

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ПОЛУДЕНКО ГАННА ОЛЕКСІЇВНА

УДК [615+577.21]: 616-002.5: 615.28

**ДИСЕРТАЦІЯ
КЛІНІКО-ФАРМАКОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ЦИТОХРОМУ-P4503A4
ПРИ ЛІКУВАННІ ХВОРИХ НА ВПЕРШЕ ДІАГНОСТОВАНИЙ
ТУБЕРКУЛЬОЗ ЛЕГЕНЬ**

222 «Медицина»

22 «Охорона здоров'я»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії
Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело
_____ Г.О. Полуденко

Науковий керівник Антоненко Петро Борисович, доктор медичних наук,
професор

Одеса – 2023

АНОТАЦІЯ

Полуденко Г. О. Клініко-фармакологічні особливості цитохрому-*P4503A4* при лікуванні хворих на вперше діагностований туберкульоз легень. Кваліфікаційна наукова робота на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 «Медицина» - Одеський національний медичний університет, МОЗ України, Одеса, 2022.

Дисертація присвячена встановленню клініко-фармакологічного значення особливостей цитохрому-*P4503A4* у хворих на вперше діагностований туберкульоз легень для ефективності і безпечності фармакотерапії, що має підвищити якість лікування хворих на туберкульоз легень.

Для дослідження поліморфізму генів біотрансформації – *CYP3A4*1B*, *CYP3A4*1G*, *CYP2C9*, *CYP2C19* – було використано виділені зразки ДНК, попередньо отримані у здорових донорів на базі Одеської обласної станції переливання крові. Для вивчення особливостей поліморфізму генів біотрансформації - *CYP3A4*1B*, *CYP3A4*1G*, *CYP2C9*, *CYP2C19* – у хворих на вперше діагностований ТБ легень, а також вмісту ізоніазиду, рифампіцину проводили забір венозної крові на базі Одеського обласного протитуберкульозного диспансеру (зараз - КНП «Одеський обласний центр соціально значущих хвороб») на початку інтенсивної фази лікування. Особливості перебігу і ефективності інтенсивної фази лікування вивчали за даними медичних карт хворих після їх виписки зі стаціонару. Визначали генотип *CYP3A4*1G*, 20230G>A згідно Loïc Le Marchand, 2005 і генотип *CYP3A4*1B* згідно Yuan Gao, 2008 за допомогою ПЛР і наступним застосуванням рестриктаз – метод вивчення поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів (Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP). Генотип *CYP2C19* визначали за допомогою ПЛР та ендонуклеазного аналізу за методом Goldstein J.A., 1996; генотипу *CYP2C9* - за допомогою ПЛР та ендонуклеазного аналізу за методом Sullivan-Klose T.H., 1996. Визначення

вмісту активного ізоніазиду в сироватці крові проводили за допомогою спектрофотометрії згідно Шендерової Р.І., 1976; вміст рифампіцину – за допомогою спектрофотометрії з модифікацією згідно Антоненко П.Б., 2014.

З високим ступенем ймовірності згідно розрахунків PASS аналізу (Prediction of Activity Spectra for Substances) прогнозується участь ферменту *CYP3A4* у метаболізмі рифампіцину (0,891), що може обумовлювати вплив поліморфізму гену *CYP3A4*, і відповідні відмінності у ефективності та безпечності лікування туберкульозу у носіїв різних генотипів ферменту *CYP3A4*. У рифампіцину крім відомої «протитуберкульозної» (0,996), «протилепрозної» (0,973) активності високою є ймовірність «противірусної» (0,870), «протипухлинної» (0,756), «гепатопротекторної» (0,731), «протихелікобактерної» (0,661), «протилейкемічної» (0,513) активності.

Поширеність дикого алелю **A* локусу *CYP3A4*1B* на південному-заході України (97,6%) була близькою до результатів досліджень в країнах Європи (Фінляндія, Боснія – 95-96%). Виявлено тенденцію до збільшення частки носіїв генотипу **AG* зі збільшенням віку добровольців – від 4,5% у віковій групі 21-30 років до 9,8% і 20,0% серед вікових груп 31-40 і старших за 50 років відповідно ($P>0,05$). Поширеність дикого алелю **I* локусу *CYP3A4*1G* в Україні (88,8%) був близьким до результатів досліджень в країнах Європи (в середньому 91,8%). Відзначається тенденція до збільшення частки носіїв генотипу, що містять мутантний алель **IG* зі збільшенням віку добровольців – від 9,1% і 18,9% у віковій групі до 20 років і 21-30 років відповідно до 23,2% і 25,0% у вікових групах 41-50 і понад 50 років відповідно ($P>0,05$).

Вірогідні відмінності у поліморфізмі *CYP3A4*1B* між хворими на вперше діагностований ТБ легень і здоровими донорами не було зафіксовано, хоча серед хворих на ТБ легень дещо частіше спостерігались носії генотипу **AG*, ніж серед здорових добровольців (8,6% проти 6,3%, $P>0,05$). Щодо поліморфізму локусу *CYP3A4*1G* серед хворих на туберкульоз легень частіше зустрічались носії генотипу **I/*I*, ніж серед здорових добровольців (91,4% проти 81,6%; $\chi^2=4,22$; $P<0,05$). Поширеність мутантного алелю **IG* дещо

частіше спостерігалась у хворих на вперше діагностований туберкульоз зі збільшенням віку, а також у хворих чоловічої статі ($P > 0,05$).

Хворі з генотипом *AG через 2 год після введення рифампіцину в 5 разів частіше мали субтерапевтичну концентрацію рифампіцину, ніж носії генотипу *AA ($P < 0,05$); через 4 год - на 20% частіше ($P < 0,05$); через 6 год – майже в 10 разів частіше ($P < 0,05$). У носіїв генотипу *AA спостерігалась дещо вище концентрація ізоніазиду в крові і рідше зустрічались випадки субтерапевтичної концентрації ізоніазиду, ніж у носіїв генотипу *AG ($P > 0,05$).

Серед хворих на вперше діагностований туберкульоз легень майже в 2 рази частіше зустрічались носії генотипу *CYP2C9* і *2C19* (*RM+IM*; *IM+RM*), ніж в контрольній групі (54,8% проти 27,9%; $P = 0,003$; $\chi^2 = 8,687$). Найвищий рівень рифампіцину в крові через добу після введення і найменша кількість випадків субефективної концентрації рифампіцину спостерігався у носіїв генотипу *CYP2C9* і *2C19* (*SM+RM*).

На початку лікування серед носіїв генотипу *AG процеси розпаду зустрічались в 3,3 рази частіше, ніж у носії генотипів *AA (44,4% проти 13,5%; $P < 0,05$), водночас процеси інфільтрації найбільше зустрічались у осіб з генотипом *AA – 54,2%, що майже в 4,9 разів частіше, ніж у хворих з генотипом *AG – 11,1 % ($P < 0,05$). При завершенні інтенсивної фази лікування, процес туберкульозного обсіменіння легеневої тканини спостерігався майже втричі частіше у носіїв генотипу *AG, ніж при генотипі *AA ($P < 0,05$); явища розсмоктування і ущільнення в легеневій тканині спостерігалось у 81,2% носіїв генотипу *AA ($P < 0,05$) і 66,7% носіїв генотипу *AG ($P < 0,05$). Згідно даних культурального методу наприкінці інтенсивної фази лікування бактеріовиділення спостерігалось приблизно у 37,5 % носіїв генотипів *AA і 77,8% носіїв генотипу *AG, тобто хворі з генотипом *AG в 2,1 рази частіше були бактеріовиділювачами на момент виписки зі стаціонару, ніж носії генотипу *AA ($P < 0,05$). Як на початку, так і при завершенні інтенсивної фази лікування істотних відмінностей за показниками периферичної крові між носіями *AA і *AG не спостерігалось, хоча загальна тенденція свідчила про

більшу виразність патологічних зсувів у носіїв генотипу *AG – дещо вищий лейкоцитоз і ШОЕ, а також нижчий рівень лімфоцитів і гемоглобіну, ніж у носіїв генотипу *AA.

Отримані дані засвідчили, що як на початку, так і під час закінчення інтенсивної фази лікування у хворих з різним генотипом *CYP3A4*1G* істотних відмінностей не спостерігалось. Відповідно до комбінованого поліморфізму *CYP3A4 *1B* і **1G* наявність мутантних алелів супроводжувалось дещо гіршими результатами лікування – більшим поширенням інфільтративної форми ураження легень у носіїв генотипу **IM* (*intermediate metabolizers*), ніж в групі **RM* (*rapid metabolizers*) (84,6% проти 55,9%, $P < 0,05$), і довшим припиненням процесів деструкції легень, ніж в групі **RM* (80,0 проти 55,8 днів, $P < 0,001$). Водночас серед носіїв генотипу **SM* (*slow metabolizers*) частіше зберігались явища інфільтрації легеневої тканини, ніж у хворих з генотипом **RM* (33,3% проти 8,3%, $P < 0,05$). На початку інтенсивної фази лікування згідно лабораторних даних найважчий перебіг туберкульозної інфекції спостерігався у носіїв генотипу **RM*, **IM* і значно легший перебіг мав місце у носіїв генотипу **SM*. У носіїв генотипу **IM* відзначалась найбільш висока кількість лейкоцитів і кількість хворих з абсолютним лейкоцитозом в периферичній крові – в 2,4 рази більше, ніж серед носіїв генотипу **RM* ($P < 0,05$) і **SM* ($P > 0,05$). Найнижчим середній показник ШОЕ спостерігалася у носіїв генотипу **SM*, при цьому кількість хворих з підвищеним ШОЕ в групі **SM* була менше від аналогічного показника носіїв генотипу **RM* і **IM* в 3,7 разів ($P < 0,05$) і в 4,7 разів ($P < 0,05$) відповідно. При цьому в групі **SM* середній показник ШОЕ не перевищував граничний показник норми на відміну від носіїв генотипу **RM*, **IM*. В результаті проведення інтенсивної фази лікування найбільш виразно показники периферичної крові нормалізувались у носіїв генотипу **RM*, які у великій мірі наблизились до аналогічних показників **SM* (кількість лейкоцитів, середній рівень ШОЕ, відносна кількість лімфоцитів тощо).

На початку лікування носії генотипу **AG* мали дещо нижчу активність маркерів цитолізу аланінамінотрансферази (АлТ), аспаратамінотрансферази

(АсТ) і маркеру холестазу гамма-глутатіонтрансфераза (ГГТ), ніж носії генотипу *AA. Після проведення інтенсивної фази лікування активність маркерів цитолізу АлТ і АсТ, та маркеру холестазу ГГТ у хворих на вперше діагностований туберкульоз легень з генотипом *AA недостовірно зросла – на 7,0%, на 9,3% і на 4,5% ($P>0,05$); у хворих з генотипом *AG активність АлТ, АсТ і ГГТ навпаки мала тенденцію до зниження – на 18,7%, на 3,0% і на 9,0% ($P>0,05$), аналогічна тенденція спостерігалась і щодо кількості хворих з підвищеною активністю АлТ, АсТ і ГГТ. Наприкінці інтенсивної фази лікування середня активність АлТ у носіїв генотипу *AA була в 1,8 разів вища, ніж у носіїв генотипу *AG ($P=0,046$).

Отже, у хворих на вперше діагностований туберкульоз легень, які були носіями мутованого алелю *G в локусі *CYP3A4*1B*, відзначався більш важкий перебіг туберкульозу легень як на початку, так і наприкінці лікування, що ймовірно пов'язано з більшою частотою субтерапевтичної концентрації рифампіцину в крові, відносно хворих з «диким» алелем *A. Водночас саме у осіб з мутованим алелем *G був нижчий ризик ураження гепатобіліарної системи під час протитуберкульозної хіміотерапії.

У носіїв генотипу *I/*I маркери цитолізу, холестазу і детоксикаційної функції печінки не відрізнялись або дещо навіть перевищували аналогічні показники генотипів *I/IG і/або *IG/IG. В результаті проведеної інтенсивної фази лікування показники цитолізу і холестазу у носіїв генотипу *I/*I практично не змінились, водночас вони істотно зросли у носіїв генотипу *I/IG і/або *IG/IG. Наприклад, після закінчення інтенсивної фази лікування у носіїв генотипу *I/*I спостерігалось зниження вмісту загального білірубину в крові на 10,4% відносно початкового рівня ($P=0,023$), водночас у носіїв генотипу *IG/IG середній рівень загального білірубину збільшився в 1,5 рази ($P<0,001$). Після проведення інтенсивної фази лікування активність маркерів цитолізу АлТ і АсТ у хворих на вперше діагностований туберкульоз легень з генотипом *I/*I недостовірно зросла – на 6,0% і на 2,2% ($P>0,05$), водночас у носіїв генотипу *IG/IG активність АлТ і АсТ зросла на 72,7% ($P=0,033$) і на 115,8% ($P=0,049$).

Отже, поліморфізм гену *CYP3A4*1G* має контраверсійне значення для ефективності протитуберкульозного лікування, так само як і для вихідного функціонального стану печінки у хворих на вперше діагностований туберкульоз легень. Наявність генотипу **1G/*1G* є несприятливим фактором щодо ймовірності виникнення ураження гепатобіліарної системи, погіршенням детоксуючої функції печінки під час протитуберкульозної хіміотерапії. Визначення генотипу *CYP3A4*1G* у хворих на туберкульоз легень дозволить виділити групи ризику щодо ймовірності ураження печінки, що дозволить проводити своєчасну корекцію фармакотерапії.

Згідно отриманих даних на початку інтенсивної фази лікування, найменший рівень білірубіну спостерігався у носіїв генотипу **SM* - 8,72 ммоль/л проти 15,65 і 15,68 в групі **RM* і **IM* відповідно, $P < 0,05$, також в цій групі спостерігався дещо нижча активність АлТ, АсТ і ГГТ, ніж у носіїв генотипу **RM* і **IM*. В результаті інтенсивної фази лікування у носіїв генотипу **RM* і **IM* спостерігалось деяке зниження вмісту білірубіну в крові – на 14,2% ($P < 0,05$) і на 27,1% ($P > 0,05$) відповідно, водночас в групі генотипу **SM* вміст білірубіну зріс на 42,9% ($P < 0,05$). Водночас активність маркерів цитолізу АлТ, АсТ і ГГТФ мали тенденцію до зростання як в групі **RM*, так і особливо у носіїв генотипу **IM*. Однак найбільш інтенсивне зростання активності маркерів цитолізу спостерігалось в групі **SM*, зокрема активність АсТ і АлТ зросла на 98,9% ($P = 0,034$) і на 76,1% ($P > 0,05$). При цьому серед мутованих алелів, що досліджувались, саме алель **1G* локусу *CYP3A4*1G* став визначальним предиктором для значного зростання показників цитолізу (АлТ і АсТ) і зростання вмісту білірубіну, оскільки ізольоване дослідження локусу *CYP3A4*1B* виявило відсутність такої закономірності для мутованого алелю **G*.

Встановлено, що виявлення поліморфізму *CYP3A4*1B* є важливим прогностичним фактором ризику розвитку субтерапевтичної концентрації рифампіцину і відповідно зниження ефективності протитуберкульозної хіміотерапії, а визначення генотипу *CYP3A4*1G* у хворих на туберкульоз

легень дозволяє виявити групу ризику щодо токсичного ураження гепатобіліарної системи і, таким чином, підвищити безпечність лікування.

Ключові слова: туберкульоз, *CYP3A4*, поліморфізм, ген, гепатотоксичність, рифампіцин, ефективність, лікування

ANNOTATION

Poludenko H. O. Clinical pharmacological peculiarities of *cytochrome-P4503A4* during treatment of the patients with primary pulmonary tuberculosis. Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

A dissertation for a degree of a doctor of philosophy in specialty 222 “Medicine”. – Odessa National Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Odesa, 2022.

The dissertation is dedicated for revealing of the clinical pharmacological impact of *cytochrome-P4503A4* peculiarities in patients with primary pulmonary tuberculosis for the effectiveness and safety of pharmacotherapy, which should increase the quality of the pharmacotherapy of patients with pulmonary tuberculosis.

For studying of biotransformation genes polymorphism like *CYP3A4*1B*, *CYP3A4*1G*, *CYP2C9*, *CYP2C19* the isolated DNA samples previously obtained from healthy donors at the Odesa Regional Blood Transfusion Station were used. For studying of the biotransformation genes polymorphism in the patients with primary pulmonary TB like *CYP3A4*1B*, *CYP3A4*1G*, *CYP2C9*, *CYP2C19* as well as isoniazid and rifampicin level the venous blood samples were obtained at Odesa oblast antituberculosis dispensary (currently - CNO «Odesa oblast center of socially dangerous infections») at the beginning of intensive phase of treatment. Peculiarities of the course and effectiveness of intensive phase treatment were studied based on the data of the patients' medical records after their discharge from the inpatient facility. It was studied *CYP3A4*1G* genotype, 20230G>A according to Loïc Le Marchand, 2005 and *CYP3A4*1B* genotype according to Yuan Gao, 2008 with PCR and following application of restrictases by the method of Restriction Fragment Length

Polymorphism (RFLP). The *CYP2C19* genotype has been studied with the help with PCR and endonuclease analysis according to Goldstein J.A., 1996; the *CYP2C9* genotype - with the help with PCR and endonuclease analysis according to Sullivan-Klose T.H., 1996. The level of active isoniazid level in blood has been studied according to Shenderova R.I., 1976; rifampicin level has been studied with the help of spectrophotometry with modification according to Antonenko P.B., 2014.

With a high degree of probability, according to PASS analysis calculations (Prediction of Activity Spectra for Substances), the participation of the CYP3A4 enzyme in the metabolism of rifampicin is predicted (0.891), which may determine the effect of the *CYP3A4* gene polymorphism, and the corresponding differences in the effectiveness and safety of tuberculosis treatment in the carriers of different genotypes of the CYP3A4 enzyme. Rifampicin, in addition to the known "anti-tuberculosis" (0.996), "anti-leprosy" (0.973) activity, has a high probability of "antiviral" (0.870), "antitumor" (0.756), "hepatoprotective" (0.731), "antihelicobacter" (0.661), "anti-leukemic" (0.513) activity.

The prevalence of the wild allele *A of the *CYP3A4*1B* locus in the South-West of Ukraine (97.6%) was close to the results of research in European countries (Finland, Bosnia – 95-96%). A tendency towards increasing of *AG carriers number with age increasing in control group was revealed - from 4.5% in the 21-30 age group to 9.8% and 20.0% among the 31-40 and over 50 age groups, respectively ($P > 0,05$). The prevalence of the wild allele *1 of the *CYP3A4*1G* locus in Ukraine (88.8%) was close to the results of studies in European countries (an average of 91.8%). There was a tendency of increasing of the mutated *1G allele frequency in control group with increasing age of volunteers - from 9.1% and 18.9% in the age group up to 20 years and 21-30 years, respectively, to 23.2% and 25.0 % in the 41-50 and over 50 age groups, respectively ($p > 0,05$).

The differences in the *CYP3A4*1B* polymorphism between patients with primary pulmonary TB and healthy donors were not recorded, although carriers of the *AG genotype were slightly more often observed among patients with primary pulmonary TB than among healthy volunteers (8,6% versus 6,3%, $p > 0,05$).

Regarding the polymorphism of the *CYP3A4*1G* locus, the **1/*1* genotype was more common among patients with primary pulmonary TB than among healthy volunteers (91,4% versus 81,6%; $\chi^2=4,22$; $p<0,05$). The prevalence of the **1G* mutated allele was slightly more frequent in tuberculosis patients of older age and male gender ($p>0,05$).

Patients with the **AG* genotype 2 hours after the administration of rifampicin had a subtherapeutic concentration of rifampicin 5 times more often than in **AA* genotype carriers ($p<0,05$); after 4 hours – on 20% more often ($p<0,05$); after 6 hours - almost 10 times more often ($p<0,05$). Carriers of the **AA* genotype had a slightly higher concentration of isoniazid in the blood, and the cases of subtherapeutic isoniazid concentrations were less frequent than in carriers of the **AG* genotype ($P>0,05$).

Carriers of the *CYP2C9* and *2C19* genotype (*RM+IM*; *IM+RM*) were almost 2 times more frequent among patients with primary pulmonary tuberculosis than in the control group (54.8% vs. 27.9%; $p=0.003$; $\chi^2=8.687$). The highest level of rifampicin in the blood one day after administration and the lowest number of cases of subeffective concentration of rifampicin was observed in carriers of the genotype *CYP2C9* and *2C19* (*SM+RM*).

At the beginning of treatment, the destruction processes occurred 3.3 times more often in carriers of the **AG* genotype than in carriers of the **AA* genotype (44.4% vs. 13.5%; $p<0,05$), while infiltration processes were more common in individuals with **AA* genotype – it was almost 4.9 times more often than in patients with genotype **AG* (54.2% vs. 11.1%, $p<0,05$). At the end of intensive phase of treatment, the process of tuberculosis dissemination throughout lung tissue was observed almost three times more often in carriers of the **AG* genotype than in the **AA* genotype ($p<0,05$); resorption and consolidation of tuberculosis loci in the lung tissue were observed in 81.2% of carriers of the **AA* genotype ($p<0,05$) and in 66.7% of carriers of the **AG* genotype ($p<0,05$). According to the results of cultural method, at the end of intensive phase of treatment, the bacterial excretion was observed in approximately 37.5% of **AA* genotype carriers and in 77.8% of **AG* genotype

carriers, i.e., patients with the *AG genotype 2.1 times more likely remain smear positive at the time of discharge from the hospital than carriers of the *AA genotype ($p < 0,05$). Both at the beginning and at the end of intensive phase of treatment, no significant differences between *AA and *AG carriers concerning peripheral blood parameters were observed, although the general trend indicated more significant disturbances in carriers of the *AG genotype: slightly higher leukocytosis and erythrocyte sedimentation rate (ESR), as well as lower the level of lymphocytes and hemoglobin than in carriers of the *AA genotype.

The obtained data proved that both at the beginning and at the end of the intensive phase of treatment, no significant differences were observed in patients with different *CYP3A4*1G* genotypes. According to the combined polymorphism of *CYP3A4*1B* and *1G, the presence of mutated alleles was accompanied by slightly worse treatment results - a greater spread of the infiltrative form of lung lesions in carriers of the *IM genotype (*intermediate metabolizers*), than in the group of *RM (*rapid metabolizers*) (84,6% vs. 55,9%, $P < 0,05$), as well as longer termination time of lung destruction than in the group of *RM (80,0 vs 55,8 днів, $P < 0,001$). At the same time, among carriers of the *SM genotype (*slow metabolizers*), the tuberculosis infiltration of lung tissue remained more often than in patients with the *RM genotype (33,3% vs. 8,3%, $p < 0,05$). At the beginning of intensive phase of treatment, according to laboratory data, the most severe course of tuberculosis infection was observed in carriers of the *RM and *IM genotype, and a much milder tuberculosis course occurred in carriers of the *SM genotype. Carriers of the *IM genotype had the highest number of leukocytes and the number of patients with absolute leukocytosis in peripheral blood - 2.4 times more than among carriers of the *RM genotype ($p < 0.05$) and *SM ($p > 0.05$). The lowest average level of ESR was observed in carriers of the *SM genotype, while the number of patients with elevated erythrocyte sedentary rate among *SM group was 3.7 and 4.7 times ($p < 0.05$) correspondently. At the same time, in the *SM group, the average ESR did not exceed the normal level, unlike carriers of the *RM, *IM genotype. As a result of the intensive phase of treatment, peripheral blood indexes were most significantly

normalized in carriers of the **RM* genotype and became close to **SM* (count of leukocytes, average level of ESR, lymphocytes percentage, etc.).

At the beginning of treatment, patients with **AG* genotype had slightly lower activity of cytolysis markers alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AsT) and the cholestasis marker gamma-glutathione transferase (GGT) than the carriers with **AA* genotype. After intensive phase of treatment, the activity of cytolysis markers ALT and AsT, and the cholestasis marker GGT in patients with primary pulmonary tuberculosis with genotype **AA* increased insignificantly by 7.0%, 9.3% and 4.5% ($p>0,05$); in the patients with **AG* genotype, the activity of ALT, AsT and GGT, on the contrary, had a tendency to decrease - by 18.7%, by 3.0% and by 9.0% ($p>0.05$), a similar trend was observed regarding number of patients with increased activity of ALT, AsT and GGT. At the end of intensive phase of treatment, the average activity of ALT in the individuals with **AA* genotype was 1.8 times higher than in carriers of the **AG* genotype ($p=0,046$).

