.

231. Springate J. Renal Clearance of Ifosfamide / J. Springate, M. J. Zmlauski-Tucker, H. Lu, K. K. Chan // Drug Metab. Dispos. – 1997. – Vol. 25, № 9. – P. 1081–1082.

232. Strange K. Cellular volume homeostasis / K. Strange // Advan. Physiol. Edu.– 2004. – Vol. 28. – P. 155–159.

233. Sweet D. H. Expression Cloning and Characterization of ROATI. The basolateral organic anion transporter in rat kidney / D. H. Sweet, N. A. Wolff, J. B. Pritchard // J. Biol. Chem. – 1997. – Vol. 272, № 48. – P. 30088–30095.

234. Technetium-99m dimercaptosuccinic acid and ifosfamide tubular dysfunction in children with cancer / J. K. Anninga, R. A. Valdes-Olmos, J. de-Kraker [et al.] // Eur. J. Nucl. Med. – 1994. – Vol. 21, № 7. – P. 658–662.

235. Terlouw S. A. Nephrotoxicants Induce Endothelin Release and Signaling in Renal Proximal Tubules: Effect on Drug Efflux / S. A. Terlouw, R. Masereeuw, F. G. Russel, D. S. Miller // Mol Pharmacol. – 2001. – Vol. 59, № 6. – P. 1433–1440.

236. The Glutathione S-Transferase M1 Genotype in Ovarian Cancer./Thomas A. Lallas, Sarah K. McClain, Mark S. Shahin,[et al.]// Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention. – 2000. -V.9. – P.587-590.

237. Toxicity of ifosfamide and its metabolite chloroacetaldehyde in cultured renal tubule cells / J. Springate, K. Chan, H. Lu [et al.] // In Vitro Cell Dev. Biol. Anim.– 1999. – Vol. 35, № 6. – P. 314–317.

238. Toxicity of ifosfamide, cyclophosphamide and their metabolites in renal tubular cells in culture / M. Mohrmann, S. Ansorge, U. Schmich [et al.] // *Pediatr. Nephrol.* – 1994. – Vol. 8, № 2. – P. 157–163.