Therefore, patients with primary pulmonary tuberculosis who were carriers of the mutated allele **G* in the *CYP3A4*1B* locus had a more severe course of pulmonary tuberculosis both at the beginning and at the end of treatment, which is probably associated with a higher frequency of subtherapeutic concentrations of rifampicin in the blood, compared to patients with the "wild" allele **A*. At the same time, individuals with the mutated **G* allele had a lower risk of drug-induced liver injury during antituberculosis therapy.

In carriers of the **I/*I* genotype, indexes of cytolysis, cholestasis, and liver detoxification function did not differ from or even slightly exceeded similar indicators of the **I/IG* and/or **IG/IG* genotypes groups. As a result of the intensive phase of treatment, cytolysis and cholestasis indicators in **I/*I* genotype carriers practically did not change, while they significantly increased in **I/IG* and/or **IG/IG* genotype carriers. For example, after the end of the intensive phase of treatment stage, carriers of the **I/*I* genotype had a 10.4% decrease in total bilirubin in the blood relative to the initial level ($p=0.023$), while carriers of the **IG/IG* genotype had an average increase of total bilirubin in 1.5 times ($p<0.001$). After intensive

phase of treatment, the activity of cytolysis markers ALT and AsT in patients with primary pulmonary tuberculosis with the **I/*I* genotype increased insignificantly by 6.0% and 2.2% ($p>0.05$), at the same time, in carriers of the **IG/IG* genotype the activity of ALT and AsT increased by 72.7% ($p=0,033$) and by 115,8% ($p=0,049$).

Therefore, the polymorphism of the *CYP3A4*IG* gene has controversial meaning for the effectiveness of antituberculosis treatment, as well as for the initial function of the liver in patients with primary pulmonary tuberculosis. The presence of the **IG/*IG* genotype is an unfavorable factor regarding to the risk of liver injury, deterioration of the detoxifying function of the liver during antituberculosis chemotherapy. Determination of the *CYP3A4*IG* genotype in patients with tuberculosis will allow to identify a risk group regarding possible liver injury, which will allow to provide essential correction of pharmacotherapy.

According to the data obtained at the beginning of intensive phase of treatment, the lowest level of bilirubin was observed in carriers of the **SM* genotype - 8.72 mmol/l versus 15.65 and 15.68 in the **RM* and **IM* groups, respectively, $p<0.05$), also in the first group had a slightly lower activity of ALT, AsT and GGT than in carriers of the **RM* and **IM* genotypes. As a result of intensive phase of treatment, carriers of the **RM* and **IM* genotypes showed a slight decrease in the content of bilirubin in the blood - by 14.2% ($p<0.05$) and 27.1% ($p>0.05$), respectively, while in the group of the **SM* genotype, the bilirubin content increased by 42.9% ($p<0,05$). At the same time, the activity of the cytolysis markers ALT, AsT and GGT insignificantly increased both in the **RM* group and especially in the carriers of the **IM* genotype. However, the most significant increase in the activity of cytolysis indexes was observed in the **SM* group, for example the activity of AsT and ALT increased by 98.9% ($p=0.034$) and by 76.1% ($p>0.05$). At the same time, among the studied mutated alleles, it was revealed that the **IG* allele of the *CYP3A4*IG* locus was highly predictive for a significant increase of cytolysis indexes (ALT and AsT) and bilirubin content, while an isolated study of the *CYP3A4*IB* locus revealed the absence of such a pattern for the mutated allele **G*.

It was established that the revealing of the *CYP3A4*1B* polymorphism is an important prognostic risk factor for the development of subtherapeutic concentrations of rifampicin and in turn for decreasing of effectiveness of antituberculosis chemotherapy; detection of the *CYP3A4*1G* genotype in patients with pulmonary tuberculosis allows us to identify a group with high risk for liver toxicity and, thus, promotes increasing of the treatment safety.

Key words: tuberculosis, *CYP3A4*, polymorphism, gene, hepatotoxicity, rifampicin, effectiveness, treatment

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Полуденко Г.О., Антоненко П.Б., Кресюн В.Й. Фармакогенетичні аспекти сучасної медикаментозної терапії. *Досягнення біології та медицини*. 2016. №2. С. 61-66. (Особистий внесок – брала участь у зборі літературних джерел, аналізі і формуванні огляду).

2. Полуденко Г.О., Антоненко П.Б. Значення поліморфізму *CYP3A4*1B* для метаболізму рифампіцину. *Journal of Health Sciences*. 2017. Vol. 7, N8. P. 1082-1090. (Особистий внесок – брала участь у плануванні дослідження, формуванні огляду літератури, проведенні збору, обробки та узагальнення отриманих експериментальних даних).

3. Полуденко Г.О., Антоненко П.Б., Філюк В.В., Антоненко К.О. Поєднаний поліморфізм цитохромів *CYP2C9* і *CYP2C19* у хворих на туберкульоз та їх значення для вмісту рифампіцину в крові. *Досягнення біології та медицини*. 2019. № 2. С. 39-43. (Особистий внесок – брала участь у плануванні дослідження, формуванні огляду літератури, проведенні збору, обробки та узагальнення отриманих експериментальних даних)

4. Полуденко Г.О. Визначення генотипу CYP3A4 як імовірного маркера гепато-токсичності протитуберкульозної терапії. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2021. Т.15, № 4. С. 266-273.

5. Полуденко Г.О., Антоненко П.Б., Рожковський Я.В., Антоненко К.О., Лобашова К.Г. Ефективність лікування туберкульозу легень в залежності від генотипу CYP3A4. *Український пульмонологічний журнал*. 2022. Т.30, №1. С. 62-66. (Особистий внесок – брала участь у плануванні дослідження, формуванні огляду літератури, проведенні збору, обробки та узагальнення отриманих експериментальних даних).

6. Полуденко Г.О., Антоненко П.Б., Антоненко К.О., Макаренко О.В. Поліморфізм гена CYP3A4*1G як предиктор гепатотоксичності протитуберкульозної терапії. *Медичні перспективи*. 2022. Т.27, №1. С. 97-103. (Особистий внесок – брала участь у плануванні дослідження, формуванні огляду літератури, проведенні збору, обробки та узагальнення отриманих експериментальних даних).

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

7. Антоненко П.Б., Кузьмін В.Є., Полуденко Г.О., Огніченко Л.М. Математичне прогнозування фармакологічної активності і метаболізму ізоніазиду. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*: матер. XXXIII Всеукраїнської наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Харків, 8 квітня 2016 р., Харків, НФАУ, 2016. С. 22.

8. Полуденко Г.О. Прогнозування фармакологічної активності і метаболізму рифампіцину. *Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини*: тези доп. Міжнар. наук. конф. студентів та молодих вчених, присвячена 150-річчю з дня народження Д. К. Заболотного, Одеса, 21-22 квітня 2016 р., Одеса, ОНМедУ, 2016. С. 51-52.

9. Полуденко Г.О. Поліморфізм генотипу CYP450 3A4*1B в Одеському регіону. *Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини*: тези доп. Міжнар. наук. конф. студентів та молодих вчених, присвячена 100-річчю з

дня народження І.Г. Герцена, Одеса, 27-28 квітня 2017 р., Одеса, ОНМедУ, 2017. С. 67.

10. Полуденко Г.О. Особливості генотипу CYP450 3A4*1B серед хворих на туберкульоз. *Фармакологія та раціональна фармакотерапія*: тези доп. V національного з'їзду фармакологів України, Запоріжжя, 18-20 жовтня 2017 р., Запоріжжя, 2017. С. 106.

11. Полуденко Г.О. Поліморфізм CYP3A4 *1B у хворих на туберкульоз як предиктор гепатотоксичності. *Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини*: тези доп. міжнар. наук. конф. студентів та молодих вчених, присвяченої 100-річчю з дня народження С.І. Корхова, Одеса, 19-20 квітня 2018 р., Одеса, 2018. С. 63.

12. Antonenko P., Poludenko H., Kresyun V., Antonenko K. Association between tuberculosis treatment and CYP3A4*1B polymorphism of the patients. *Pharmacology for the future. Science, drug development and therapeutics*: program book 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology, Kyoto, Japan, 1-6 July 2018, Kyoto, Japan, 2018. – PO4-10-32.

13. Полуденко Г.О., Антоненко П.Б., Кресюн В.Й., Антоненко К.О. Вміст рифампіцину у хворих на туберкульоз в залежності від генотипу CYP450 3A4*1B. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція*: тези доп. I наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар., Харків, 18 жовтня 2018 р., Харків, 2018. С. 182.

14. Poludenko H.O., Antonenko P.B., Kresyun V.I., Antonenko K.O., Godovan V.V. Results of intensive phase treatment of tuberculosis treatment according to CYP3A4*1B genotype. *Medicine under the modern conditions of integration development of European countries*: Conference proceeding International scientific conference, Lublin, Poland, 10-11 May, 2019, Lublin, Poland, 2019. P. 174-176.

15. Полуденко Г.О. Перебіг туберкульозу легень в залежності від генотипу CYP3A4*1G. *Безпека та нормативно-правовий супровід лікарських засобів: від розробки до медичного застосування*: матеріали п'ятої наук.-практ.

конф. з міжн. участю, присвяченої пам'яті проф. Вікторова О. П., Київ, 22-23 жовтня 2019 р., Київ, 2019. С. 70-71.

16. Полуденко Г.О., Антоненко П.Б., Кресюн В.Й., Антоненко К.О. Поєднаний поліморфізм цитохромів CYP2C9 і CYP2C19 у хворих на туберкульоз та його значення для вмісту рифампіцину в крові. *Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів: матеріали IV Міжнародної наук.-практ. конф. «Ліки – людині»*, Харків, 12-13 березня 2020 р., Харків, НФУ, 2020, Т.2. С. 444-446.

17. Полуденко Г.О. Значення поліморфізму гену *CYP3A4*1G* у прогнозуванні гепатотоксичності протитуберкульозної терапії. *Modern approach of experimental and preclinical pharmacology: матеріали міжнар. дистанційної наук.-практ. конф.*, Харків, 19 лютого 2021 р., Харків, НФУ, 2021. С. 160.

18. Antonenko P.B., Poludenko H.O., Antonenko K.O., Rozkovsky Ya.V., Kresyun V.Y. *CYP3A4*1G* polymorphism as a predictor of hepatotoxicity during anti-TB treatment. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Diseases*. 2021. Vol. 25, N 10 (suppl. 2). – S. 97. (abstracts 52nd World Conference on Lung Health of the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease (The Union). Virtual event, 19-22 October 2021).

19. Poludenko H.O., Antonenko P.B., Antonenko K.O. Detection of two loci of *CYP3A4* as a predictor of the hepatotoxicity during tuberculosis treatment. *Pharmaceutical and clinical research: presentation of International webinar*, November, 16, 2022, Scientex conferences, 2022. P. 12.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	20		
ВСТУП.....	21		
РОЗДІЛ 1	КЛІНІКО-ФАРМАКОЛОГІЧНЕ	ЗНАЧЕННЯ	
	ГЕНЕТИЧНОГО	ПОЛІМОРФІЗМУ	ДЛЯ
	ПРОТИТУБЕРКУЛЬОЗНОЇ ТЕРАПІЇ (огляд літератури).....		26
	1.1.	Сучасні проблеми туберкульозу	26
	1.2.	Генетичний поліморфізм, що визначає ефективність протитуберкульозних лікарських препаратів	34
РОЗДІЛ 2	МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....		47
	2.1.	Характеристика методів дослідження.....	47
	2.2.	Молекулярно-генетичні методи, використані для генотипування хворих і здорових добровольців.....	50
	2.3.	Методи вимірювання концентрації протитуберкульозних препаратів в крові хворих	52
РОЗДІЛ 3	ПОЛІМОРФІЗМ <i>CYP3A4</i> СЕРЕД ЗДОРОВИХ І ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ.....		55
	3.1.	Дослідження шляхів біотрансформації протитуберкульозних препаратів <i>in silico</i>	55
	3.2.	Поліморфізм <i>CYP3A4</i> серед здорових добровольців ...	58
	3.3.	Варіативність генотипу <i>CYP3A4</i> серед хворих на вперше діагностований туберкульоз легень	67
РОЗДІЛ 4	ВПЛИВ ПРОТИТУБЕРКУЛЬОЗНОЇ ТЕРАПІЇ НА ЛАБОРАТОРНІ ПОКАЗНИКИ В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ГЕНЕТИЧНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ <i>CYP3A4</i>		76
	4.1.	Лабораторні показники у хворих на вперше діагностований туберкульоз легень в залежності від генотипу <i>CYP3A4*1B</i>	76
	4.2.	Лабораторні показники у хворих на вперше діагностований туберкульоз легень в залежності від генотипу <i>CYP3A4*1G</i>	82
	4.3.	Лабораторні показники у хворих на вперше	

	діагностований туберкульоз легень в залежності від поєданого генотипу <i>CYP3A4*1B</i> та <i>CYP3A4*1G</i>	91
РОЗДІЛ 5	ПЕРЕБІГ ВПЕРШЕ ДІАГНОСТОВАНОГО ТУБЕРКУЛЬОЗУ ЛЕГЕНЬ В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ГЕНЕТИЧНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ ПРОЦЕСІВ БІОТРАНСФОРМАЦІЇ ХВОРИХ	104
	5.1. Вміст рифампіцину та ізоніазиду в крові в залежності від генотипу <i>CYP3A4</i>	104
	5.2. Вміст рифампіцину в крові в залежності від поєданого поліморфізму <i>CYP2C9</i> і <i>CYP2C19</i>	108
	5.3. Вплив лікування вперше діагностованого туберкульозу легень в залежності від генотипу <i>CYP3A4*1B</i>	113
	5.4. Результати лікування вперше діагностованого туберкульозу легень в залежності від генотипу <i>CYP3A4*1G</i>	118
	5.5. Вплив лікування вперше діагностованого туберкульозу легень в залежності від поєданого генотипу <i>CYP3A4*1B</i> та <i>CYP3A4*1G</i>	124
РОЗДІЛ 6	КЛІНІКО-ФАРМАКОЛОГІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ГЕНЕТИЧНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ <i>CYP3A4</i> ДЛЯ ХІМІОТЕРАПІЇ ТУБЕРКУЛЬОЗУ	135
	6.1. Значення поліморфізму <i>CYP3A4*1B</i> для протитуберкульозної хіміотерапії.....	135
	6.2. Вплив поліморфізму <i>CYP3A4*1G</i> на ефективність протитуберкульозної хіміотерапії.....	139
	6.3. Комбінований поліморфізм <i>CYP3A4*1B</i> і <i>CYP3A4*1G</i> та його значення при проведенні хіміотерапії хворих на вперше діагностований туберкульоз легень.....	144
	ВИСНОВКИ.....	147
	ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	150
	ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	151
	ДОДАТОК АКТИ ВПРОВАДЖЕННЯ.....	167

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АлТ – аланінамінотрансфераза

АсТ – аспартатамінотрансфераза

ВДТБ – вперше діагностований туберкульоз легень

ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров'я

МБТ – мікобактерія туберкульозу

ПА – повільні ацетилятори

ПЛР – полімеразно ланцюгова реакція

ПТП – протитуберкульозні препарати

ТБ – туберкульоз

ША – швидкі ацетилятори

ШОЕ – швидкість осідання еритроцитів

СУР-450 – цитохром Р-450

ІМ – intermediate metabolizers (помірні метаболізатори)

МСНС – mean cell hemoglobin concentration (середня концентрація гемоглобіну в еритроциті)

Mean±SEM – середнє значення ± стандартна похибка середньої

НАТ – N-ацетилтрансфераза

PASS – Prediction of Activity Spectra for Substances (прогноз спектрів біологічної активності органічних сполук)

RM – rapid metabolizers (швидкі метаболізатори)

SM – slow metabolizers (повільні метаболізатори)

ВСТУП

Актуальність теми. Незважаючи на певні досягненні в Україні в попередженні та лікуванні хворих на туберкульоз, що підтверджується значним внеском нашої країни у зниженні кількості нових випадків туберкульозу у світі в 2020 р., Україна все ще належить до країн зі значним поширенням мультирезистентних штамів збудника туберкульозу [WHO, 2021; Мельник В.М. та ін. 2020]. Серед заходів, що можуть поліпшити ефективність лікування та попередити розвиток побічних реакцій протитуберкульозної терапії, важливе місце посідає персоніфікація лікування, тобто корекція фармакотерапії в залежності від генетичних особливостей хворих [Yui-Wing Francis Lam et al., 2018]. Генетичний поліморфізм впливає на низку цитохромів (CYP) 450, таких як *CYP 2D6*, *2C9*, *2C19*, що можуть змінювати ефективність певних препаратів. Сьогодні в практичній медицині визначення генотипу *CYP2C9* проводиться перед введенням антикоагулянту варфарину, генотипу *CYP2C19* – перед введенням антиагреганту клопідогрелу тощо [Heller F., 2013; Shin J., 2012]. Відомо, що у хворих на туберкульоз, які згідно генотипу *N-ацетилтрансферази 2* є «повільними ацетиляторами», відповідно генотипу *CYP2E1* є «швидкими метаболізаторами» або згідно генотипу *CYP2C9* є «повільними метаболізаторами» мають більший ризик виникнення ураження печінки, ніж носії інших генотипів [Антоненко П.Б., 2015].

Відомо, що фермент цитохром (CYP) 3A4/5 приймає участь у метаболізмі близько 40% ксенобіотиків, в свою чергу активність ферменту у значній мірі визначається поліморфізмом відповідних локусів гену *CYP3A4*. Зокрема, верпамілу, галантаміну, діазепаму, доксорубіцину та ін. [Betram G Katzung, 2018]. Попередні дослідження фокусуються на поліморфізмі промоторної зони *rs2740574* (*CYP3A4*1B*, $-392A>G$, поліморфізм зустрічається у 5,4% мешканців Європи і у 35% мешканців інших частин світу). Наявність мутації в цьому локусі призводить до зміни активності

ферменту і відповідно активності деяких лікарських препаратів. Поліморфізм інтрону 10 *CYP3A4*1G* (*rs2242480*) асоціювався зі зниженням ефективності аторвастатину, зміною дії такролімусу і метадону тощо [Danxin Wang, 2012]. Водночас мало дослідженим залишається вплив поліморфізму гену *CYP3A4* на перебіг та ефективність протитуберкульозної терапії.

У зв'язку з цим, важливою задачею медицини, фтизіатрії, клінічної фармакології постає вивчення особливостей впливу варіативності гену *CYP3A4* людини на ефективність та безпечність протитуберкульозної терапії. Даній проблемі і присвячена ця робота.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом комплексних науково-дослідних робіт, які виконувались кафедрою фармакології та фармакогнозії (попередньо - загальної та клінічної фармакології), кафедрою загальної фармації з курсом клінічної фармакології Одеського національного медичного університету (ОНМедУ), за темами «Комплексне фармакологічне вивчення нових біологічно активних сполук природного та синтетичного походження» (№ держреєстрації 0115U006648) і «Персоніфікація лікування і розробка нових біологічно активних речовин у оптимізації фармакотерапії низки соціально значущих захворювань» (№ держреєстрації 0121U107508). Дисертант є співвиконавцем зазначених тем.

Мета і задачі дослідження. Метою роботи є вивчення особливостей впливу варіативності гену *CYP3A4* людини на ефективність та безпечність протитуберкульозної терапії.

Для досягнення зазначеної мети розв'язувалися такі задачі:

1. Визначити відмінності поширеності носіїв генотипів *CYP3A4* серед здорових людей і хворих на туберкульоз в Одеському регіоні.
2. З'ясувати вплив особливостей генотипу *CYP3A4* на фармакокінетику ізоніазиду і рифампіцину.
3. Дослідити вплив поліморфізму *CYP3A4*1B* на ефективність і токсичність протитуберкульозної терапії у хворих на вперше діагностований

туберкульоз легень.

4. Вивчити вплив поліморфізму *CYP3A4*1G* людини на перебіг та безпечність хіміотерапії у хворих на вперше діагностований туберкульоз легень.

5. Дослідити клініко-фармакологічне значення поєднання поліморфізму локусів *CYP3A4*1B* і *CYP3A4*1G* для ефективності та безпечності хіміотерапії у хворих на вперше діагностований туберкульоз легень.

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

Предмет дослідження – встановлення клініко-фармакологічного значення особливостей цитохрому-P4503A4 у хворих на вперше діагностований туберкульоз легень для ефективності і безпечності фармакотерапії.

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

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше за допомогою полімеразної ланцюгової реакції і ендонуклеазного аналізу встановлено поліморфізм гену *CYP3A4*, зокрема локусів *CYP3A4*1B* і *CYP3A4*1G* серед хворих на вперше діагностований туберкульоз легень і здорових контрольної групи в Одеському регіоні. Виявлено, що відповідно до поліморфізму локусу *CYP3A4*1G* серед хворих на туберкульоз легень частіше зустрічались носії генотипу **1/*1*, ніж серед здорових добровольців. Встановлено, що хворі з генотипом **AG* локусу *CYP3A4*1B* частіше мали субтерапевтичну концентрацію рифампіцину в крові, ніж носії генотипу **AA*. При завершенні інтенсивної фази лікування у носіїв генотипу **AG* частіше залишалось бактеріовиділення і обсіменіння легеневої тканини, ніж при генотипі **AA*. Вперше показано, що у хворих з мутантним алелем **1G* локусу *CYP3A4*1G* спостерігається значно більше зростання активності маркерів цитолізу АлТ і АсТ, а також вмісту білірубину в крові у порівнянні з носіями генотипу **1/*1*.

Практична значення отриманих результатів. Наведені дані обґрунтовують доцільність дослідження генетичних особливостей процесів біотрансформації ксенобіотиків - *CYP3A4*1B* і *CYP3A4*1G* у хворих на туберкульоз легень, як важливих прогностичних маркерів ефективності лікування, а також ймовірності ураження гепатобіліарної системи. Це дозволить персоніфікувати хіміотерапію туберкульозу легень у кожного окремого хворого, що має поліпшити результати його лікування.

Результати роботи впроваджено в навчальний процес кафедри фармакології і кафедри клінічної фармації та клінічної фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова, кафедри фармакології Дніпровського державного медичного університету, в лікувально-діагностичну роботу КНП «Одеський обласний центр соціально значущих хвороб ООР».

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

Апробація результатів дисертації. Основні положення і результати дисертаційної роботи були апробовані на науково-практичних конференціях:

- XXXIII Всеукраїнська наук.-практ. конф. з міжнар. участю «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (м. Харків, 2016) (публікація);

- Міжнар. наук. конф. студентів та молодих вчених (м. Одеса, 2016; 2017; 2018) (доповідь та публікація);

- V національний з'їзд фармакологів України «Фармакологія та раціональна фармакотерапія» (м. Запоріжжя, 2017) (доповідь та публікація);

- 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology «Pharmacology for the future. Science, drug development and therapeutics» (Kyoto, Japan, 2018) (публікація);

- I наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція» (м. Харків, 2018) (публікація);

- International scientific conference «Medicine under the modern conditions of integration development of European countries» (Lublin, Poland, 2019) (публікація);

- П'ята наук.-практ. конф. з міжн. участю, присвячена пам'яті проф. Вікторова О.П. «Безпека та нормативно-правовий супровід лікарських засобів: від розробки до медичного застосування» (м. Київ, 2019) (доповідь та публікація);

- IV Міжнародна наук.-практ. конф. «Ліки – людині» «Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (м. Харків, 2020) (публікація);

- Міжнар. дистанційна наук.-практ. конф. «Modern approach of experimental and preclinical pharmacology» (м. Харків, 2021);

- 52nd World Conference on Lung Health of the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease (The Union) (virtual event, 2021) (доповідь та публікація);

- International webinar «Pharmaceutical and clinical research» (virtual event, 2022) (публікація).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 19 наукових робіт, з яких 5 статей в наукових журналах, рекомендованих МОН України (з них 5 у наукометричних журналах), 1 стаття - в іноземних виданнях, які включені до міжнародних наукометричних баз, 13 тез доповідей на конференціях, з'їздах та конгресах.

Структура та обсяг дисертації. Матеріали дисертаційної роботи викладено на 167 сторінках комп'ютерного тексту (130 сторінках основного тексту): анотації, вступу, 6 розділів, висновків, списку використаних джерел. Дисертаційна робота ілюстрована 34 таблицями і 38 рисунками. Бібліографічний покажчик включає 121 джерело, з них 42 – кирилицею та 79 - латиницею.

РОЗДІЛ 1
КЛІНІКО-ФАРМАКОЛОГІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ГЕНЕТИЧНОГО
ПОЛІМОРФІЗМУ ДЛЯ ПРОТИТУБЕРКУЛЬОЗНОЇ ТЕРАПІЇ
(ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1. Сучасні проблеми туберкульозу

Туберкульоз (ТБ) – це інфекційне захворювання, яке до сьогодні залишається однією з головних причин смерті у світі. З 1995 р. в Україні зареєстрована епідемія туберкульозу. Вона, як і в інших країнах, набула рис триєдиної епідемії, що включала епідемію типового туберкульозу, епідемію мультирезистентного туберкульозу (одночасна резистентність до ізоніазиду та рифампіцину, 7-15% від загального числа хворих на ТБ) і епідемію ко-інфекції туберкульозу / ВІЛ (5–10%) [1]. Завдяки запровадженню стандартів контрольованого лікування і процедур централізованої закупки протитуберкульозних засобів починаючи з 2005 р. відбулось поступове зниження захворюваності та смертності в наслідок від туберкульозу, наприклад в період 2005-2011 рр. захворюваність на всі форми туберкульозу знизилася з 84,1 на 100 тис. населення до 67,2 на 100 тис. населення, або на 20,1 %; смертність від усіх форм туберкульозу зменшилася з 25,3 на 100 тис. населення до 16,6 на 100 тис. населення. Для порівняння: захворюваність на туберкульоз на початку епідемії в 1995 р. становила 41,6 випадки на 100 тис. населення; смертність – 15,0 на 100 тис. населення [1]. Водночас протягом 2010-2015 рр. спостерігались і негативні тенденції: зменшення частки хворих, які завершили лікування і одужали; збільшилась кількість померлих, випадків невдалого і перерваного лікування, особливого серед мультирезистентних (МРТБ) / широкорезистентних випадків [2].

Протягом 2012–2016 років в Україні в результаті виконання Загальнодержавної програми протидії захворюванню на ТБ вдалось зменшити захворюваність на ТБ до 54,7 на 100 тис. населення, смертність –

на 16,0% (до 9,5 на 100 тис. населення). Водночас зросла поширеність ко-інфекції ТБ/ВІЛ до 13,2 на 100 тис. населення, залишалась низька ефективність лікування хворих (не досягає індикатора ВООЗ - 85,0% одужання серед хворих, у яких вперше діагностовано ТБ), зросли показники перерваного та невдалого лікування, зросла частота первинної хіміорезистентності (від 7,0 до 20,0 % хворих), вторинної резистентності - до 60,0–75,0% [2,3].

Стратегія ВООЗ «Покласти кінець туберкульозу» («End TB Strategy») була затверджена на сесії Всесвітньої асамблеї охорони здоров'я в 2014 р. Вона складалась з трьох напрямків: інтегрований пацієнт-центричний підхід до лікування та попередження ТБ; системи сміливої стратегії і підтримки боротьби з ТБ; інтенсифікації досліджень та інновацій. Метою цієї програми є різке зменшення смертності і захворюваності на туберкульоз - зупинити епідемію ТБ, а саме до 2035 року досягти рівня захворюваності менше 10 на 100 тис. населення, а до 2050 року — досягти нульового рівня смертності від ТБ та нульового рівня захворюваності [2,4]. Завдяки заходам щодо поліпшення діагностики і лікування загалом у світі в період 2015-2020 рр. захворюваність на туберкульоз знизилась на 11%, смертність – на 9% [5]. Загальна кількість смертей від туберкульозу у світі у 2020 році становила 1,3 мільйона осіб, що майже вдвічі перевищувала смертність від ВІЛ/СНІДу; також на смертність від туберкульозу у великій мірі вплинула пандемія COVID-19 [5].

Згідно доповіді ВООЗ у 2021 р. Україна належить до країн зі значним поширенням мультирезистентних штамів *M.tuberculosis* [5]. В 2021 р. кількість уперше зареєстрованих захворювань на ТБ, включно з його рецидивами, становила в Україні 44,0 випадки на 100 тис. населення (в 2020 р. – 42,4); захворюваність на ТБ серед дітей від 0 до 14 років становила 7,4 випадки на 100 000 дитячого населення (в 2020 р. – 5,9). На жаль, за рівнем уперше зареєстрованих захворювань на ТБ Одеська область займає сумне перше місце з показником 105,9 на 100 тис населення, що майже вдвічі

перевищує загальнонаціональний показник [6]. Смертність від туберкульозу в 2021 році становила 7,5 випадків на 100 тис населення (в 2020 році – 7,4). У зв'язку з COVID-19 оціночна захворюваність на туберкульоз за розрахунками ВООЗ, по країні знизилася на 5,2% порівняно з 2019 роком (73 на 100 000 населення проти 77 на 100 000 населення), а за розрахунками ВООЗ оцінена смертність від туберкульозу на 13% порівняно з 2019 роком (6430 проти 5700 випадків), через обмежений доступ до медичної допомоги, водночас виявлення та діагностика туберкульозу знижується [7].

Захворюваність медичних працівників (МП) на туберкульоз залишається актуальною проблемою для України. На прикладі Вінницької області можна відзначити, що найвищий показник захворюваності на ТБ медичних працівників спостерігався в 2011 р. (62,7 на 100 тис. населення) з поступовим зниженням – 48,7 в 2015 р. Також встановлено, що захворюваність на легеневий ТБ серед МП Вінницької області була нижчою, ніж серед населення (42,8 проти 51,7 на 100 тис. осіб відповідно, $p < 0,01$). Захворюваність лікарів Вінницької області в 2015 р. склала 4,2 на 10 тис. лікарів, у середнього медичного персоналу цей показник є вищим - 4,9 на 10 тис. медичних сестер, а у молодшого медичного персоналу майже таким, як у медичних сестер — 5,1 на 10 тис. молодшого медичного персоналу. При цьому у МП рідше зустрічається деструктивний ТБ, ніж в популяції (15,8 проти 24,7 на 100 тис. осіб відповідно, $p < 0,01$), бактеріовиділення (20,7 проти 32,3 відповідно), мультирезистентний ТБ (4,1 проти 16,7 відповідно, $p < 0,01$) [8]. Таким чином, ТБ у МП залишається поширеним і вимагає розробки коректного алгоритму діагностичних та профілактичних заходів.

Серед дітей з вперше діагностованим туберкульозом легень (ВДТБ) переважають хворі з інфільтративним туберкульозом (57,0%); решта – 15,7% і 13,2% - у хворих з вогнищевим та дисемінованим туберкульозом легень; при цьому у більшості обстежених дітей із ВДТБ легень – у 56,2% - мали місце деструктивні зміни легеневої тканини, що свідчить про несвоєчасне виявлення захворювання на 1 рівні надання медичної допомоги [9]. У

більшості дітей — у 69,2%, що свідчить про складність виявлення мікобактерій у дітей через фізіологічні особливості дитячого віку та патогенезу туберкульозу в дитячому віці і, відповідно, про важливість молекулярно-генетичних методів дослідження [9]. Важливо, що серед дітей із ВДТБ органів легень, які виділяють МБТ, у понад 50,0 % має місце медикаментозна стійкість до протитуберкульозних препаратів [9].

Останнім часом, викликають занепокоєння темпи росту коморбідності туберкульозу і цукрового діабету (ТБ/ЦД): від 16 до 46 % пацієнтів з туберкульозом різної локалізації мають супутні ознаки цукрового діабету [10]. Установлено, що ЦД послаблює імунну систему і потроєє ризик людини захворіти на ТБ. Доведено, що лікування протитуберкульозними препаратами (ПТП) впливає на лікування діабету, останній, в свою чергу, може змінювати фармакокінетику антимікобактеріальних препаратів, наприклад пацієнти з поєднаною патологією ТБ/ЦД мали концентрацію рифампіцину в сироватці крові на 53 % меншу, ніж у хворих на ТБ з нормоглікемією. Застосування рифампіцину може викликати гіперглікемію у великій мірі завдяки властивості рифампіцину індукувати ферменти системи цитохрому Р450, що може призвести до прискореного метаболізму ліків в печінці, в тому числі пероральних цукрознижуючих засобів [10].

Встановлено високий рівень циркуляції мультирезистентних штамів *M. tuberculosis* серед хворих з новими випадками ТБ (24,1%) і значну кількість мультирезистентних штамів у хворих, які раніше лікувались, (58,1%). Виявлено високий рівень резистентності до протитуберкульозних препаратів 1-го ряду, в першу чергу ізоніазиду (37,3%) і рифампіцину (25,1%), а також значну кількість штамів *M. tuberculosis* з розширеною резистентністю (11,2%) і пре-розширеною резистентністю (52,8%) [11]. Серед хворих з хіміорезистентним туберкульозом 40% становлять хворі з переважанням дисемінованої клінічної форми і деструктивною формою. Закономірно, що частота побічних реакцій зростає при важких формах хіміорезистентного туберкульозу і в середньому становить 38 % від усіх аналізованих випадків.

Враховуючи складність лікування хворих з тяжкими та розповсюдженими формами туберкульозу, несприятливий прогноз навіть за наявності повноцінної стандартної терапії, необхідні додаткові заходи для підвищення ефективності ведення таких хворих, зокрема запровадження індивідуальних підходів до їх лікування з метою інтенсифікації терапії [12].

Пацієнти із полі- та мультирезистентністю, яким несвоєчасно проведена корекція лікування, мають більш тривалий термін загоєння порожнин розпаду, що в подальшому призводить до формування великих залишкових змін у хворих на туберкульоз легень та підвищує ризик виникнення рецидиву захворювання майже у 1,4 рази [13].

У 9,5 % хворих на ХРТБ легень після першого місяця інтенсивної фази лікування виявлено зміни штамів МБТ, причому достовірно частіше виникає зміна менш вірулентних штамів МБТ на більш вірулентні (поява штамів родини Beijing і LAM). Було встановлено, що в період змін штамів МБТ у хворих спостерігалось зростання інтоксикаційного синдрому та змінювалась чутливість МБТ до протитуберкульозних препаратів [14].

Захворюваність на рецидивуючий ТБ широко коливається від 4,9 % до 47,0 % залежно від рівня захворюваності на ТБ та прийнятих дефініцій, які використовуються в національних програмах [4].

Складною проблемою фтизіатрії залишається лікування хворих на туберкульоз із розширеною резистентністю та тривалим анамнезом застосування протитуберкульозних препаратів. Це пов'язано з обмеженістю можливості формування режиму лікування із включенням 4-х ефективних протитуберкульозних препаратів [15], що в свою чергу обумовлює необхідність пошуку нових протитуберкульозних засобів, нових індивідуальних підходів до призначення режимів протитуберкульозної терапії, а також застосування засобів симптоматичної терапії різного спрямування для підвищення результативності лікування [16].

Одним з шляхів оптимізації лікування є скорочення тривалості лікування, що відповідає бажанню хворих на ТБ [17]. Застосування 12-

місячного режиму для пацієнтів з мультирезистентним ТБ покращило успішність лікування відносно режиму стандартної тривалості (20 міс.) - 95,4% проти 62,8% і попереджало розвиток рецидиву протягом принаймні одного року спостереження після закінчення лікування [18].

На сьогоднішній день для боротьби з туберкульозом впроваджено нові антибактеріальні препарати такі, як бедаквілін, деламанід, претоманід, які характеризуються новим механізмом дії, що обумовлює їх високу бактерицидну дію [19-22]. Бедаквілін був першим протитуберкульозним препаратом нового класу, що було зареєстровано в США в 2012 р. – останнім зареєстрованим протитуберкульозним препаратом був рифампіцин (1971 р.) [23]. На відміну від фторхінолонів, бедаквілін має відносно вузький спектр антимікробної дії. Важливо, що бедаквілін є субстратом ферменту CYP3A4 і тому одночасне застосування рифампіцину та його похідних, які є потужними індукторами ферментів родини CYP3A4, може змінювати концентрацію в крові та ефективність застосування бедаквіліну.

Продовжується пошук нових препаратів для лікування туберкульозу, зокрема доведено, що застосування імуномодулятора – похідного мурамілпептидину в комплексній терапії хворих з вперше діагностованим мультирезистентним туберкульозом легень збільшує ефективність лікування і дає можливість скоротити фазу інтенсивної терапії в середньому на 1,9 міс [24]. Серед 10 синтезованих похідних ізоніазиду було встановлено найбільшу активність по відношенню ізоніазид-резистентних штамів проявив 1-метил-1Н-пірол-2-метилен-гідразид ізонікотинової кислоти з мінімальною концентрацією, що пригнічує, 0.14 μM [25]. Пропонується нова класифікація препаратів для лікування туберкульозу з множинною лікарською стійкістю: група А — Фторхінолони (левофлоксацин, моксифлоксацин, гатифлоксацин); група В — Ін'єкційні препарати 2 ряду (амікацин, капреоміцин, канаміцин); група С - інші ключові протитуберкульозні препарати 2 ряду (етіонамід / протіонамід, циклосерин / терізідон, лінезолід, клофазімін; група D - допоміжні препарати (не входять в коло основних компонентів режиму

лікування туберкульозу з множинною лікарською стійкістю): D1 (піразинамід, етамбутол, ізоніазид у високих дозах); D2 (бедаквілін, деламанід); D3 (парааміносалицилова кислота, іміпенем + циластатин, меропенем + амоксицилін + клавуланат + тіоацетазон). Пацієнтам з ТБ з розширеною резистентністю рекомендується режим, що містить не менше 5 ефективних препаратів під час інтенсивної фази, в тому числі піразинамід і чотири ключових ПТП 2-го ряду — один з групи А, один з групи В і не менше двох з групи С [26].

На думку практичних лікарів-фтизіатрів серед причин невдалого лікування, перерваного лікування і летального завершення лікування є пізнє виявлення ТБ [27]. Після ранньої діагностики – протягом першої доби – хіміорезистентності мікобактерій молекулярно генетичним методом та відповідної ранньої корекції хіміотерапії, контрольне обстеження хворих після завершення курсу терапії показало більш раннє припинення бактеріовиділення та закриття порожнин деструкції [28].

На сьогодні, визначення медикаментозної чутливості штамів збудника молекулярно-генетичними методами є початковим етапом обстеження хворого, оскільки дозволяє з високою надійністю визначати резистентність до найбільш ефективних протитуберкульозних препаратів і вже на початку лікування розділити хворих на туберкульоз на категорії захворювання. До молекулярно-генетичних тест-систем у діагностиці туберкульозу належать [29,30]:

- гібридизаційні технології з використанням ДНК-стріпів, зокрема GenoType MTBDRplus, що дозволяє визначати медикаментозну чутливість штамів збудника туберкульозу до рифампіцину і ізоніазиду, та GenoType MTBDRsl, призначений для визначення медикаментозної чутливості до фторхінолонів, етамбутолу та аміноглікозидів;

- картриджна технологія GeneXpert (ПЛР у реальному часі) для експрес-діагностики резистентності до рифампіцину (і опосередковано – до

ізоніазиду), а також за допомогою новітнього картриджу Xpert MTB/XDR - до рифампіцину, ізоніазиду, фторхінолонів і аміноглікозидів;

- мультиплексна ПЛР – експрес-метод визначення резистентності до рифампіцину у «польових умовах»;

- секвенування – метод, що дозволяє в короткий проміжок часу (години-дні) забезпечити прочитання ділянок бактеріальних геномів різної протяжності.

Виявлення генетичних мутацій у штамів *M. tuberculosis*, що асоційовані з медикаментозною резистентністю, забезпечують доволі високу діагностичну точність прогнозування культуральної резистентності до багатьох протитуберкульозних препаратів. Виявлення мутації в гені *katG* штамів *M. tuberculosis* підтверджує свою ефективність для прогнозування культуральної ізоніазид-резистентності (95,5% співпадіння), в генах *gyrA*, *gyrB* – для прогнозування фторхінолон-резистентності (80,3%), в гені *rrs* – для прогнозування амікацин-резистентності (95,0%) [31]. Згідно рекомендацій ВООЗ молекулярно-генетичні способи визначення медикаментозної резистентності препаратів першого ряду, а при наявності мультирезистентності штамів і визначення резистентності до препаратів другого ряду - GeneXpert MTB/RIF, GenoType MTBDRplus, GenoType MTBDRsI - рекомендовано застосовувати як ключові в діагностиці всіх осіб з ймовірним туберкульозом [31]. Водночас вказані молекулярно-генетичні методи визначення потребують наявності певного вартісного обладнання і витратних матеріалів, навченого персоналу, логістики, тому триває пошук більш доступних експрес-методів діагностики.

Отже, незважаючи на певне зменшення захворюваності на туберкульоз в Україні, появи нових протитуберкульозних препаратів і молекулярно-генетичних діагностичних технік, туберкульоз все ще залишається важливою медико-соціальною проблемою для України, як і для багатьох країн світу, зокрема у зв'язку зі значним поширенням штамів *M. tuberculosis* з мультирезистентністю і розширеною резистентністю, збільшенням кількості

ВІЛ-позитивних осіб тощо. Одним з шляхів поліпшення ефективності лікування туберкульозу є персоніфікація лікування хворих, тобто корекція хіміотерапії туберкульозу з урахуванням генетичних особливостей хворого, що впливають на біотрансформацію лікарських препаратів, на імунний статус хворих тощо.

1.2. Генетичний поліморфізм, що визначає ефективність протитуберкульозних лікарських препаратів

Відомо, що під генетичним контролем, який опосередковується функцією різних білків, знаходяться фармакокінетичні та фармакодинамічні процеси. Генетичні особливості геному людини, які модулюють фармакологічну відповідь, являють собою одонуклеотидні поліморфізми в генах (SNP — single nucleotide polymorphism), що кодують білки, які, у свою чергу, беруть участь у фармакокінетичних і фармакодинамічних процесах лікарських препаратів [32]. SNPs можуть впливати на такі процеси:

- фармакокінетику - це або ферменти процесів біотрансформації (CYP-450, N-ацетилтрансфераза тощо), або транспортери лікарських сполук (P-глікопротеїн тощо);

- фармакодинаміку – це або молекули-мішені лікарських сполук (рецептори, ферменти тощо), або білки, що визначають небажані реакції (HLA - гени головного комплексу гістосумісності), або пов'язані з патогенезом захворювання (NOS, що кодує NO-синтетазу) [33].

Генетичний поліморфізм впливає на низку цитохромів (CYP) 450, таких як CYP 2D6, 2C9, 2C19, що можуть змінювати ефективність певних препаратів, наприклад кодеїну, тамоксифену, клопідогрелу, варфарину тощо, а також на активність ферментів другої фази біотрансформації – тіопурин-метилтрансферази, N-ацетилтрансферази-2 (NAT2), що можуть змінювати ефективність 5-фторурацилу, азатіоприну, ізоніазиду тощо [34]. Сьогодні в практичній медицині визначення генотипу *CYP2C9* проводиться перед

введенням антикоагулянту варфарину, генотипу *CYP2C19* – перед введенням антиагреганту клопідогрелу тощо [35,36].

Відомо, що алелі — це різні форми одного й того ж гена, розташовані в однакових ділянках (локусах) гомологічних хромосом, що визначають альтернативні варіанти розвитку однієї і тієї ж ознаки. Якщо поліморфізм (мутація) відсутні в обох алелях, то такий індивід належить до швидких метаболізаторів. Для таких пацієнтів зазвичай застосовуються стандартні режими дозування [37]. Якщо заміна стосується лише одного з двох алелів, то мова йде про помірного метаболізатора; якщо обидва алеля мають поліморфізм, то йдеться про генотип повільного метаболізатора. У таких індивідів відзначається синтез ферменту зі зниженою активністю. У свою чергу, це може призводити до такого:

1) кумуляції ЛЗ, посилення фармакологічного ефекту із розвитком симптомів передозування. Тому для повільних метаболізаторів стандартні дози ЛЗ мають бути знижені або замінені на ЛЗ, які метаболізуються іншою ферментною системою;

2) зниження ефекту спостерігається у тому випадку, якщо ЛЗ є проліками і зниження ферментної активності призводить до зменшення утворення активного метаболіту (клопідогрел, кодеїн, трамадол). У цьому разі проводять заміну ЛЗ.

Ще наприкінці 1960-х років було встановлено, що концентрація ізоніазиду в крові після введення однакової дози у великій мірі залежить від швидкості його ацетилювання в печінці, в залежності від якої хворих розділяли на «швидких», «помірних» і «повільних ацетиляторів». Для визначення фенотипу хворому вводили стандартну дозу сульфаніламідного препарату і визначали кількість ацетилюваного похідного сульфаніаміду в сечі через певний проміжок часу. На сьогодні довідник лікарських засобів України «Компендіум» інформує, що пацієнтів поділяють на «повільних» і «швидких» інактиваторів (ацетиляторів) за кількістю виділеного із сечею активного ізоніазиду відносно прийнятої дози. До першої категорії відносять

пацієнтів, у яких із сечею виділяється до 10% ізоніазиду на добу, до другої — понад 10% на добу. При цьому період напіввиведення ізоніазиду в плазмі крові при швидкому ацетилюванні складає 0,5–1,6 год., при повільному - 2–4 год [38].

На початку 2000-х років добова доза ізоніазиду становила 5-15 мг/кг ваги на добу (600-900 мг в середньому), що дозволяло ігнорувати генотип ацетилювання, оскільки така доза забезпечувала досягнення терапевтичної концентрації ізоніазиду незалежно від генотипу NAT2. Але після запровадження в 2006 р. DOTS-стратегії лікування дозу ізоніазиду скоротили до 4-6 мг/кг на добу (300-400 мг в середньому).

Ариламін-N-ацетилтрансферази (NATs) є унікальною групою ферментів, що відіграють важливу роль у детоксикації лікарських засобів (ізоніазид, сульфаніламід, тощо) і активації канцерогенів. У людини присутні два ізоферменти (NAT1 і NAT2), що кодуються поліморфними генами. Значні варіації щодо ацетилювання ліків пов'язані з поліморфізмом гена NAT2. Фермент NAT2 синтезується, головним чином, в печінці, але визначається в незначних кількостях в інших тканинах: в шкірі, легенях, нирках. Поліморфізм гена NAT2 визначає швидкий, помірний і повільний типи ацетилювання. З одного боку, генотип повільного NAT2 ацетилятора може бути важливою детермінантою розвитку та клінічного перебігу низки захворювань (цукрового діабету, раку сечового міхура тощо) [39,40]. З іншого боку, поліморфізм NAT2 має значення для швидкості інактивації і відповідно концентрації різних лікарських препаратів, включаючи ізоніазид, ко-тримоксазол, новокаїнамід тощо.

Динаміка концентрації ізоніазиду протягом доби свідчить про істотні відмінності у досягненні терапевтичної концентрації ізоніазиду згідно генотипу NAT2, що свідчить про важливість поліморфізму NAT2 для збереження терапевтичної концентрації ізоніазиду в крові під час лікування ТБ. Наприклад, у «швидких ацетиляторів» концентрація ізоніазиду зберігається вище рекомендованої мінімальної терапевтичної концентрації до

13 год після введення препарату, у «повільних ацетиляторів» – до 18 год після введення стандартної дози [34]. Ці дані підтверджують важливість визначення генотипу NAT2 у хворих на ТБ задля корекції терапевтичної дози ізоніазиду. Дослідження, проведені в Одеській області в 2011-13 роках показали, що «швидкі ацетилятори» згідно генотипу *NAT-2*5,*6* становлять 46% населення, серед хворих на туберкульоз – 38% [41]. Серед жінок хворих на ТБ легень в 2,3 разу частіше спостерігався генотип «повільного ацетилятора», ніж серед здорових добровольців тієї ж статі. Більш високий вміст ізоніазиду в крові у «повільних ацетиляторів» пояснює більшу ефективність протитуберкульозної терапії, що включає ізоніазид. Відповідно до генотипу NAT2 у носіїв генотипу ША припинення легеневої деструкції займало в 1,3 рази довший відрізок часу, ніж у «повільного ацетилятора» ((71,75±6,28) проти (54,71±2.83 днів)) [42]. На момент завершення стаціонарного лікування згідно культурального методу у осіб з генотипом «повільного ацетилятора» припинення бактеріовиділення відбувалось в 1,2 рази швидше, ніж у «швидких ацетиляторів» ((67,14±3,31) дня проти (82,67±5,94 дня)). Цей факт підтверджує більш швидке досягнення терапевтичного ефекту у хворих на легеневий ТБ з генотипом «повільного ацетилятора», ніж у хворих з генотипом «швидких ацетиляторів». Під час виписування зі фтизіатричного стаціонару маркери ураження печінки у «повільного ацетилятора» були вище, ніж у «швидких ацетиляторів» [43]. Наприклад, рівень загального білірубину був на 17,5 % вище, тимолу – на 39.8 %, активність АлТ і АсТ – на 23,2 і 26,4%, відповідно, ГГТ – на 13,7 %. Таким чином, наявність генотипу ПА асоціювався з кращим терапевтичним ефектом лікування ТБ і більшим ризиком розвитку гепатотоксичності, порівняно з ША. Для розуміння залежності токсичності ізоніазиду в залежності від генотипу/фенотипу ацетилювання необхідно звернутись до схеми біотрансформації ізоніазиду (рис. 1.1). Треба додати, що в свою чергу ізоніазид может впливати на активність ферментів *NAT2*, *CYP2C19*, *CYP2E1* [43,45,46].

Відомо, що фермент NAT2 метаболізує ізоніазид до ацетилізоніазиду. У ПА згідно генотипу *NAT2* біотрансформація ізоніазиду головним чином перетворюється в менш токсичний ацетилізоніазид і супроводжується меншим ризиком побічних ефектів ізоніазиду [44].

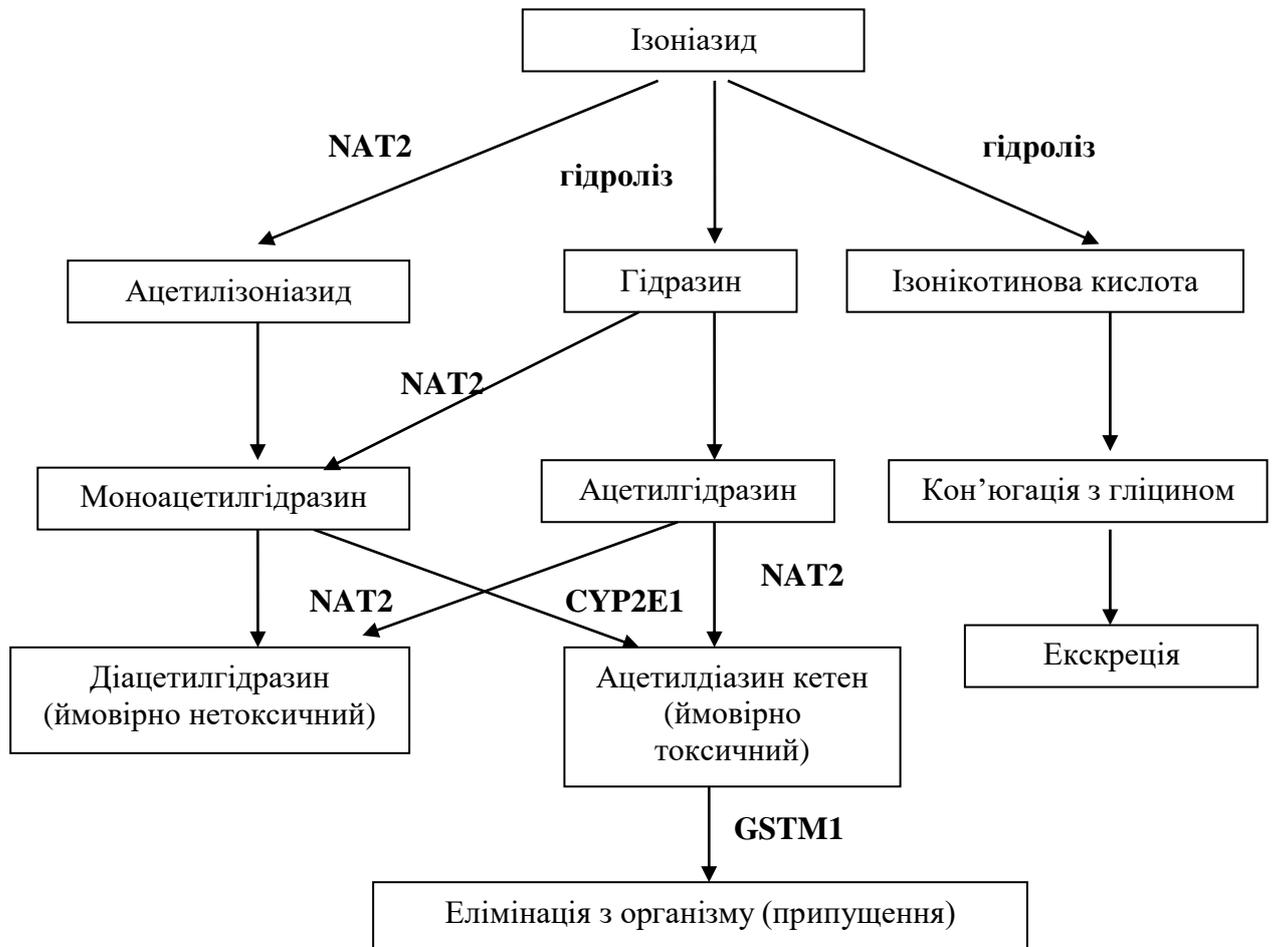


Рис. 1.1. Гіпотетичний метаболічний цикл ізоніазиду (згідно Geetha Ramachandran, Soumya Swaminathan, 2012) [44].

Ізоніазид спричиняє дисбаланс між прооксидантною і антиоксидантною системами. Одночасно препарат підвищує рівень продуктів ПОЛ разом з гепатотоксичністю, викликану ізоніазидом, і зменшує активність антиоксидантної системи [47]. Встановлено, що головні побічні ефекти ізоніазиду пов'язані з утворенням токсичних метаболітів – ацетилгідразину [48], гідразину і гідразонів [49]. Тому логічним є те, що у носіїв генотипу ША ізоніазид трансформується головним чином в

ацетилізоніазиду, що є менш токсичним ніж гідразин. Крім того, наявність мутованих алелей (ПА) у хворих на ТБ пов'язане з високим ризиком мікроальбумінурії – порушення екскреторної функції нирок [50].

Глутатіон-S-трансферази (GST) є групою ферментів, що приймають участь в детоксикації низки лікарських препаратів, включаючи і протитуберкульозні [44]. Глутатіон-S-трансферази забезпечує кон'югацію глутатіону з субстратом. Це сприяє виведенню ксенобіотику з організму. Загалом ферменти GST кодуються щонайменше п'ятьма різними ділянками ДНК, з числа яких *GSTM1* і *GSTT1* по'язані з гепатотоксичністю. Дослідження, проведені в Одеській області в 2014 році показали, що «швидкі метаболізатори» згідно генотипу *GSTM1* і *GSTT1* становлять 50% і 81% населення відповідно [51]. Ферменти GST відіграють важливу роль у метаболізмі ізоніазиду. Глутатіон зв'язує вільні радикали внутрішньоклітинно шляхом кон'югації з токсичними метаболітами ізоніазиду. Зниження активності GST за умов генотипу *del GSTM1*, *del GSTT1* («повільні метаболізатори») може збільшувати ризик ураження печінки, в тому числі розвитку хронічного гепатиту С [51]. Встановлено негативний вплив генотипу *del GSTM1*, *del GSTT1* («повільні метаболізатори») у хворих на туберкульоз на процеси детоксикації і накопичення метаболітів в організмі, що спричиняє розвиток токсичних і алергічних реакцій. У хворих на легеневий туберкульоз генотипи *del GSTM1*, *del GSTT1* («повільні метаболізатори») асоціюються з розладами екскреторної функції нирок під впливом протитуберкульозних препаратів. У 100% хворих з делецією гена *GSTT1* порушення екскреторної функції нирок фіксується на догоспітальному етапі лікування [51].

В біотрансформації багатьох протитуберкульозних препаратів в печінці ймовірно приймають участь ферменти першої фази біотрансформації цитохром Р-450 (CYP-450). Згідно до генотипу *CYP2C9* у «повільних метаболізаторів» наприкінці стаціонарного лікування відзначались процеси резорбції ТБ-інфільтратів і відсутність деструкції легеневої тканини [52]. Для

порівняння, розсмоктування ТБ-інфільтратів легень спостерігалось у 82,8% "швидких", 91,0 % "помірних" і 100 % "повільних метаболізаторів". Як на початку, так і наприкінці стаціонарного лікування активність гамма-глутамілтрансферази (ГГТ) в плазмі крові, яка зазвичай збільшується під час гепатиту, була вище на 38,8 і 53,8 % відповідно ($P < 0.05$), що може пояснити більш високим рівнем ізоніазиду і рифампіцину у цієї групи.

Цитохром P-4502E1 (ген *CYP2E1*) приймає участь в ушкодженні клітин шляхом утворення реактивних продуктів окиснення і бере участь у метаболізмі ацетону, бензолу, бензопірену, тетрахлористого вуглецю та інших сполук [53]. В результаті утворюються перекис водню і вільнорадикальні пероксид і гідроксил, що викликає пошкодження органів і, перш за все, печінки. Зміна кількості або активності ферменту призводить до зміни ризику пошкодження організму. Фермент бере участь також у виведенні з організму N-нітрозамінів тютюнового диму – канцерогенів, які також викликають рак грудей [53].

Ізоніазид і його метаболіти можуть збільшувати активність *CYP2E1* у «швидких метаболізаторів». З іншого боку, у хворих з генотипом «помірних» і «повільних» метаболізаторів ізоніазид може пригнічувати активність *CYP2E1*. Згідно рис. 1.1 *CYP2E1* приймає участь в утворенні токсичного метаболіту ізоніазиду, а також ймовірно інших гепатотоксинів [44]. Тому наявність генотипу *CYP2E1*DD* («швидкі метаболізатори») асоціюється у хворих на туберкульоз з більш високим ризиком розвитком гепатотоксичності, ніж при наявності варіантних генотипів - **CD* («помірних метаболізаторів»), **CC* («повільних метаболізаторів»). Дослідження, проведені в Одеській області в 2014 році показали, що «швидкі метаболізатори» згідно генотипу *CYP2E1* становлять 82% населення, серед хворих на туберкульоз – 89% [54].

Мета-аналіз доводить асоціацію між поліморфізмом *CYP2E1 RsaI/PstI* і ризиком виникнення гепатотоксичності, особливо серед хворих, які отримували чотири (INH + RIF + PZA + EMB) або три (INH + RIF + PZA)

протитуберкульозні препарати [55]. Поєднання генотипу «помірного ацетилятора» *NAT2* і генотипу *CYP2E1 c1/c1* супроводжується зменшеним ризиком ураження печінки під час застосування протитуберкульозних препаратів ($p = 0.049$). Тому визначення генотипу *NAT2* і *CYP2E1* у хворих на туберкульоз дозволяє мінімізувати ризик токсичності протитуберкульозної терапії [56].

Пацієнти з варіантним генотипом *CYP2E1* або генотипом *GSTT1Null* під час протитуберкульозної терапії мають вищий ризик розвитку гепатотоксичності ($p = 0.09$; OR: 4.57; 95% CI: 0.75–27.6) [57].

Проведений аналіз 54 досліджень, присвячений впливу генотипу *CYP2E1*, *NAT2*, *GST* і *SLCO1B1*. Ризик ураження печінки під час лікування туберкульозу значно зростає при наявності генотипу *CYP2E1 RsaI/PstI c1/c1* (OR=1.39, 95% CI 1.06...1.83), *NAT2* «повільні ацетилятори» (OR=3.30, 95% CI 2.65...4.11) і *GSTM1 null* (OR=1.30, 95% CI 1.12...1.52). Уважний моніторинг ТБ-хворих з вказаним генотипом може попередити ризик розвитку гепатотоксичності. Водночас відсутні були дані щодо впливу генетичних поліморфізмів *CYP2E1 DraI*, *GSTT1*, *GSTM1/GSTT1*, *SLCO1B1 388A>G* і *SLCO1B1 521T>C* [58].

Наявність поліморфізму *rs4986893* в гені *CYP2C19*; поліморфізму *rs2070676* і *rs2515641* в гені *CYP2E1* асоціювалось з розвитком побічних ефектів під час терапії латентної туберкульозної інфекції (ЗНІ) [59].

Носії гетерозиготного і гомозиготного генотипу *CYP3A5*3* супроводжувалось уповільненням кліренсу бедаквіліну на 15% і 30% відповідно [60]. Ізоніазид, який є потужним інгібітором *CYP2C19* і *CYP3A4*, може впливати на рівень препаратів, що є субстратами *CYP2C19* і *CYP3A4*. Тому генотип ацетилятора *NAT2* у хворих на туберкульоз під час застосування ізоніазиду також може впливати на ефективність препаратів, які метаболізуються *CYP2C19* і *CYP3A4* (похідних кумарину, антиагреганту клопидогрелу тощо) [56]. На прикладі культури гепатоцитів людини було доведено здатність рифаміцину індукувати цитохром Р450 (*CYP*)

2C8/3A4/3A5, SULT2A і UGT1A4/1A5, що в свою чергу може впливати на концентрацію в плазмі та ефекти багатьох препаратів. Транскрипційні мережі і регуляторний аналіз довів участь *FOXA3*, *HNF4a*, *NR1I2*, *NR1I3*, *NR3C1* і *RXRα* як транскрипційних факторів рифаміцинової індукції ферментів печінки [61].

Наявність мутації в гені *CYP1A2* (2159) на тлі комбінованої терапії етамбутолом і рифампіном супроводжується зменшенням біодоступності етамбутолу на 50%, що обґрунтовує доцільність відповідного збільшення дози етамбутолу [62].

Наявність мутантної алелі rs3898649 гену CYP-450 оксиредуктази (POR) є фактором розвитку гепатотоксичності під час протитуберкульозної терапії, особливо у осіб молодших від 50 років і жіночої статі. Отримані дані свідчать про важливість CYP-450 оксиредуктази для розвитку гепатотоксичності протитуберкульозної терапії і доцільність визначення генотипу CYP-450 оксиредуктази як предиктора гепатотоксичності [63].

Відомо, що продукти перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) мають гепатотоксичну дію. Фермент магнію супероксид дисмутаза знижує в мітохондріях рівень продуктів ПОЛ. Поява мутаної алелі С гена магнію супероксид дисмутаза (SOD) відрізняються вищим ризиком гепатотоксичності застосування протитуберкульозних засобів [64]. Ймовірно це пов'язано з появою амінокислоти валіну, який збільшує утворення токсичного перекисного водню, що в свою чергу призводить до гепатотоксичності.

Рифампіцин, який є важливим протитуберкульозним препаратом першого ряду, є субстратом пептидів, що транспортують органічний аніон (organic anion transporter peptides, OATP) та Р-глікопротеїну. Транспортні пептиди органічного аніону відіграють важливу роль у транспорті та розміщенні лікарських речовин в організмі людини. Відомо, що генотип пептидів, що транспортують органічний аніон, *SLCO1B1 463CA* характеризується нижчим вмістом рифампіцину в крові, ніж при генотипі

SLCO1B1 463CC. Пацієнти з генотипом помірної і повільної активності *SLCO1B1 rs4149032* відрізняються зниженою біодоступністю рифампіцину на 20% і 28% відносно індивідів з генотипом високої активності [65]. Тому за наявності генотипу помірної і повільної активності *SLCO1B1* необхідно збільшити дозу рифампіцину.

Відомо, що 25-деацетилрифампіцин є найбільш визнаним метаболітом найбільш ефективного протитуберкульозного антибіотика рифампіцину. Водночас малознаними залишаються ферментні системи, що відповідають за біотрансформацію рифампіцину. Згідно даних літератури фермент цитохром (CYP) 3A4/5 приймає участь у метаболізмі понад третини лікарських препаратів [37]. Активність ферменту у значній мірі визначається поліморфізмом відповідних генів *CYP3A4*. Розроблено засноване на секвенуванні наступного покоління всього гену *CYP3A4*. Завдяки запропонованому методу секвенування у хворих на туберкульоз вдалось ідентифікувати всі відомі на сьогодні генетичні варіації, а також новітні та рідкі поліморфізми гену *CYP3A4* [66].

Важливо, що лише фермент CYP3A4 забезпечує в печінці метаболізм понад 50% всіх лікарських препаратів. Зокрема, верапамілу, галантаміну, діазепаму, доксорубіцину, лідокаїну, ловастатину, лопераміду, лоратидину, преднізолону, ритонавіру, фентанілу та багатьох інших, в тому числі ймовірно і рифабутин [37]. Група з чотирьох генів *CYP3A*, що містяться на хромосомі 7q21, включають *CYP3A43*, *CYP3A4*, *CYP3A7* і *CYP3A5* [67]. CYP3A4 є найбільш поширеною ізоформою в печінці і кишечнику, наступною за поширеністю є CYP3A5. CYP3A7 у великій мірі представлений в печінці плода, де він відпадає за 50% всього цитохрому P-450, водночас експресія CYP3A7 швидко знижується після народження і перестає виявлятися у печінці більшості дорослих. CYP3A43 представлений в печінці дорослого у невеликій кількості, що відповідає 0,1%–0,2% транскриптів CYP3A4. CYP3A4 і CYP3A5 мають дуже подібні субстрати. Попередні дослідження фокусуються на поліморфізмі промоторної зони *rs2740574*

(*CYP3A4* *1B, -392A>G, поліморфізм зустрічається у 5,4% мешканців Європи і у 35% мешканців інших частин світу). Наявність мутації в цьому локусі призводить до зменшення активності ферменту і зміни активності деяких лікарських препаратів. Поліморфізм інтрону 10 *CYP3A4**1G (*rs2242480*) асоціювався зі зниженням ефективності аторвастатину, зміною дії такролімусу і метадону тощо [67].

Носії генотипу *AA гену *CYP3A4* мали найбільш виразний анальгетичний ефект при трансдермальному застосуванні бупренорфину. Поєднання вказаного генотипу з наявністю генів *UGT2B7* або *OPRM1* також посилювало знеболюючий ефект [68]. Дослідження в Китаї виявило, що варіантний алель *CYP3A4**1G зустрічається у 18,8% хворих, які досліджувались. Швидкість метаболізму фентанілу у осіб з варіантним генотипом *1G/*1G була значно нижча, ніж у носіїв генотипу, що не мав мутованих алелів - *1/*1 або у осіб з гетерозиготним генотипом (0.85 проти 1.89 і 1.82 відповідно; $p < 0.05$). Генетичний поліморфізм *CYP3A4* супроводжувався відмінностями рівня мРНК. Отже, генетичний поліморфізм *CYP3A4* супроводжується уповільненням біотрансформації фентанілу, що супроводжувалось зниженням відповідної мРНК [68,69]. Мета-аналіз виявив, що особи, які були носіями алелю *1G потребували меншу дозу фентанілу протягом першої післяопераційної доби, ніж особи з «диким» генотипом *1/*1 ($P < 0.00001$) [63,70].

Наявність варіантних алелів *CYP3A4* може впливати на метаболізм метадону, причому скоріше мова йде про результат дії комбінації SNPs, а не єдиного поліморфізму *CYP3A4*. Наявність поліморфізмів *rs2242480* і *rs2740574* може відігравати ключову роль у збільшенні ризику загибелі при застосуванні метадону [68]. Поліморфізм *CYP3A4**22 впливає на рівень та дію транквілізатору мідазоламу та імуносупресанту такролімусу [71].

Носії генотипу *CYP3A5**3 GG і *POR**28 CT/TT мали нижчу концентрацію ніфедипіну, ніж особи з генотипом *POR**28 CC ($p = 0.046$ і $p = 0.002$, відповідно). Крім того, група осіб з генотипом *POR**28 CT/TT мали

більший показник $T_{1/2}$ і нижчий рівень C_{max} , ніж носії генотипу *CYP3A4*1G* ($p = 0.032$ і $p = 0.002$, відповідно) так само як носії генотипу *CYP3A4*1G GG* і *CYP3A5*3 GG* ($p = 0.038$ і $p = 0.036$, відповідно) у порівнянні з *POR*28 CC* групою. Таким чином, поліморфізм *CYP3A5*3* впливає на особливості вмісту ніфедипіну в крові; генотип *POR*28* впливає на активність *CYP3A4* [72].

Відомий імуносупресант такролімус, що є одночасно субстратом *CYP3A4* і *CYP3A5* відрізняється низьким терапевтичним індексом і значними індивідуальними особливостями біодоступності. При відсутності експресії *CYP3A5*, наявність алелю *CYP3A4*22T* супроводжувалась зниженням кліренсу мідазоламу на 31,7-33,6%, у порівнянні з «диким» генотипом, що потребувало зниження дози такролімусу на 50% [73].

Генетичний поліморфізм людини впливає також на імунітет хворих на туберкульоз. Одними з таких імунологічних факторів є протизапальні цитокіни, які відіграють важливу роль у боротьбі з МБТ. Так, наявність мутантних алелів *IL-4* та *IL-10*, що впливають на рівень продукції протизапальних цитокінів, є істотним чинником схильності до розвитку ТБ легень і до подальшої хронізації процесу. Активація гетерозиготних генотипів поліморфізмів генів *IL-4* та *IL-10* може сприяти розвитку мультирезистентного ТБ [74].

Отримані дані засвідчили вплив генетичного поліморфізму генів ферментів біотрансформації для дії багатьох лікарських препаратів, в тому числі протитуберкульозних препаратів. Доведено вплив поліморфізму *NAT2*, *CYP2E1* для вмісту ізоніазиду в крові, а також для ефективності протитуберкульозної терапії і ймовірного токсичного ураження печінки. лікування. Понад 40% лікарських препаратів, що є субстратом для реакцій I-ої фази біотрансформації в печінці, метаболізуються за участю ферменту *CYP3A4*. Поліморфізм *CYP3A4* впливає на рівень низки лікарських препаратів в крові – наркотичного анальгетика фентанілу, імуносупресанту такролімусу, транквілізатора мідазоламу тощо і відповідно впливає на

ефективність дії вказаних препаратів. Якщо шлях біотрансформації ізоніазиду в печінці є відомим і добре дослідженим, то біотрансформація рифампіцину є мало дослідженою. Цілком ймовірно, що в біотрансформації рифампіцину та інших протитуберкульозних препаратів важливу роль відіграє поліморфізм *CYP3A4*, що в свою чергу може впливати на ефективність протитуберкульозної хіміотерапії, це і є предметом даного наукового дослідження.

Результати досліджень даного розділу наведено в такій публікації:

1. Полуденко Г.О., Антоненко П.Б., Кресюн В.Й. Фармакогенетичні аспекти сучасної медикаментозної терапії. Досягнення біології та медицини. 2016. №2. С. 61-66. (Особистий внесок – брала участь у зборі літературних джерел, аналізі і формуванні огляду).

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Характеристика методів дослідження

Дослідження проводили згідно існуючих біоетичних норм (протокол №134В комісії з питань біоетики ОНМедУ від 08.02.2019 р. і №66Б від 26.09.2014 р.). Дослідження було проведено з урахуванням усіх стандартів належної клінічної практики та положень Гельсінської декларації ВМА "Етичні принципи медичних досліджень за участю людини в якості об'єкта дослідження". На виконання дослідження було отримано письмову інформовану згоду хворих на туберкульоз легень. Для дослідження поліморфізму генів біотрансформації – *CYP3A4*1B*, *CYP3A4*1G*, *CYP2C9*, *CYP2C19* – було використано виділені зразки ДНК, попередньо отримані у здорових донорів на базі Одеської обласної станції переливання крові (ООСПК), а також аналіз доступних даних осіб (вік, стать, група крові) (таблиця 2.1).

Для вивчення особливостей поліморфізму генів біотрансформації - *CYP3A4*1B*, *CYP3A4*1G*, *CYP2C9*, *CYP2C19* – у хворих на вперше діагностований ТБ легень (ВДТБ), а також вмісту ізоніазиду, рифампіцину проводили забір венозної крові на базі Одеського обласного протитуберкульозного диспансеру (ООПТД; ; зараз - КНП «Одеський обласний центр соціально значущих хвороб») на початку стаціонарного лікування. Для дослідження відбирались лише хворі, у яких вперше діагностовано ТБ легень і які не виділяли мультирезистентних штамів МБТ. Рівень ізоніазиду, рифампіцину вивчали через 2, 4, 6 і 24 год після застосування препаратів у кожного пацієнта протягом 2012-2014 рр. Всі хворі на ВДТБ легень отримували у складі комплексної терапії рифампіцин і ізоніазид внутрішньо з розрахунку 8-12 і 4-6 мг/кг маси тіла (загалом 450-600 і 300-400 мг) відповідно на добу згідно наказу МОЗ України від 9.06.2006 р.

№ 384. Відбір учасників дослідження в обох групах проводили методом «поперечного зрізу» без вікових чи статевих обмежень [76].

Таблиця 2.1.

Обсяг і характеристика проведених досліджень

Предмет дослідження	Проведені дослідження
Зразки ДНК, виділені з венозної крові здорових добровольців	Визначення генотипу <i>CYP3A4*1B</i> (n=127), <i>CYP3A4*1G</i> (n=98), <i>CYP2C9</i> (n=111), <i>CYP2C19</i> (n=111)
Венозна кров хворих на ВДТБ легень	Визначення генотипу <i>CYP3A4*1B</i> (n=105), <i>CYP3A4*1G</i> (n=105); <i>CYP2C9</i> (n=42), <i>CYP2C19</i> (n=42) вимірювання концентрації ізоніазиду (n=43), рифампіцину (n=43)
Медичні картки хворих ООПТД (з 2019 р. - КНП «Одеський обласний центр соціально значущих хвороб»)	Збір особливостей перебігу захворювання, клініко-лабораторних та біохімічних (активність АсТ, АлТ, ГГТ тощо) даних

Критеріями виключення учасників з дослідження в обох групах була наявність верифікованої ВІЛ-інфекції, вірусних гепатитів.

Особливості перебігу і результати інтенсивної фази лікування вивчали за даними медичних карт хворих після їх виписки зі стаціонару. Для збору анкетних, епідеміологічних даних і відомостей щодо особливостей захворювання на кожного хворого була заповнена анкета, до якої увійшли:

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

б) особливості стану хворого на початку лікування – наявність або відсутність деструкції легеневої тканини, фаза туберкульозного процесу (інфільтрація, розпад, дисемінація), форма туберкульозу (інфільтративний, дисемінований, локалізований), наявність/відсутність бактеріовиділення (за даними бактеріоскопії мокротиння та методу культурального посіву);

в) особливості стану хворого при завершенні інтенсивної фази лікування – наявність або відсутність (припинення) деструкції легеневої тканини, фаза туберкульозного процесу (дисемінація, рубцювання, розсмоктування), форма ВДТБ легень (інфільтративний, дисемінований, локалізований), припинення деструкції легеневої тканини, наявність/відсутність бактеріовиділення (за даними мікроскопії мокроти, посіву), припинення бактеріовиділення (за даними бактеріоскопії мокротиння та методу культурального посіву), дані щодо медикаментозної чутливості штамів *M.tuberculosis*, тривалість стаціонарного лікування;

г) лабораторні дані хворих на початку і при завершенні інтенсивної фази лікування (загальний аналіз крові – кількість еритроцитів, лейкоцитів, лейкоцитарна формула, рівень гемоглобіну і швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ); біохімічне дослідження крові – загальний білірубін, тимолова проба, активність маркерів цитолізу - аспартатамінотрансферази (АсТ), аланінамінотрансферази (АлТ), маркеру холестазу - гамма-глутамілтрансферази (ГГТ).

Розрахунок біологічної активності рифампіцину та ізоніазиду – ймовірної фармакологічної активності, субстратів і шляхів біотрансформації проводили для за допомогою PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances – прогноз спектрів біологічної активності органічних сполук). Метод дозволяє вираховувати ймовірність (Pa) певної фармакологічної активності, вплив на певні ферментні системи організму людини [77]. Показник Pa від 0,7 до 1,0 свідчить про високу ймовірність активності, що базується на спорідненості дослідженої молекули з вже відомими сполуками; показник від 0,5 до 0,7 також прогнозує достатню ймовірність активності, яка не пов'язана з вже існуючими препаратами.

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

Виділення ДНК з лейкоцитів людини проводили з використанням набору реагентів АмплиСенс «ДНК сорб-В» згідно інструкції наданою фірмою – виробником. Генотип *CYP3A4*1B* визначався з використанням полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). ПЛР проводили з використанням ампліфікатора «Терцик» і праймерів, які були придбані у науково-виробничій фірмі «Сіместа-ВААЛ» (Україна). Були використані специфічні праймери для «дикого» (wt) і мутантного алелів. Праймер *CYP3A4FC* («дикого» типу 5V-ATGAGGACAGCCATAGAGACAAGGGCTA-3V), *CYP3A4FV* (мутований 5V-ATGAGGACAGCCATAGAGACAAGGGCTG-3V) [78].

Реакція була виконана на ампліфікаторі за наступними умовами: 94°C – 4 хв, 94°C – 30 сек, 60°C – 10 сек, 72°C – 1 хв. *30 циклів з фінальною екстензією 72°C – 7 хв. 10 мкл кожного зразка в 1,5% агарозному гелі з доданням 1% бромистого етідію з подальшою візуалізацією під ультрафіолетовим світлом.

Генотип *CYP3A4*1G* визначали за допомогою ПЛР та ендонуклеазного аналізу згідно Yuan Gao, Li-rong Zhang et al. (2008) [79]. Автори пропонують використовувати спосіб визначення поліморфізму довжини фрагменту за допомогою рестрикції (PCR-RFLP). Для цього на першому етапі проводили ПЛР-ампліфікацію з використанням прямого праймеру 5'-CACCCCTGATGTCCAGCAGAAACT-3' і зворотнього праймеру 5'-AATAGAAAGCAGATGAACCAGAGCC-3'. Реакційна суміш (кінцевий об'єм 25 мкл) для визначення генотипу *CYP3A4*1G* містила 10 мкл ПЛР буферу, 200 мкМ dNTP, 50 пМ оберненого і прямого праймерів, 2,5 Од. ДНК полімерази, 100 нг геномного зразка. Реакція була виконана на ампліфікаторі за наступними умовами: початкова денатурація 94°C – 7 хв; 35 циклів 94°C – 30 сек, 62°C – 1 хв, 72°C – 1 хв з фінальною екстензією 72°C – 5 хв.

Далі кожний ДНК ампліфікат (8 мкл) в 287 п.о. був предметом для рестрикційного ферментного аналізу з 10 Од. *RsaI*. Після інкубації протягом 4 год при 37°C, нуклеотидні фрагменти визначались в 1,5% агарозному гелі з додаванням 1% бромистого етідію з подальшою візуалізацією під ультрафіолетовим світлом. «Дикий» алель *I має відповідне місце для рестрикції і під дією ферменту *RsaI* утворюються два фрагменти в 217 п.о. і 70 п.о. Відсутність місця рестрикції і збереження вихідного фрагменту в 287 п.о. свідчить про наявність мутації, що відповідає наявності мутантного (варіантного) алелю *IG.

Генотип *CYP450 2C19* визначали за допомогою полімеразно ланцюгової реакції (ПЛР) та ендонуклеазного аналізу за методом Goldstein J.A., Blaisdell J., (1996) [80]. Для ПЛР-ампліфікації *CYP2C19*2* і *CYP2C19*3* дві пари відповідних специфічних праймерів – для першого алеля (прямий праймер 5'-CAGAGCTTGGCATAATTGTATC'-3 і зворотний праймер 5'-GТАААСАСАСААСТАGТСААТG'-3), для другого алеля (прямий праймер 5'-АААТТGТТТССААТСАТТТАGCT'-3) і зворотний праймер 5'-АСТТСАGGGCTTGGTСААТА'-3). ПЛР продукти *CYP2C19*2* і *CYP2C19*3* були піддані рестрикції за допомогою ферментів (рестриктаз) *SmaI* і *VamHI* відповідно. Оскільки місце рестрикції відсутнє в мутантних алелях, ПЛР продукти уникали рестрикції відповідними ферментами, що свідчило про наявність алеля *CYP2C19*2* при застосуванні *SmaI* або алеля *CYP2C19*3* при застосуванні *VamHI*. Після інкубації з ендонуклеазами, нуклеотидні фрагменти визначались в 1,5% агарозному гелі з доданням 1% бромистого етідію з подальшою візуалізацією під ультра фіолетовим світлом.

Генотип *CYP450 2C9* визначали за допомогою ПЛР та ендонуклеазного аналізу за методом Sullivan-Klose T.H. et al. (1996) [81]. Автори пропонують використовувати три праймери. Для ПЛР-ампліфікації *CYP2C9*2* і *CYP2C9*3* дві пари відповідних специфічних праймерів – для першої алелі (прямий праймер TACAААТАСААТGAAAАТАТСАТG і зворотній праймер

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

Реакційна суміш (кінцевий об'єм 25 мкл) для визначення генотипу *CYP2C9* містила 1,2 мМ MgCl₂, 1 мкл ПЛР буферу, 200 мкМ dNTP, 60 пМ оберненого і прямого праймерів, 2,5 Од. ДНК полімерази, 100 нг геномного зразка. Реакція була виконана на ампліфікаторі за наступними умовами: початкова денатурація 94°C – 5 хв; 35 циклів 94°C – 1 хв, 60°C – 90 сек, 72°C – 30 сек.

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

2.3. Методи вимірювання концентрації протитуберкульозних препаратів в крові хворих

Визначення вмісту активного ізоніазиду в сироватці крові проводили наступним чином. До 2 мл сироватки крові додають 1 мл води і 1 мл 30% трихлороцтової кислоти (ТХУ), ретельно перемішуючи скляною паличкою і залишають в холодильнику на 15 хв. Потім центрифугують пробу при 3000 об/хв. протягом 15 хв. 2 мл абсолютно прозорого центрифугата (відповідає 1 мл сироватки крові) вносять в мірну пробірку, підлужнюють за фенолфталеїном 10% розчином їдкого натрію, додаючи його краплями, потім

підкислюють 1 N розчином сірчаної кислоти до зникнення малинового забарвлення [82]. Надлишок сірчаної кислоти в пробі має бути не більше 1 краплі. Об'єм проби доводять водою до 4 мл, після чого додають 2 мл ванадієвокислого амонію і ретельно перемішують. Інтенсивність отриманого забарвлення вимірюють через 60 сек. на спектрофотометрі СФ-46 при 400 нм. Оптичним контролем слугують проби, в яких сироватка крові замінена водою. За величиною оптичної щільності проби, що аналізується, розраховується концентрація активного ізоніазиду в 1 мл сироватки крові, використовуючи попередньо складений калібровальний графік.

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

Для визначення вмісту активного рифампіцину в сироватці крові проводили наступне. На початку вимірювання 4 мл венозної крові центрифугують 30 хв. при 3000 обертів/хв. Далі по 2 мл отриманої плазми переносять до пробірок з притертими пробками і до кожної проби додають 4 краплі 0,1 N HCl, щоб отримати рН плазми 6,7 згідно Чубаряну Т.В. з модифікацією [83]. Встановлено, що при рН 6,7 відбувається максимальна екстракція рифампіцину з плазми крові. До підкислених проб доливають 5 мл хлороформу і екстрагують протягом 5 хв. Для проведення кінцевої оцінки вмісту рифампіцину, його з розчину в хлороформі переводять в лужну фазу, в якій вимірюють оптичну щільність препарату. Для цього верхній шар

плазми видаляють, доливають до нього 5 мл 0,1 N КОН і проводять екстракцію з хлороформу в КОН протягом 5 хв. Лужний шар переносять в чисті пробірки і порівнюють при довжині хвилі 470 нм з контрольною пробою, що не містить препарат, на спектрофотометрі «СФ-46». Калібровальну криву будують за допомогою стандартних розчинів рифампіцину в сироватці крові в концентраціях 1, 5, 10, 15, 20 и 50 мкг/мл.

Однак використання зазначеної методики не є достатньо інформативним через неповну екстракцію рифампіцину, яка обумовлена режимом екстрагування. Тому під час роботи було запропоновано і експериментально підтверджено ефективність наступних заходів. Зокрема, додатково перед першим етапом екстракції до плазми крові додають 2 мл дистильованої води і 4 краплі 0,1 N розчину соляної кислоти (HCl), ретельно струшують пробірки протягом кількох хвилин після додавання 5 мл хлороформу, дослідну пробірку після додавання 5 мл 0,1 N розчину гідроксиду калію (KOH) центрифугують протягом 10 хв за швидкості 3000 об/хв після додавання КОН. Використання в якості біологічного матеріалу сироватки крові замість плазми значно спрощує отримання та зберігання біологічного матеріалу. Додавання на початку дослідження до дослідної сироватки дистильованої води і ретельне струшування після додавання хлороформу дозволяють досягти кращого розділення 2-х шарів – піни і шару білка, що зазнав коагуляції разом із рідкою частиною сироватки. Введення до режиму центрифугування після додавання КОН сприяє кращому розділенню на осад, в якому саме і міститься рифампіцин, і прозорий розчин, де рифампіцин відсутній.

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програмного пакета Microsoft Excel [76]. Обрахунок статистичних даних проводили із залученням Statistica 10.0 software (Dell Software, Austin, TX, USA). За необхідності використовували як параметричні методи (t-test), так і непараметричні методи (Mahn-Whitney, Sign test, χ^2 -test) статистичної обробки даних. Для визначення нормальності розподілу використовували критерій Шапіро-Уїлкі.

РОЗДІЛ 3

ПОЛІМОРФІЗМ *СУР3А4* СЕРЕД ЗДОРОВИХ І ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ

3.1. Дослідження шляхів біотрансформації протитуберкульозних препаратів *in silico*

Згідно отриманих даних PASS аналізу, у рифампіцину крім відомих «протитуберкульозної» (0,996), «протилепрозної» (0,973), «протибактеріальної» (0,897) активності високою є ймовірність «противірусної» (0,870), «протиопухлинної» (0,756), «гепатопротекторної» (0,731), «протихелікобактерної» (0,661), «протилейкемічної» (0,513) активності (рис. 3.1).

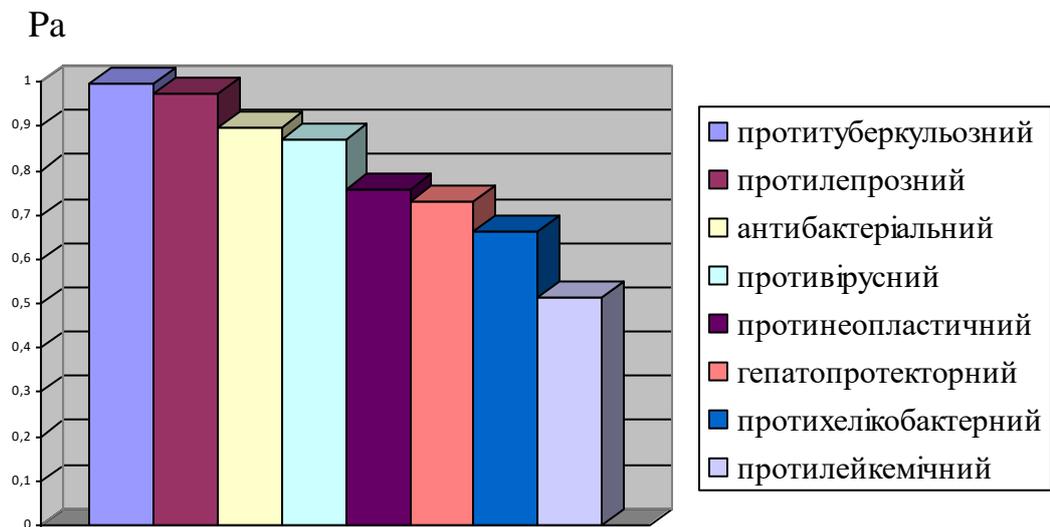


Рис. 3.1. Фармакологічні ефекти рифампіцину згідно PASS розрахунку

У рифампіцину окрім вже відомої здатності пригнічувати ДНК-залежної РНК-полімерази (0,910) також прогнозується здатність пригнічувати ліпооксигеназу (0,551), що передбачає протиалергічну дію

препарату, як у лікарського препарату зилейтону, що застосовується в комплексній терапії бронхіальної астми.

З високим ступенем ймовірності прогнозується метаболізм рифампіцину за участю ферменту CYP3A4 (0,891). Неочікуваним виявився прогноз здатності рифампіцину пригнічувати активність CYP2C9 (0,544), хоча згідно літературних даних рифампіцин навпаки є індуктором CYP2C9. Можливо вказаний ефект має дозозалежну дію (наприклад, мала доза активує, а велика пригнічує активність ферменту).

При PASS дослідженні молекули ізоніазиду окрім відомої «протимікобактеріальної» (0,591) та «протитуберкульозної» (0,566) активності також передбачається «аналептична» активність, тобто здатність прямо або опосередковано стимулювати дихальний і серцево-судинні центри у довгастому мозку (0,598-0,603) (рис. 3.2).

При PASS-аналізі ізоніазиду було встановлено, що він ймовірно пригнічує реакцію Маяра (Maillard reaction), пригнічує пероксидазу (0,691) і пригнічує транскрипційний фактор STAT (0,549).

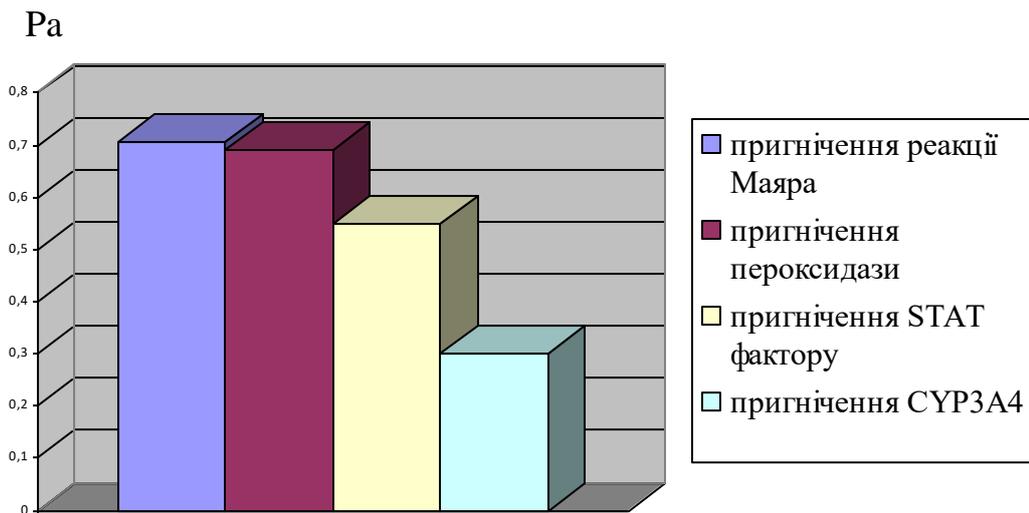


Рис. 3.2. Механізми дії ізоніазиду згідно PASS розрахунку

Відомо, що реакція Маяра (Maillard reaction) або реакція меланоїдиноутворення є реакцією взаємодії амінокислот з редукуючими цукрами з утворенням забарвлених (меланоїдинів) та ароматичних сполук. В

наслідок цієї реакції утворюються продукти гліюкування (glycation products), які пов'язують з розвитком ускладнень цукрового діабету, ущільнення судинної стінки, процесів старіння тощо [84,85]. Отже, ймовірно ізоніазид позитивно впливає на перебіг цукрового діабету.

Пероксидази людини поділяються на дві групи: справжні пероксидази (еозинфільпероксидаза, мієлопероксидаза тощо), які утворюють вільні радикали, і псевдопероксидази (гемоглобін, міоглобін тощо) які виконують різні функції, але за певних зовнішніх факторів можуть виконувати пероксидазоподібну функцію [86]. Відомо, що пероксидази відіграють важливу роль у багатьох процесах, таких як апоптоз, імунітет; надмірна пероксидазна активність призводить до окислювального пошкодження клітинних складових і відповідно до виникнення багатьох хвороб, зокрема цукрового діабету, нейродегенеративних, серцевосудинних, легневих хвороб, раку тощо [86,87]. Дійсно, під час лікування туберкульозу легень ізоніазидом у хворих спостерігається зниження вмісту продуктів перекисного окислення ліпідів. Але у великій мірі це пов'язують зі зменшенням туберкульозної інтоксикації [88].

STAT (signal transducer and activator of transcription) є сигнальним циклом, який приймає участь у процесах апоптозу, неоплазії, запалення [89]. Тому ймовірно у ізоніазиду є здатність пригнічувати названі процеси. З іншого боку, у ізоніазиду прогнозується низька здатність впливати на активність або бути субстартом CYP3A4 (0,299). PASS аналіз підтверджує участь N-ацетилтрансферази-1 і N-ацетилтрансферази-2 у біотрансформації ізоніазиду (0,711 і 0,676 відповідно), а також потенційну канцерогенність у мишей (0,569) і щурів (0,467).

Отже, проведений PASS аналіз ізоніазиду і рифампіцину засвідчив високу ймовірність ролі рифампіцину як субстрату ферменту CYP3A4, що може обумовлювати вплив поліморфізму гену CYP3A4, і відповідні відмінності у ефективності та безпечності лікування туберкульозу у носіїв різних генотипів ферменту CYP3A4. Також спрогнозовано додаткові

біологічні і фармакологічні ефекти ізоніазиду і рифампіцину, що може стати поштовхом для їх подальшого науково-практичного вивчення.

3.2. Поліморфізм *CYP3A4* серед здорових добровольців

Відповідно до генотипу *CYP3A4*1B* зі 127 здорових донорів 119 індивід (93,7 %) був носієм гомозиготного дикого типу гену (тобто, мав високу ферментативну активність) - генотип *AA*; 8 осіб (6,3 %) досліджених були носіями гетерозиготного генотипу *AG* (помірна ферментативна активність) (таблиця 3.1).

Таблиця 3.1.

Генотип і частота алелей гену *CYP3A4* серед здорових добровольців (кількість)

Поліморфізм	Генотип/гаплотип	Здорові добровольці (n=127)
<i>CYP3A4*1B</i>	<i>AA</i>	119
	<i>AG</i>	8
	<i>GG</i>	0
<i>CYP3A4*1B</i>	<i>A</i>	248
	<i>G</i>	6

На рис. 3.3 зображено результати електрофорезу гену *CYP3A4*1B*. Літерою **М** позначено маркери молекулярної ваги, які дозволяють визначити молекулярну масу фрагментів, що ампліфікуються. В верхній половині знімка (позначено **А**) наявність фрагмента в 338 пар основ свідчить про наявність «дикої» алелі (доріжки 1-8). В нижній половині знімка (позначення **Б**) присутність аналогічного фрагмента підтверджувало наявність мутованої (варіантної) алелі (доріжки 7 і 8), відсутність фрагмента – наявність немутованої («дикої») алелі (доріжки 1-6).

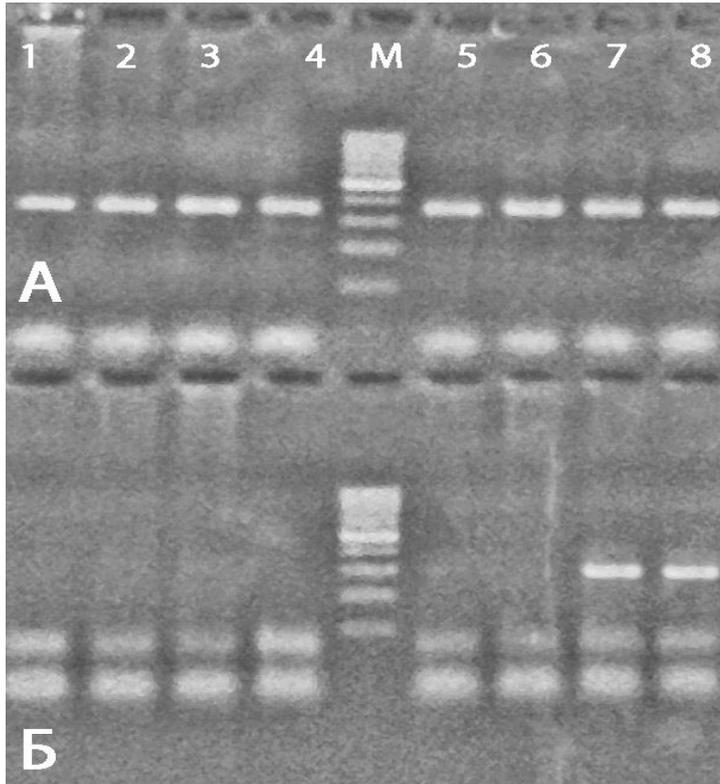
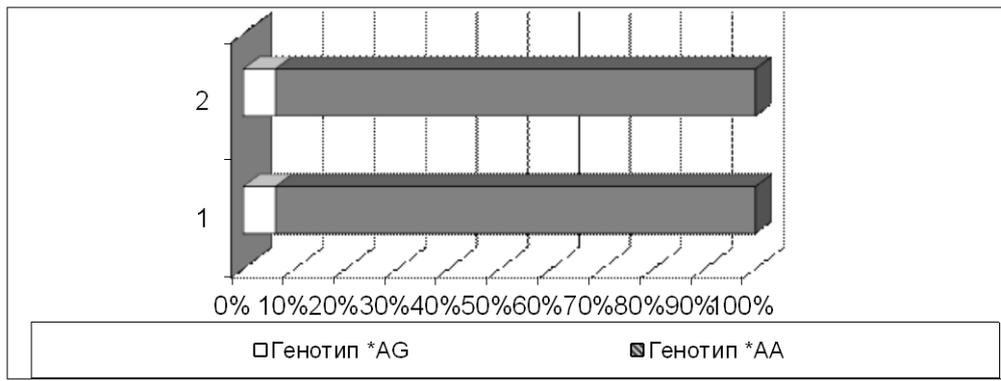


Рис. 3.3. Електрофореграма визначення поліморфізму гена *CYP3A4*1B* (дикий алель *M1*) (пояснення в тексті)

Загалом, з досліджених 127 пар генів *CYP3A4*1B*, 97,6 % складав алель *A CYP3A4*1B*, 2,4 % - алель *G CYP3A4*1B*. Згідно формули Харді-Вайнберга (Hardy-Weinberg), що відображає розподіл генотипів і фенотипів в популяції за певних умов, було розраховано очікувану поширеність генотипів *CYP3A4*1B*. Отримані результати істотно не відрізнялись від розрахованих за формулою Харді-Вайнберга (таблиця 3.2). Серед здорових добровольців як чоловічої, так і жіночої статі носії генотипу **AA* склали більшість, а саме 93,7% в обох групах. Решта – 6,3% склали носії генотипу **AG*. Таким чином, вірогідної різниці серед носіїв різних генотипів *CYP3A4*1B* за гендерною ознакою не спостерігалось ($p < 0,05$) (рис. 3.4).

Поширеність генотипів *CYP3A4*1B* серед здорових донорів (%) - фактична і розрахована за формулою Харді-Вайнберга

Результати	Генотип (n=127)		
	*AA	*AG	*GG
Фактичні	93,7	6,3	-
Розраховані	93,8	6,1	0,1



* - $p < 0,05$ відносно чоловіків

Рис. 3.4. Генетичний поліморфізм *CYP3A4*1B* серед здорових добровольців чоловічої (1) або жіночої статі (2)

Зі 119 індивідів, які були носіями гомозиготного дикого типу гена *AA, згідно до системи АВО переважали носії А(II) і О(I) групи крові - 34,5% і 33,6% відповідно, рідше зустрічались носії В(III) і АВ(IV) групи крові – в 24,4% і в 7,6% індивідів відповідно. Загалом носії генотипу *AG становили 10,9% і 10,0% у носіїв А(II) і АВ(IV) групи крові; майже вдвічі рідше – у 4,8% - зустрічався у носіїв частіше у О(I) групи крові і взагалі не зустрічався у носіїв В(III) групи крові. Отже, носії мутантного алелю дещо частіше зустрічались у носіїв А(II) і АВ(IV) групи крові, ніж серед носіїв інших груп крові ($p > 0,05$) (рис. 3.5).

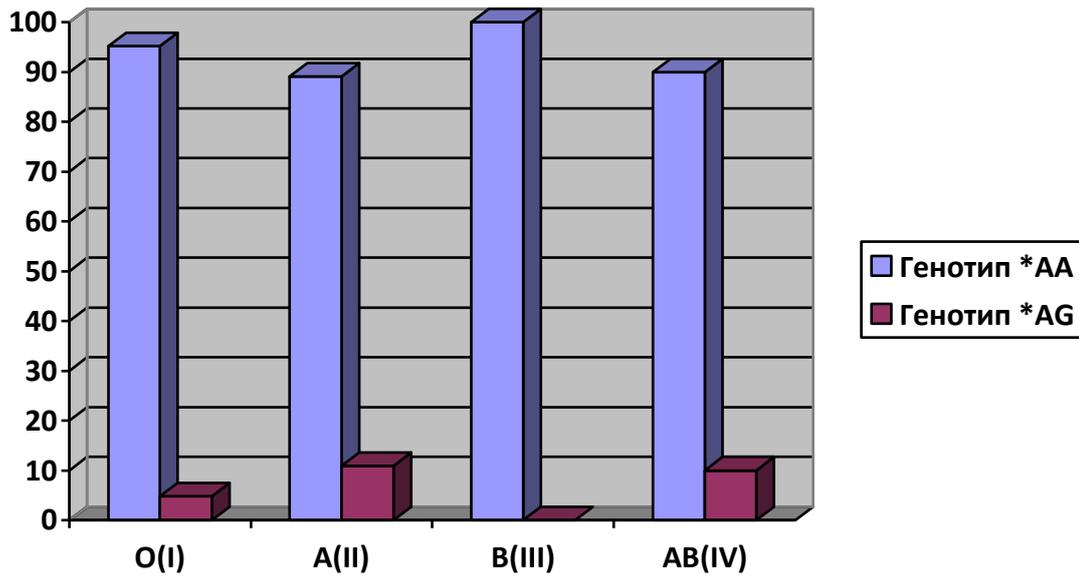


Рис. 3.5. Приналежність носіїв генотипів *CYP3A4*1B* - *AA (швидкі метаболізатори), *AG (помірні метаболізатори) до різних груп крові згідно системи АВО (вісь ордината)

Серед 119 носіїв гомозиготного дикого типу гена *AA домінували донори віком від 21 до 30 років і від 31 до 40 років – 35,3% і 31,1% донорів відповідно, рідше спостерігали осіб віком 41-50 років, до 20 років або старших за 51 рік – 14,3%; 12,6% і 6,7% здорових добровольців відповідно (рис. 3.6).

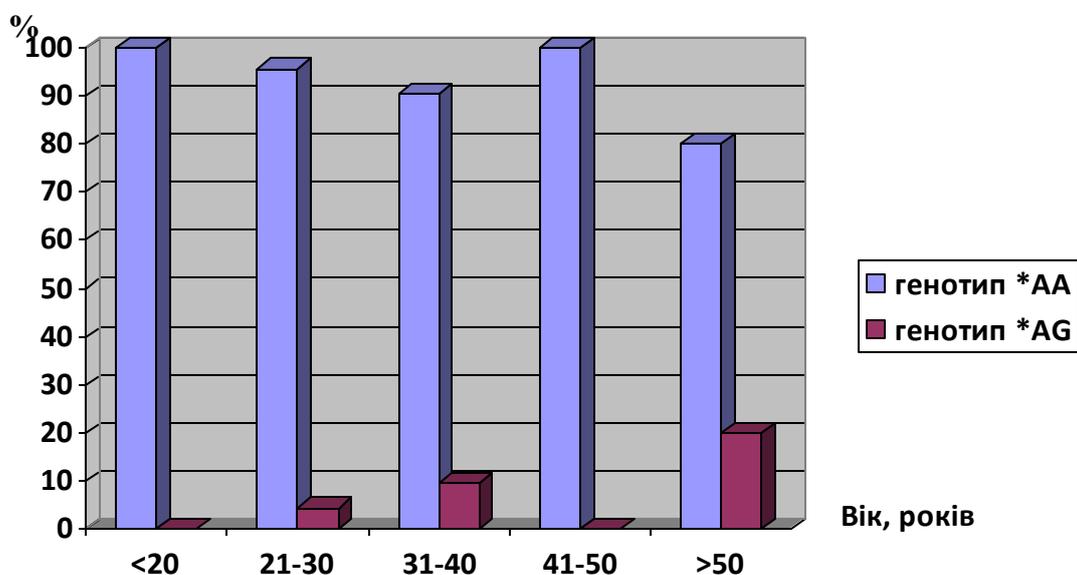


Рис. 3.6. Поширення генетичного поліморфізму *CYP3A4*1B* серед здорових добровольців в різних вікових групах (вісь абсциса)

Носії генотипу *AG у половині випадків були віком від 31 до 40 років, рідше належали до вікових категорій старших 50 років і 21-30 років – по 25,0% в кожній групі. Загалом можна побачити певну тенденцію до збільшення частки носіїв генотипу *AG зі збільшенням віку добровольців – від 4,5% у віковій групі 21-30 років до 9,8% і 20,0% серед вікових груп 31-40 і старших за 50 років відповідно ($p>0,05$). Однак, вікова різниця між носіями різних генотипів *CYP3A4*1B* була не вірогідною.

Поліморфізм генотипів і алелів *CYP3A4*1B* на південному заході України був близьким до результатів досліджень в країнах Європи. Частота дикого алелю в Україні (97,6%) була близька до європейських країн, зокрема Фінляндії, Боснії (95-96%) (рис. 3.7). Дещо частіше дикий алель зустрічався на Далекому Сході (наприклад, в Китаї до 100%), рідше в країнах Північної Африки (Туніс) і Іспанії (близько 90%) [7-10].

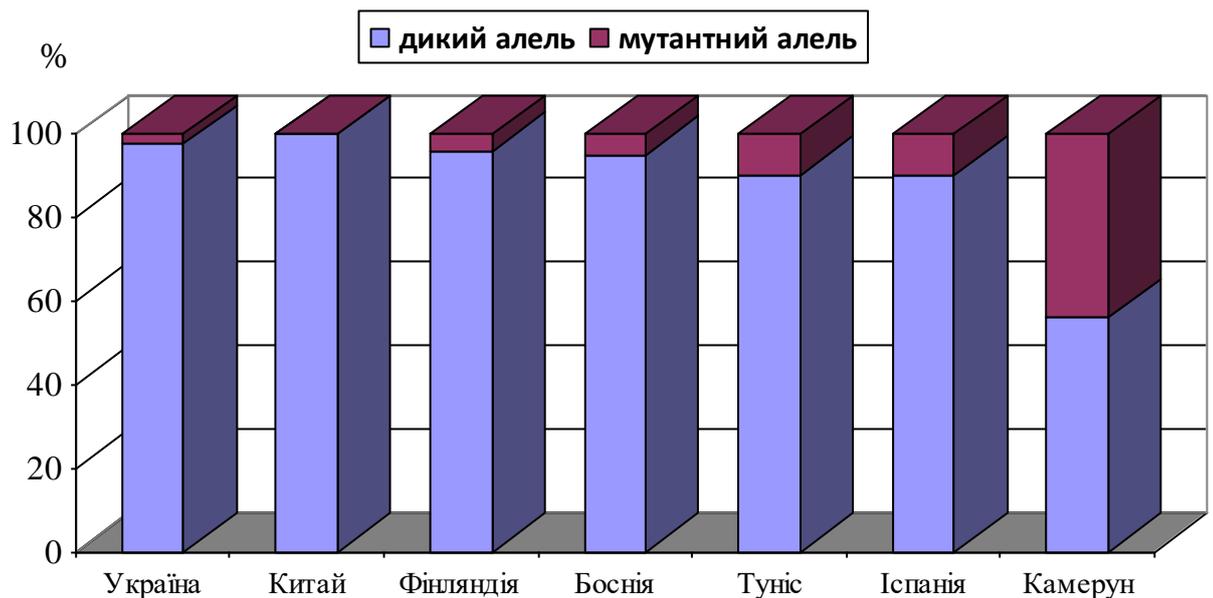


Рис. 3.7. Поширеність алелів *CYP3A4*1B* в різних країнах світу

Найбільш низькою поширеність дикого алелю спостерігалась в країнах Західної Африки (Камерун). Поширеність мутантного алелю на південному заході України становила 2,4%, що було дещо нижче, ніж в Фінляндії і Боснії

(близько 4-5%), Тунісі і Іспанії (9-10%). Мутантний алель був відсутній у мешканців Китаю, і в той же час, спостерігався у 56% представників Західної Африки.

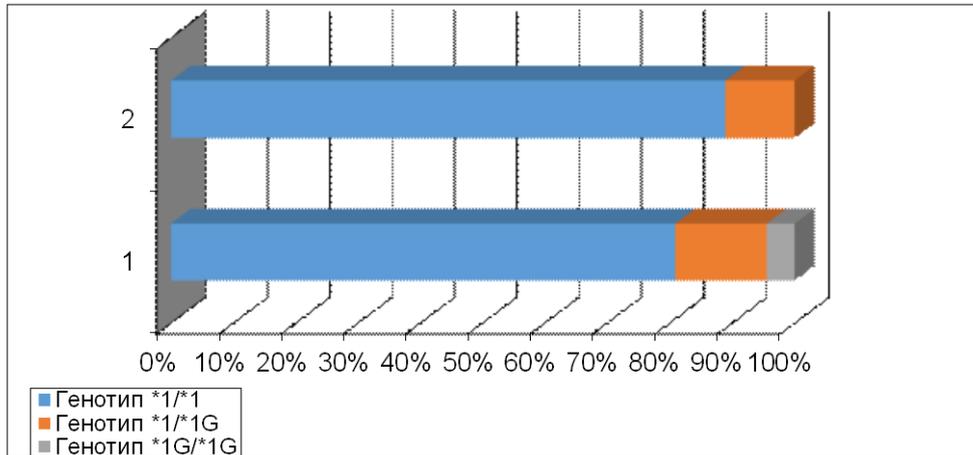
Визначення генотипу *CYP3A4*1G* у зв'язку з технічними складнощами вдалось провести у 98 здорових донорів, з яких 80 добровольців (81,6%) були носіями гомозиготного генотипу **1/*1* (тобто, мали високу ферментативну активність); 14 осіб (14,3%) досліджених були носіями гетерозиготного генотипу **1/*1G* (помірна ферментативна активність) і 4 (4,1%) – носіями гомозиготного генотипу **1G/*1G* (низька ферментативна активність) (таблиця 3.3).

Таблиця 3.3.

Поширеність генотипу *CYP3A4*1G* серед здорових добровольців (кількість)

Поліморфізм	Генотип/гаплотип	Здорові добровольці (n=98)
<i>CYP3A4*1G</i>	<i>*1/*1</i>	80
	<i>*1/*1G</i>	14
	<i>*1G/1G</i>	4
<i>CYP3A4*1G</i>	<i>*1</i>	174
	<i>*1G</i>	22

Серед здорових добровольців як чоловічої, так і жіночої статі носії генотипу **1/*1* склали більшість, а саме 80,9% і 88,9% відповідно (рис.) ($p>0,05$). Також серед чоловіків 14,6% і 4,5% склали носії генотипів **1/*1G* і **1G/*1G* відповідно; серед жінок решта добровольців – 11,1% становили носії генотипу **1/*1G*. Загалом, 19,1% чоловіків і 11,1% жінок були носіями варіантних алелів. Таким чином, вірогідної різниці серед носіїв різних генотипів *CYP3A4*1G* за гендерною ознакою не спостерігалось ($p>0,05$) (рис. 3.8).



*- $p < 0,05$ відносно чоловіків

Рис. 3.8. Генетичний поліморфізм *CYP3A4*1G* серед здорових добровольців чоловічої (1) або жіночої статі (2)

З 98 індивідів, які були носіями гомозиготного дикого типу гена **1/*1* згідно до системи АВО переважали носії А(II) і О(I) групи крові - 40,0% і 31,3% відповідно, рідше зустрічались носії В(III) і АВ(IV) групи крові – в 21,1% і в 7,5% індивідів відповідно. Загалом носії генотипів з мутантною алелю **1/*1G + *1G/*1G* становили 38,9% і 27,8% у носіїв О(I) і А(II) груп крові; майже вдвічі рідше – 22,2% і 11,1% - зустрічався у носіїв В(III) і АВ(IV) груп крові. Отже, носії мутантного алелю дещо частіше зустрічались у носіїв А(II) і АВ(IV) групи крові, ніж серед носіїв інших груп крові ($P > 0,05$). Найбільша частка носіїв генотипів з мутантною алелю **1/*1G + *1G/*1G* відзначалась у індивідів з АВ(IV) і О(I) групами крові (рис. 3.9). Серед 105 носіїв гомозиготного генотипу **1/*1* домінували донори віком від 21 до 30 років і від 31 до 40 років – 37,5% і 30,0% донорів відповідно, рідше спостерігали осіб віком 41-50 років, до 20 років або старших за 51 рік – 12,5%; 12,5% і 7,5% здорових добровольців відповідно (рис. 3.10).

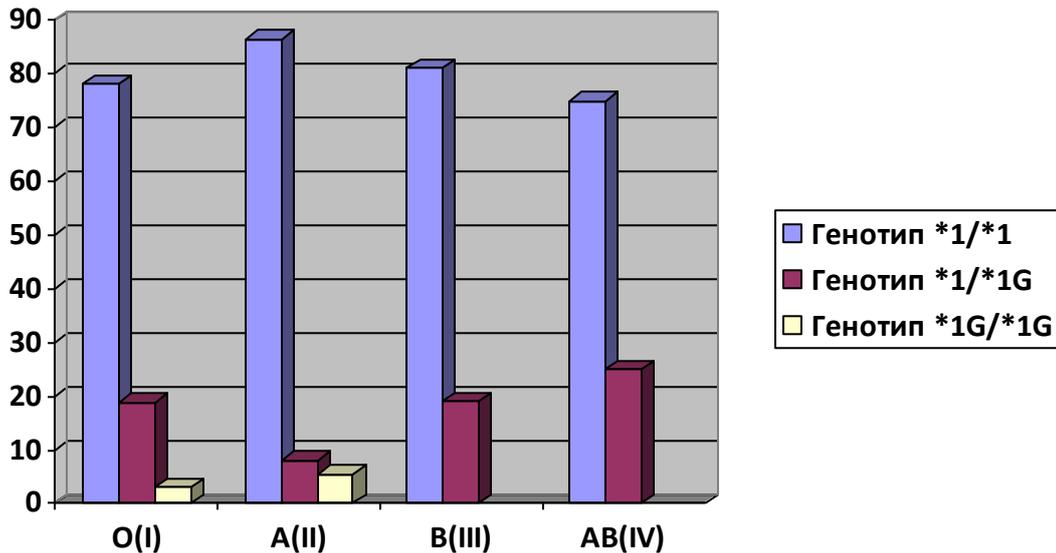


Рис. 3.9. Приналежність носіїв генотипів *CYP3A4*1G* до різних груп крові згідно системи АВО (вісь ордината)

Серед носіїв генотипу **1/*1G* більшість – 42,9% і 28,6% були у вікових групах 21-30 і 31-40 років відповідно; носії генотипу **1G/*1G* у половині випадків були віком від 41 до 50 років, рідше належали до вікових категорій старших 31-40 років і 21-30 років – по 25,0% в кожній групі. Загалом можна побачити певну тенденцію до збільшення частки носіїв генотипу, що містив мутантний алель (**1/*G* і **1G/*1G* разом) зі збільшенням віку добровольців – від 9,1% і 18,9% у віковій групі до 20 років і 21-30 років відповідно до 17,2%, 23,2% і 25,0% у вікових групах 31-40, 41-50 і понад 50 років відповідно ($p > 0,05$). Однак, вікова різниця між носіями різних генотипів *CYP3A4*1G* була невірогідною.

Поліморфізм генотипів і алелів *CYP3A4*1G* на південному заході України був близьким до результатів досліджень в країнах Європи. Частота дикого алелю в Україні (88,8%) була близька до європейських країн (91,8%) (рис. 3.11). Значно рідше дикий алель зустрічався у країнах Східної Азії (73,2%), Південної Азії (62,8%), Центральної Америки (60,7%), Африканського континенту (15,5%) [90-94].

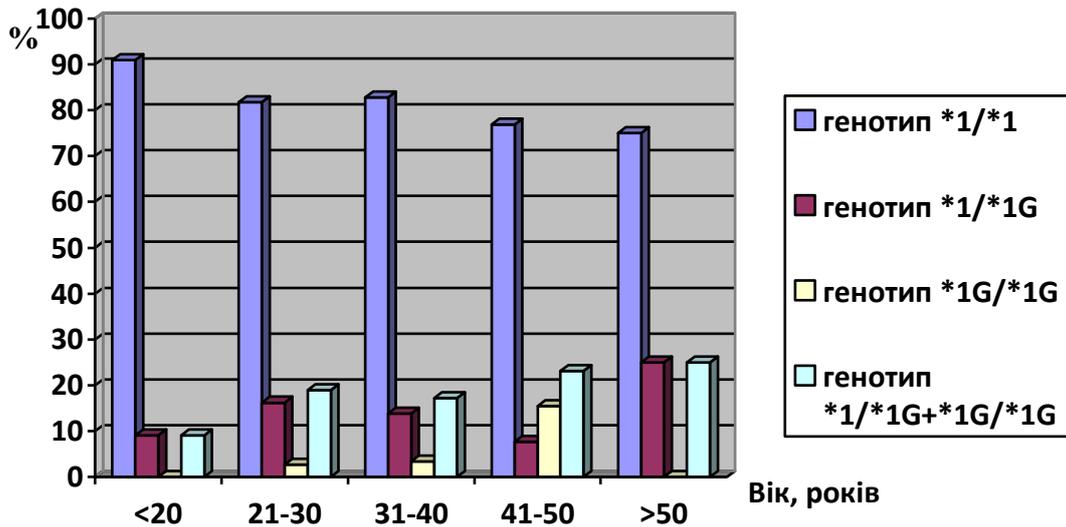


Рис. 3.10. Поширення генетичного поліморфізму *CYP3A4*1G* серед здорових добровольців в різних вікових групах (вісь абсциса)

Поширеність мутантного алелю на південному заході України становила 11,2%, що було дещо вище, ніж в низці Європейських країн (8,2%), і нижче, ніж в країнах Східної Азії (26,8%), Південної Азії (37,1%), Центральної Америки (39,3%), Африканського континенту (85,0%).

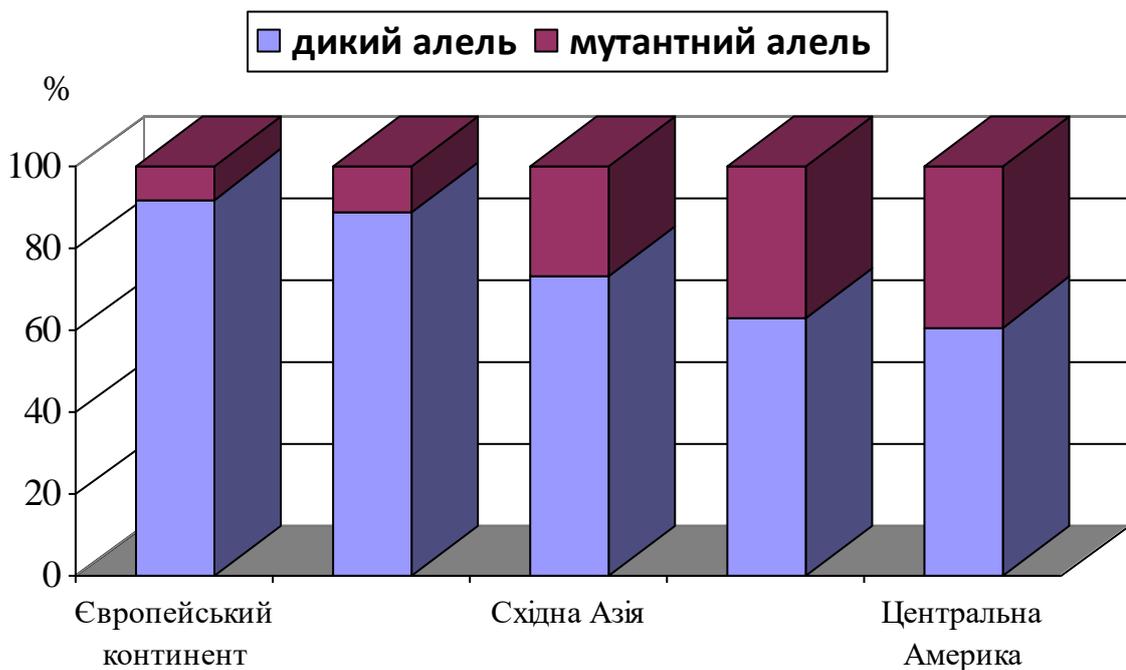


Рис. 3.11. Поширеність алелів *CYP3A4*1G* в різних країнах світу

3.3. Варіативність генотипу *CYP3A4* серед хворих на вперше діагностований туберкульоз легень

Серед 105 хворих на вперше діагностований туберкульоз легень (ВДТБ) генотип *AA* і *AG* мали 96 (91,4%) і 9 (8,6%) хворих відповідно. Не було виявлено жодного індивіда, який мав би комбінацію мутантних генів – *GG* (низька ферментативна активність) (таблиця 3.4).

Таблиця 3.4.

Генотип і алелі гена *CYP3A4*1B* серед хворих на ВДТБ легень (кількість)

Генотип (n=105)		
<i>*AA</i>	<i>*AG</i>	<i>*GG</i>
96	9	-
Алель (n=210)		
<i>CYP3A4*A</i>		<i>CYP3A4*G</i>
201		9

Серед здорових добровольців дещо частіше зустрічались носії гетерозиготного типу гена *CYP3A4*AG* – 8,6 %, водночас рідше зустрічались носії генотипу – *CYP3A4*AA* – 91,4 %, ніж у хворих на ТБ легень (таблиця 3.5). Також у здорових донорів були відсутні носії генотипу **GG*. Загалом, з досліджених 210 алелів *CYP3A4*1B*, 95,7% складав алель **A*, і 4,3 % склав алель **G*. Серед здорових добровольців 97,6% складав алель **A* і 2,4 % - алель **G*. Отже, істотних відмінностей у поліморфізмі *CYP3A4*1B* між хворими на ВДТБ легень і здоровими донорами не було зафіксовано. Серед хворих на туберкульоз як чоловічої, так і жіночої статті більшість, а саме 88,1% і 95,7% відповідно складали носії гомозиготного типу дикого гена *CYP3A4*AA* (рис. 3.12).

Таблиця 3.5.

Поширеність генотипів *CYP3A4*1B* серед здорових добровольців і хворих на ВДТБ легень (%)

Результати	Генотип <i>CYP3A4*1B</i>		
	*AA	*AG	*GG
Здорові добровольці (n=127)	93,7	6,3	-
Хворі на ТБ легень (n=105)	91,4	8,6	-

Серед здорових добровольців як чоловічої, так і жіночої статі носії генотипу *AA склали більшість, а саме 93,7%; решта – 6,3% - склали носії генотипу *AG. Таким чином, вірогідної різниці між хворими на ВДТБ легень і здоровими добровольцями щодо поліморфізму *CYP3A4*1B* за гендерною ознакою не спостерігалось ($p > 0,05$). Водночас, відзначалась більша поширеність генотипів, що відповідають за повільний тип метаболізму (генотип *AG), серед хворих на туберкульоз чоловічої статі ($p > 0,05$). Серед здорових добровольців найчастіше мутована алель *G зустрічалась незалежно від статі - в 3,2%. Серед хворих на ВДТБ легень чоловічої і жіночої статі мутований алель *G зустрічався у 5,9% і 3,1% відповідно. У решті випадків здорові донори і хворі на ВДТБ легень були носіями дикого алеля *A.

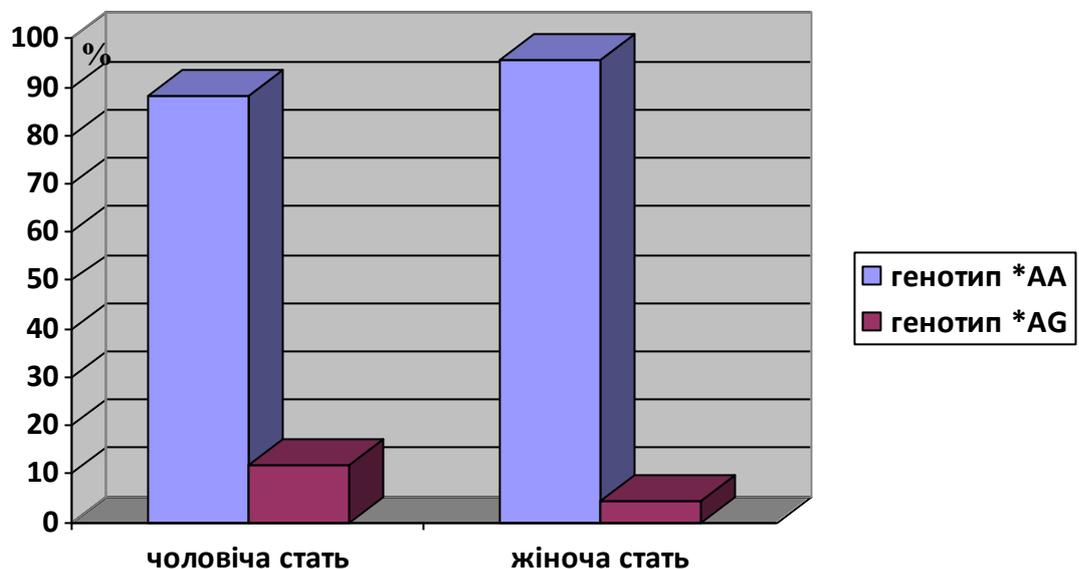


Рис. 3.12. Генетичний поліморфізм гена *CYP3A4*1B* серед хворих на ВДТБ легень жіночої або чоловічої статі

При дослідженні поширеності різних генотипів *CYP3A4*1B* з урахуванням вікових відмінностей було встановлено наступне. Серед хворих на ВДТБ легень з генотипом *AA найбільша кількість – 41,7 % - спостерігалась у віці 21-30 років, найнижча – 8,3 % - у віці до 20 років. До інших вікових груп належало близько 11,5-19,8 % хворих. В групі хворих з генотипом *AG значна більшість, а саме 44,4% становили пацієнти віком 21-30 років, близько 22,2% - пацієнти вікових груп 41-50 років і старше від 50 років. Тобто, хворі на ВДТБ легень з генотипами *AA і *AG в 2,3 разу найчастіше належали до вікової групи 21-30 років – в 41,4% і 44,4% відповідно. Загалом, найбільша частка носіїв генотипу *AG – 20% від загальної кількості хворих на ВДТБ – спостерігалась у віковій категорії 41-50 років (серед здорових добровольців – у віковій категорії старше 50 років) (рис. 3.13). Отже, складова частка носіїв мутантних алелів і генотипу *AG зростала зі збільшенням віку як серед хворих на ВДТБ, так і серед здорових добровольців.

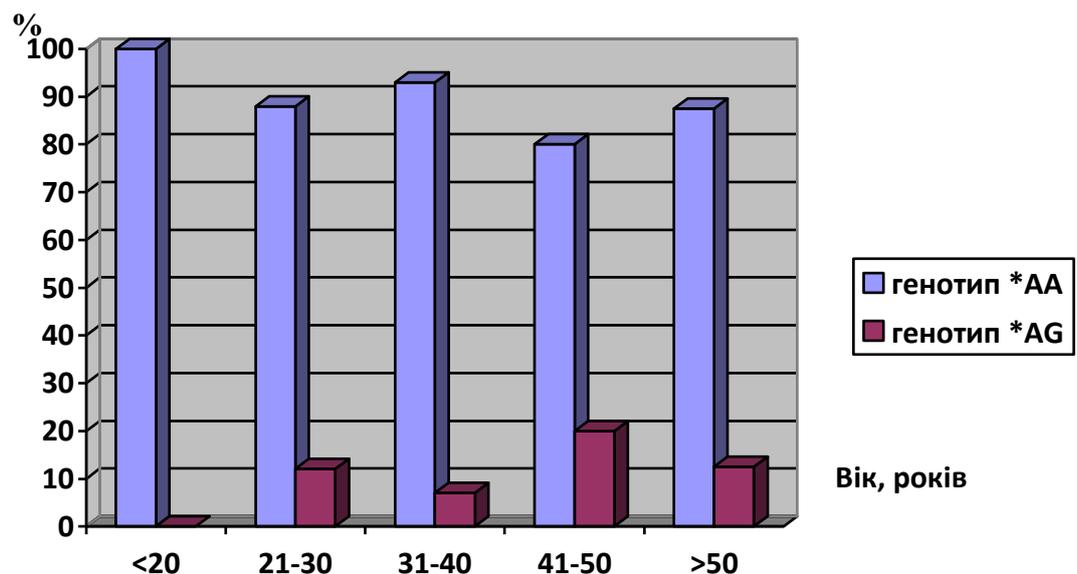


Рис. 3.13. Поширення генетичного поліморфізму *CYP3A4*1B* серед хворих на ВДТБ в різних вікових групах (вісь абсциса)

Особини-гомозиготи з диким типом щодо дослідженого гену *CYP3A4*1G* визначались як швидкі метаболізатори (*1/*1), особи, які мали одну мутовану алель, визначались як помірні метаболізатори (*1/*1G) і особи, які були

гомозиготами за мутантним геном, визначались як повільні метаболізаторами (**1G/*1G*) (таблиця 3.6; 3.7).

Таблиця 3.6.

Генотип і алелі гена *CYP3A4*1G* серед хворих на ВДТБ легень (кількість)

Генотип (n=105)		
<i>*1/1</i>	<i>*1/1G</i>	<i>*1G/1G</i>
96	5	4
Алель (n=210)		
<i>CYP3A4*1</i>	<i>CYP3A4*1G</i>	
201	9	

Таблиця 3.7.

Поширеність генотипів *CYP3A4*1G* серед здорових добровольців і хворих на ВДТБ легень (%)

Результати	Генотип <i>CYP3A4*1G</i>		
	<i>*1/*1</i>	<i>*1/*1G</i>	<i>*1G/*1G</i>
Здорові добровольці (n=98)	81,6	14,3	4,1
Хворі на ВДТБ легень (n=105)	91,4*	4,8	3,8

Примітка: * - $p < 0,05$ (у порівнянні з здоровими добровольцями)

Відповідно до генотипу *CYP3A4*1G* зі 105 хворих на ВДТБ легень 91,4% індивідів були носіями гомозиготного дикого типу гена *CYP3A4*1/*1*, 4,8% і 3,8% - носіями гетерозиготного типу гену *CYP3A4*1/*1G* і гомозиготного мутантного типу гена *CYP3A4*1G/*1G*.

Серед здорових добровольців частіше зустрічались носії генотипів відповідно проти 4,8% і 3,8% відповідно ($p < 0,05$). Таким чином, серед хворих на туберкульоз частіше зустрічались носії генотипу **1/*1*, ніж в

контрольній групі (91,4% проти 81,6%; $\chi^2=4,22$ при критичному значенні 3,84; $p<0,05$).

Серед чоловіків хворих на ВДТБ легень носії гомозиготного типу дикого гена *CYP3A4*1/*1* складала більшість, а саме 89,7%; носії гетерозиготного типу *CYP3A4*1/*1G* становили 6,9%; гомозиготного мутантного генотипу – 3,4% (рис. 3.14).

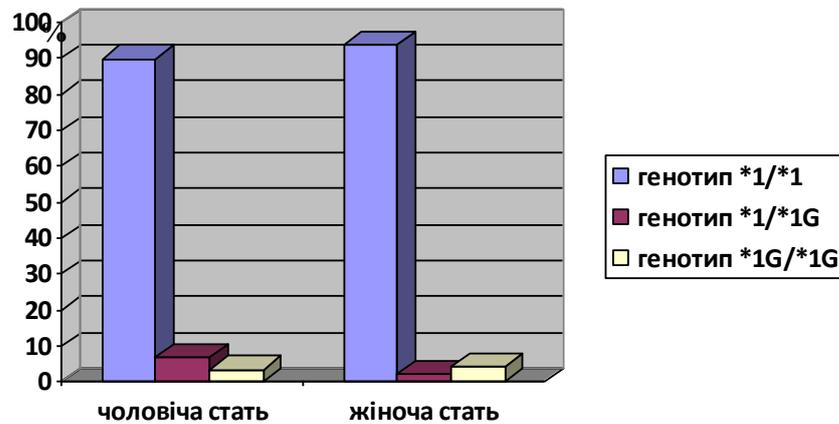


Рис. 3.14. Генетичний поліморфізм гена *CYP3A4*1G* серед хворих на ВДТБ легень жіночої або чоловічої статі

Серед жінок також переважали носії гомозиготного типу дикого гена *CYP3A4*1/*1* – 93,6%; близько 2,1% і 4,3% складала носії гетерозиготного генотипу *CYP3A4*1/*1G* і носії гомозиготного мутантного генотипу *CYP3A4*1G/*1G* відповідно. Вірогідної гендерної різниці щодо поширеності генотипу *CYP3A4*1G* серед хворих на ВДТБ легень не було відзначено, водночас спостерігалась тенденція до дещо більшої поширеності мутованих алелів серед чоловіків, ніж серед жінок. Аналогічна тенденція спостерігалась щодо поширеності генотипу *CYP3A4*1G* з урахуванням гендерного фактору серед здорових добровольців ($p>0,05$).

Серед пацієнтів різних вікових груп кількість носії генотипу *CYP3A4*1/*1* коливалась від 86,7 % (41-50 років) до 100 % (до 20 років). В групі здорових добровольців поширеність вище вказаного генотипу коливалась від 75,0% (понад 50 років) до 90,9 % (до 20 років). У хворих на

ВДТБ легень поширеність генотипу *CYP3A4*1/*1G* дещо зростала від 4,7% (у віковій групі 21-30 років) до 13,3% (вікова група 41-50 років) (рис. 3.15). Щодо носіїв генотипу *CYP3A4*1/*1G*, то їх частка у вікових групах 21-30 років, 31-40 років і старше 50 років складала 4,7%, 5,9% і 4,3%. Загалом, спостерігалась тенденція до зростання частки носії мутантних алелів (генотипи **1/*1G* + **1G/*1G*) у вікових групах від 0% і 9,3% в групах молодше 20 років і 21-30 років відповідно до 11,8% і 13,3% в групах 31-40 років і 41-50 років відповідно ($p>0,05$). Аналогічна закономірність спостерігалась серед добровольців – частка носіїв мутантних алелів (генотипи **1/*1G* + **1G/*1G*) поступово зростала зі збільшенням віку індивідів – від 9,1% і 18,9% (до 20 років і 21-30 років відповідно) до 23,1% і 25,0% (41-50 і старше 50 років відповідно).

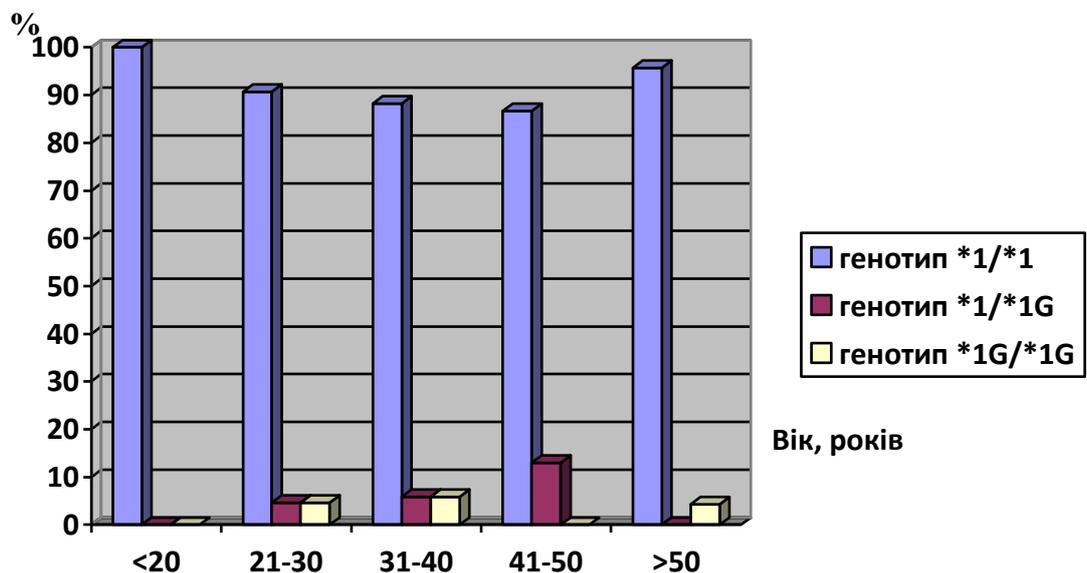


Рис. 3.15. Поширення генетичного поліморфізму *CYP3A4*1G* серед хворих на ВДТБ в різних вікових групах (вісь абсциса)

Серед хворих на туберкульоз частіше зустрічались носії генотипу **1/*1*, ніж серед здорових добровольців (91,4% проти 81,6%; $\chi^2=4,22$; $p<0,05$). Водночас носії генотипів з мутантним алелем **1/*1G* і **1G/*1G* частіше зустрічались серед здорових добровольців, ніж серед хворих на туберкульоз

(18,4% проти 8,6%; $\chi^2=4,22$; $p<0,05$). Поширеність мутантного алелю *IG дещо частіше спостерігалась у хворих на ВДТБ зі збільшенням віку, а також у хворих чоловічої статі ($p>0,05$). Подальші дослідження мають з'ясувати значення поліморфізму інших генів, таких як *CYP3A4* *IG та *IB для виникнення туберкульозу і концентрації рифампіцину в крові хворих на ВДТБ.

Висновки до розділу 3

1. З високим ступенем ймовірності згідно розрахунків PASS прогнозується участь ферменту *CYP3A4* у метаболізмі рифампіцину (0,891), що може обумовлювати вплив поліморфізму гену *CYP3A4*, і відповідні відмінності у ефективності та безпечності лікування туберкульозу у носіїв різних генотипів ферменту *CYP3A4*. У рифампіцину крім відомої «протитуберкульозної» (0,996), «протилепрозної» (0,973) активності високою є ймовірність «противірусної» (0,870), «протиопухлинної» (0,756), «гепатопротекторної» (0,731), «проти хелікобактерної» (0,661), «проти лейкемічної» (0,513) активності.

2. Поширеність дикого алелю *A локусу *CYP3A4**IB на південному заході України (97,6%) була близькою до результатів досліджень в країнах Європи (Фінляндія, Боснія – 95-96%). Виявлено тенденцію до збільшення частки носіїв генотипу *AG зі збільшенням віку добровольців – від 4,5% у віковій групі 21-30 років до 9,8% і 20,0% серед вікових груп 31-40 і старших за 50 років відповідно ($p>0,05$).

3. Поширеність дикого алелю *I локусу *CYP3A4**IG в Україні (88,8%) був близьким до результатів досліджень в країнах Європи (в середньому 91,8%). Відзначається тенденція до збільшення частки носіїв генотипу, що містять мутантний алель *IG зі збільшенням віку добровольців – від 9,1% і 18,9% у віковій групі до 20 років і 21-30 років відповідно до 23,2% і 25,0% у вікових групах 41-50 і понад 50 років відповідно ($p>0,05$).

4. Вірогідні відмінності у поліморфізмі *CYP3A4*1B* між хворими на ВДТБ легень і здоровими донорами не було зафіксовано, хоча серед хворих на ВДТБ легень дещо частіше спостерігались носії генотипу **AG*, ніж серед здорових добровольців (8,6% проти 6,3%, $p>0,05$).

5. Серед хворих на вперше діагностований туберкульоз частіше зустрічались носії генотипу **I/*I*, ніж серед здорових добровольців (91,4% проти 81,6%; $\chi^2=4,22$; $p<0,05$). Водночас носії генотипів з мутантним алелем **I/*IG* і **IG/*IG* частіше зустрічались серед здорових добровольців, ніж серед хворих на ВДТБ (18,4% проти 8,6%; $\chi^2=4,22$; $p<0,05$). Поширеність мутантного алелю **IG* дещо частіше спостерігалась у хворих на туберкульоз зі збільшенням віку, а також у хворих чоловічої статі ($p>0,05$)

Результати досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Полуденко Г.О., Антоненко П.Б. Значення поліморфізму *CYP3A4*1B* для метаболізму рифампіцину. *Journal of Health Sciences*. 2017. Vol. 7, N8. P. 1082-1090. (Особистий внесок – брала участь у плануванні дослідження, формуванні огляду літератури, проведенні збору, обробки та узагальнення отриманих експериментальних даних).

2. Антоненко П.Б., Кузьмін В.Є., Полуденко Г.О., Огніченко Л.М. Математичне прогнозування фармакологічної активності і метаболізму ізоніазиду. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*: матер. XXXIII Всеукраїнської наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Харків, 8 квітня 2016 р., Харків, НФАУ, 2016. С. 22.

3. Полуденко Г.О. Прогнозування фармакологічної активності і метаболізму рифампіцину. *Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини*: тези доп. Міжнар. наук. конф. студентів та молодих вчених, присвячена 150-річчю з дня народження Д. К. Заболотного, Одеса, 21-22 квітня 2016 р., Одеса, ОНМедУ, 2016. С. 51-52.

4. Полуденко Г.О. Поліморфізм генотипу *CYP450 3A4*1B* в Одеському регіону. *Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної*

медицини: тези доп. Міжнар. наук. конф. студентів та молодих вчених, присвячена 100-річчю з дня народження І.Г. Герцена, Одеса, 27-28 квітня 2017 р., Одеса, ОНМедУ, 2017. С. 67.

5. Полуденко Г.О. Особливості генотипу СYP450 3A4*1В серед хворих на туберкульоз. *Фармакологія та раціональна фармакотерапія*: тези доп. V національного з'їзду фармакологів України, Запоріжжя, 18-20 жовтня 2017 р., Запоріжжя, 2017. С. 106.

РОЗДІЛ 4
ВПЛИВ ПРОТИТУБЕРКУЛЬОЗНОЇ ТЕРАПІЇ НА ЛАБОРАТОРНІ
ПОКАЗНИКИ В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ГЕНЕТИЧНОГО
ПОЛІМОРФІЗМУ *CYP3A4*

4.1. Лабораторні показники у хворих на вперше діагностований туберкульоз легень в залежності від генотипу *CYP3A4*1B*

*Лабораторні показники у хворих на вперше діагностований туберкульоз легень в залежності від генотипу *CYP3A4*1B* були наступні.*

На початку інтенсивної фази лікування у хворих з генотипом **AA* кількість еритроцитів була дещо вище, ніж у носіїв генотипу **AG* ($p > 0,05$), водночас відносно рівня гемоглобіну і кількості хворих спостерігалась протилежна тенденція (таблиця 4.1).

Таблиця 4.1.

Показники «червоної крові» та ШОЕ до початку та після інтенсивної фази лікування згідно генотипу *CYP3A4*1B* (Mean±SEM)

Група	n	Кількість еритроцитів, Т/л	Гемоглобін, г/л	МСНС	ШОЕ, мм/год
НА ПОЧАТКУ ІНТЕНСИВНОЇ ФАЗИ ЛІКУВАННЯ					
<i>*AA</i>	96	4,74±0,04	123,00±1,53	275,53±0,99	22,33±1,48
<i>*AG</i>	9	4,85±0,18	120,29±5,83	274,29±4,77	24,00±4,60
ПІСЛЯ ІНТЕНСИВНОЇ ФАЗИ ЛІКУВАННЯ					
<i>*AA</i>	96	4,72±0,05	124,74±1,45	282,56±2,16#	10,91±0,96#
<i>*AG</i>	9	4,66±0,16	123,43±7,64	297,57±8,28#	12,00±4,58#

Примітка: # - $p < 0,05$ (відносно початкового рівня відповідної групи).

У носіїв генотипу **AG* відзначався дещо вищий рівень лейкоцитів в периферичній крові, ніж у хворих з генотипом **AA* – (9,50 Г/л проти 8,15 Г/л, $p = 0,079$) і майже вдвічі більше було хворих з лейкоцитозом (42,9% проти

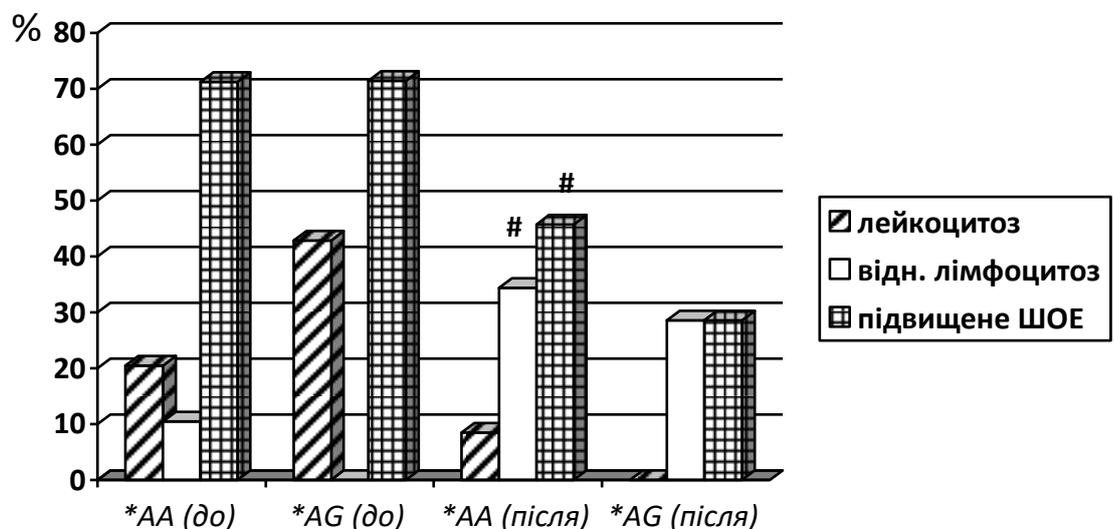
20,5% ($p>0,05$) (таблиця 4.2; рис. 4.1). У носіїв генотипу **AG* спостерігався дещо вища відносна кількість моноцитів і гранулоцитів, ніж у хворих з генотипом **AA*, щодо відносної кількості лімфоцитів спостерігалась протилежна тенденція ($p>0,05$).

Таблиця 4.2.

Показники «білої крові» до початку та після інтенсивної фази лікування згідно генотипу *CYP3A4*1B* (Mean±SEM)

Група	n	Кількість лейкоцитів, Г/л	Лімфоцити, %	Моноцити, %	Гранулоцити, %
НА ПОЧАТКУ ІНТЕНСИВНОЇ ФАЗИ ЛІКУВАННЯ					
<i>*AA</i>	96	8,15±0,22	30,25±0,85	4,97±0,14	61,20±1,65
<i>*AG</i>	9	9,50±0,81	28,07±2,47	5,04±0,55	66,84±2,54
ПІСЛЯ ІНТЕНСИВНОЇ ФАЗИ ЛІКУВАННЯ					
<i>*AA</i>	96	6,66±0,21#	36,70±1,01#	5,02±0,14	58,30±1,03
<i>*AG</i>	9	6,46±0,57#	34,91±2,21#	5,23±0,48	59,86±1,64#

Примітка: # - $p<0,05$ (відносно початкового рівня відповідної групи).



- $p<0,05$ (відносно початкового рівня відповідної групи)

Рис. 4.1. Кількість хворих з патологічними зсувами у периферичній крові на початку та після інтенсивної фази лікування згідно генотипу *CYP3A4*1G*

Отже, на початку лікування істотних відмінностей за показниками периферичної крові між носіями *AA і *AG не спостерігалось, хоча загальна тенденція свідчила про більшу виразність патологічних зсувів у носіїв генотипу *AG – дещо вищий лейкоцитоз і ШОЕ, а також нижчий рівень лімфоцитів і гемоглобіну, ніж у носіїв генотипу *AA.

Наприкінці інтенсивної фази лікування рівень гемоглобіну і еритроцитів у хворих на ВДТБ легень з генотипом *AA практично не змінився у порівнянні з початковими показниками (таблиця 4.1), хоча у хворих з генотипом *AG кількість еритроцитів мали тенденцію до зниження, а рівень гемоглобіну – до зростання ($p > 0,05$). В результаті інтенсивної фази лікування відбулось зростання МСНС в обох групах – на 2,6% у носіїв генотипу *AA ($p = 0,004$; CI = -11,72...-2,34) і на 8,5% у носіїв генотипу *AG ($p = 0,044$).

Показник ШОЕ на момент завершення інтенсивної фази лікування у носіїв генотипу *AA і *AG зменшився вдвічі ($p < 0,001$; CI = 7,95...14,89) і ($p = 0,048$; CI = 0,10...23,90). Якщо на початку лікування кількість хворих, які мали підвищену ШОЕ, в обох групах була близько 71%, то вже наприкінці інтенсивної фази лікування таких хворих серед носіїв генотипу *AG було дещо менше, ніж серед носіїв генотипу *AA (28,6% проти 45,7%; $p > 0,05$).

Під час інтенсивної фази лікування в обох групах відбулось зменшення кількості лейкоцитів в периферичній крові – на 22,4% у носіїв генотипу *AA ($p < 0,001$; CI = 0,90...2,08) і на 47,1% у носіїв генотипу *AG ($p = 0,007$; CI = 0,94...5,14); також в обох групах спостерігалось зменшення кількості хворих з лейкоцитозом – з 20,5% до 8,5% у носіїв генотипу *AA і з 42,9% до 0 у носіїв генотипу *AG ($p > 0,05$).

В результаті інтенсивної фази лікування відбулись певні зміни у лейкоцитарній формулі хворих на ТБ легень. Зокрема, в групах *AA і *AG зросла частка лімфоцитів на 21,3% ($p < 0,001$; CI = -9,04...-3,86) і на 24,4% ($p = 0,045$; CI = -14,16...0,48) відповідно, а також збільшилась частка хворих з відносним лімфоцитозом з генотипом *AA з 10,5% до 34,4% ($p < 0,05$;

$\chi^2=9,54$); з генотипом *AG – від 0 до 28,6% ($p>0,05$). В обох групах під час інтенсивної фази лікування спостерігалось збільшення відносної кількості моноцитів і зменшення частки гранулоцитів, причому у носіїв генотипу *AG це явище мало вірогідний характер ($p=0,035$; CI=0,57...13,39).

Отже, на початку інтенсивної фази лікування лабораторні дані свідчили про ризик більш важкого перебігу туберкульозної інфекції у носіїв генотипу *AG, водночас саме в цій же групі спостерігались більш виразні процеси нормалізації під час лікування.

Лабораторні показники функціонування печінки у хворих на ВДТБ легень в залежності від генотипу *CYP3A4*1B* були наступні. На початку інтенсивної фази лікування дещо вищий рівень білірубіну, активності АлТ, АсТ і ГГТ спостерігався у носіїв генотипу *AA, ніж у носіїв генотипу *AG ($p>0,05$) (таблиця 4.3).

Таблиця 4.3.

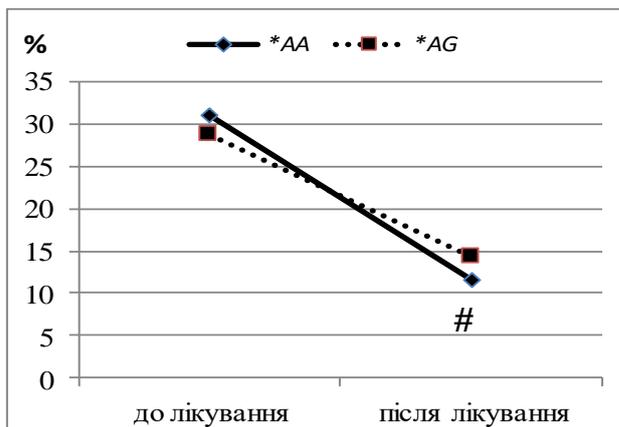
Біохімічні показники на початку інтенсивної фази лікування в залежності від генотипу *CYP3A4*1B* (M±SEM)

	До початку лікування		Після завершення інтенсивної фази лікування	
	*AA	*AG	*AA	*AG
Білірубін загальний	15,28±0,68	15,13±2,17	13,57±0,47#	12,13±1,71
Тимолова проба	1,98±0,11	2,50±0,48	2,08±0,11	2,24±0,49
АлТ	23,88±1,71	17,29±3,57	25,56±1,70	14,57±3,32*
АсТ	26,63±1,03	24,57±3,56	29,11±1,18	23,86±3,27
ГГТ	32,24±2,39	27,43±4,69	33,69±1,62	25,17±2,77

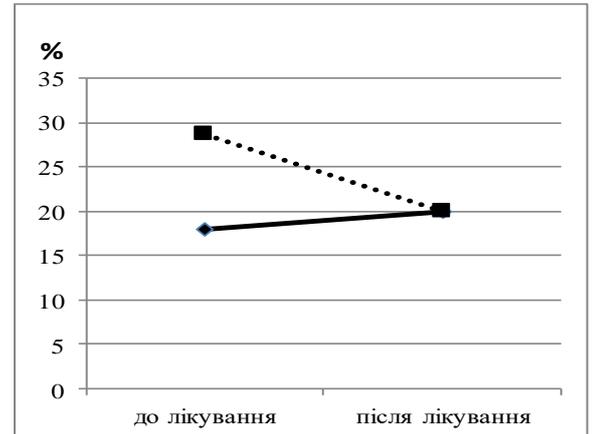
Примітка: # $p<0,05$ у порівнянні з початковим рівнем;

* $p<0,05$ у порівнянні з групою *AA

Майже у третини хворих незалежно від генотипу спостерігалась гіпербілірубінемія; підвищення тимолової проби спостерігалось у 28,6% хворих з генотипом *AG і у 17,9% хворих з генотипом *AA (рис.4.2А; 4.2Б).



А

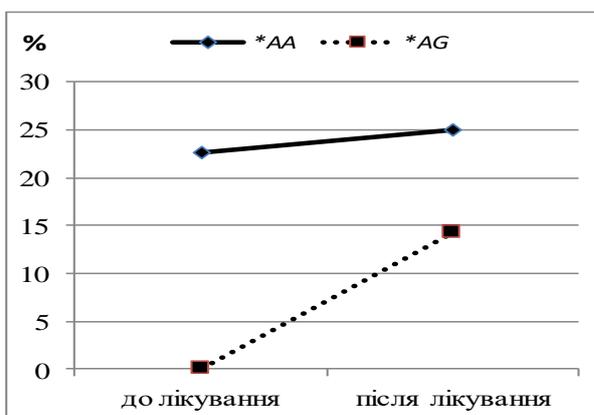


Б

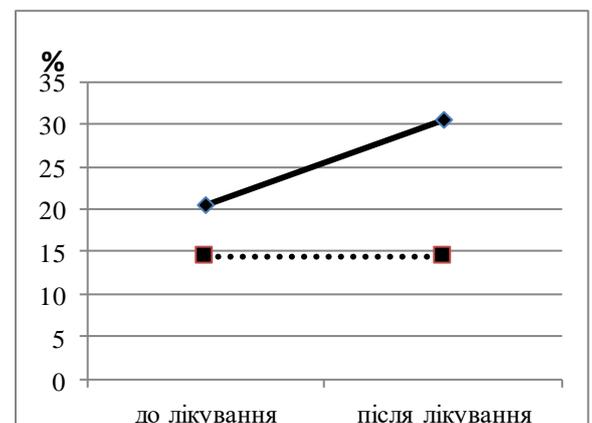
- $p < 0,05$ (відносно вихідного стану)

Рис 4.2. Кількість хворих з підвищеним рівнем загального білірубіну (А) та тимолової проби (Б) в крові до та після інтенсивної фази лікування

На початку лікування 20,5-25,6% хворих з генотипом *AA мали підвищення активності АлТ, АсТ і ГГТ; серед хворих з генотипом *AG таких хворих було до 14,3% ($p > 0,05$) (рис. 4.3А; 4.3Б; 4.4). Після закінчення інтенсивної фази лікування у носіїв генотипу *AA спостерігалось зниження вмісту загального білірубіну в крові на 12,6% ($p = 0,040$; $CI = 0,07 \dots 3,35$); певне зменшення – на 24,7% ($P > 0,05$) - також спостерігалось у носіїв генотипу *AG (Таблиця 4.3).



А



Б

Рис 4.3. Кількість хворих з підвищеною активністю АлТ (А) та АсТ (Б) в крові до та після інтенсивної фази лікування

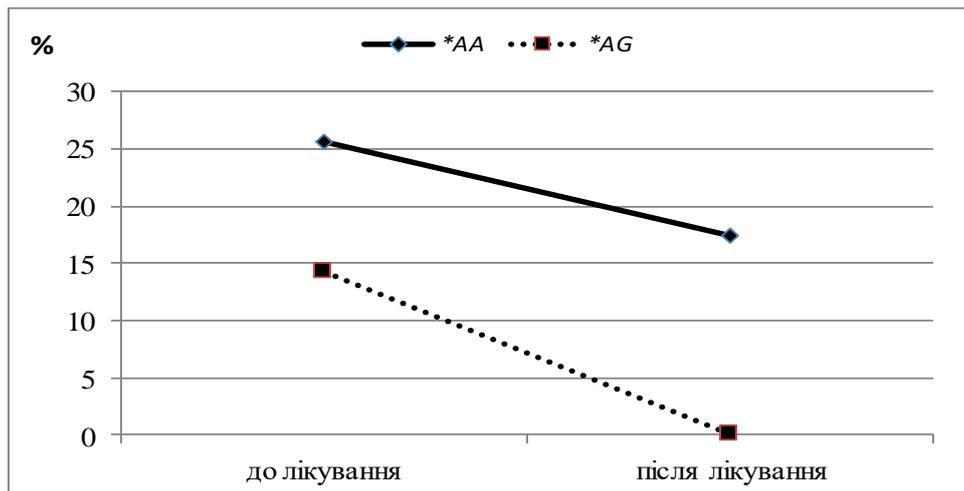


Рис 4.4. Кількість хворих з підвищеною активністю ГГТ в крові до та після інтенсивної фази лікування

Також кількість хворих з гіпербілірубінемією серед носіїв генотипу *AA і *AG зменшилась з 31,0% до 11,7% ($p < 0,05$; $\chi^2 = 4,75$) і з 28,6% до 14,3% ($p > 0,05$) відповідно (Рис. 4.2А).

Наприкінці інтенсивної фази лікування відбулись незначні зміни показників тимолової проби в обох групах. Після проведення інтенсивної фази лікування активність маркерів цитолізу АлТ і АсТ, та маркеру холестазу ГГТ у хворих на ВДТБ з генотипом *AA недостовірно зросла – на 7,0%, на 9,3% і на 4,5% ($p > 0,05$); у хворих з генотипом *AG активність АлТ, АсТ і ГГТ навпаки мала тенденцію до зниження – на 18,7%, на 3,0% і на 9,0% ($p > 0,05$), аналогічна тенденція спостерігалась і щодо кількості хворих з підвищеним вмістом АлТ, АсТ і ГГТ. Наприкінці інтенсивної фази лікування середня активність АлТ у носіїв генотипу *AA була в 1,8 разів вища, ніж у носіїв генотипу *AG ($p = 0,046$; CI = -0,26...22,24).

Таким чином, на початку лікування носії генотипу *AG мали дещо нижчу активність маркерів цитолізу АлТ, АсТ і маркеру холестазу ГГТ, ніж носії генотипу *AA. Під час інтенсивної фази лікування у носіїв генотипу *AG спостерігалась тенденція до зниження активності маркерів цитолізу і

холестазу, у носіїв генотипу **AA* – навпаки, тенденція до зростання вказаних маркерів.

4.2. Лабораторні показники у хворих на вперше діагностований туберкульоз легень в залежності від генотипу *CYP3A4*1G*

Лабораторні показники у хворих на ВДТБ легень в залежності від генотипу *CYP3A4*1G* були наступні. На початку лікування у хворих з генотипом **1/*1G* кількість еритроцитів були на 9,1% вище ($p=0,021$; $CI=0,06...0,78$), ніж у осіб з генотипом **1/*1* відповідно; у носіїв мутантного алелю **1G* (генотип **1/*1G* + **1G/*1G*) кількість еритроцитів була на 8,4% вище ($p=0,005$; $CI=0,12...0,66$), ніж у осіб з відсутністю мутантного алелю (генотип **1/*1*) (таблиця 4.4). Аналогічна тенденція спостерігалась і відносно рівня гемоглобіну ($p>0,05$).

Таблиця 4.4.

Показники «червоної крові» та ШОЕ до початку та після інтенсивної фази лікування згідно генотипу *CYP3A4*1G* (Mean±SEM)

Група	n	Кількість еритроцитів, Т/л	Гемоглобін, г/л	МСНС	ШОЕ, мм/год
НА ПОЧАТКУ ЛІКУВАННЯ					
<i>*1/*1</i>	96	4,62±0,04	121,88±1,62	270,54±1,05	23,26±1,56
<i>*1/*1G</i>	5	5,04±0,17*	129,20±5,38	275,20±5,74	16,00±3,82
<i>*1G/*1G</i>	4	4,97±0,55	125,25±5,68	269,75±1,39	13,00±3,27
<i>*1/*1G</i> + <i>*1G/*1G</i>	9	5,01±0,14*	127,44±3,70	272,78±3,07	14,71±2,98
ПІСЛЯ ІНТЕНСИВНОЇ ФАЗИ ЛІКУВАННЯ					
<i>*1/*1</i>	96	4,67±0,05	123,66±1,61	286,20±2,44#	10,74±0,97#
<i>*1/*1G</i>	5	4,83±0,16	126,00±3,35	274,00±2,25	11,67±2,12
<i>*1G/*1G</i>	4	4,95±0,33	124,75±8,52	272,75±3,23	8,75±2,54
<i>*1/*1G</i> + <i>*1G/*1G</i>	9	4,88±0,16	125,44±4,06	273,89±1,83	10,43±1,42

Примітка: * - $p<0,05$ (відносно відповідної групи з генотипом **1/*1*);
- $p<0,05$ (відносно початкового рівня відповідної групи).

У носіїв генотипу **I/*I* відзначалась найбільш висока кількість лейкоцитів і кількість хворих з абсолютним лейкоцитозом в периферичній крові; найменший рівень був у носіїв генотипу **IG/*IG* і **I/*IG* (таблиця 4.5, рис. 4.5). У носіїв генотипу **IG/*IG* спостерігався дещо вища відносна кількість лімфоцитів і кількість хворих з відносним лімфоцитозом в периферичній крові відносно порівняно з іншими групами (таблиця 4.5, рис. 4.5). Найвищим середній показник ШОЕ спостерігався у носіїв генотипу **I/*I*, при цьому він дещо перевищував аналогічний показник носіїв генотипу **I/*IG* і **IG/*IG* на 43,8% і 78,9% ($p>0,05$), при цьому понад 60% хворих з генотипом **I/*I* мали підвищений рівень ШОЕ, що майже вдвічі перевищувало аналогічний показник носіїв генотипу **IG/*IG* ($p>0,05$).

Таблиця 4.5.

Показники «білої крові» до початку та після інтенсивної фази лікування згідно генотипу *CYP3A4*IG* (Mean±SEM)

Група	n	Кількість лейкоцитів, Г/л	Лімфоцити, %	Моноцити, %	Гранулоцити, %
НА ПОЧАТКУ ЛІКУВАННЯ					
<i>*I/*I</i>	96	8,25±0,24	29,70±0,85	4,79±0,14	64,79±0,84
<i>*I/*IG</i>	5	8,21±0,83	33,70±2,07	5,68±0,49	60,87±1,65
<i>*IG/*IG</i>	4	6,94±1,18	36,58±3,36	5,75±0,77	58,20±2,42
<i>*I/*IG</i> + <i>*IG/*IG</i>	9	7,64±0,69	34,01±2,50	5,71±0,41	60,11±1,61
ПІСЛЯ ІНТЕНСИВНОЇ ФАЗИ ЛІКУВАННЯ					
<i>*I/*I</i>	96	6,46±0,20#	37,32±0,10#	5,10±0,16	57,51±1,02#
<i>*I/*IG</i>	5	7,92±0,92	32,70±1,82	5,36±0,71	62,47±1,24
<i>*IG/*IG</i>	4	6,64±1,04	36,38±3,37	5,43±0,46	57,68±2,98
<i>*I/*IG</i> + <i>*IG/*IG</i>	9	7,35±0,68	33,82±2,35	5,39±0,41	60,83±1,30

Примітка: * - $p<0,05$ (відносно відповідної групи з генотипом **I/*I*);
- $p<0,05$ (відносно початкового рівня відповідної групи).

Наприкінці інтенсивної фази лікування рівень гемоглобіну і еритроцитів у хворих на ВДТБ легень практично не змінився у порівнянні з початковими показниками (таблиця 4.4), хоча у хворих з генотипом **1/*1* ці показники мали тенденцію до незначного зростання, а у носіїв інших генотипів – мали тенденцію до зниження ($p > 0,05$). В результаті інтенсивної фази лікування відбулось незначне зростання МНС в усіх групах, при чому найбільш істотне зростання – на 5,8% - спостерігалось у носіїв генотипу **1/*1* особливо у «помірних метаболізаторів» – на 4,3 % ($p < 0,001$; $CI=10,42...20,90$).

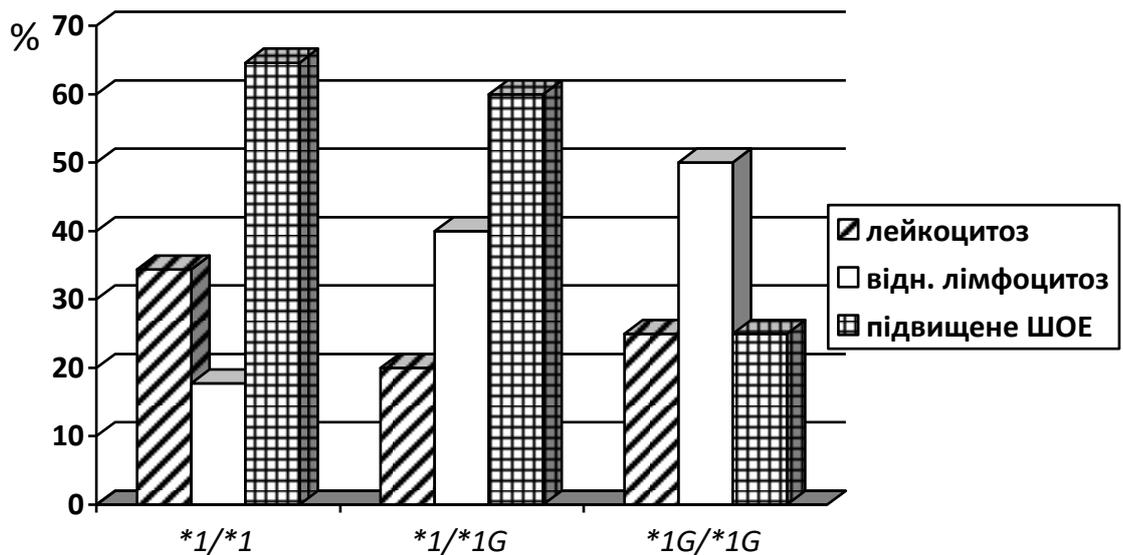
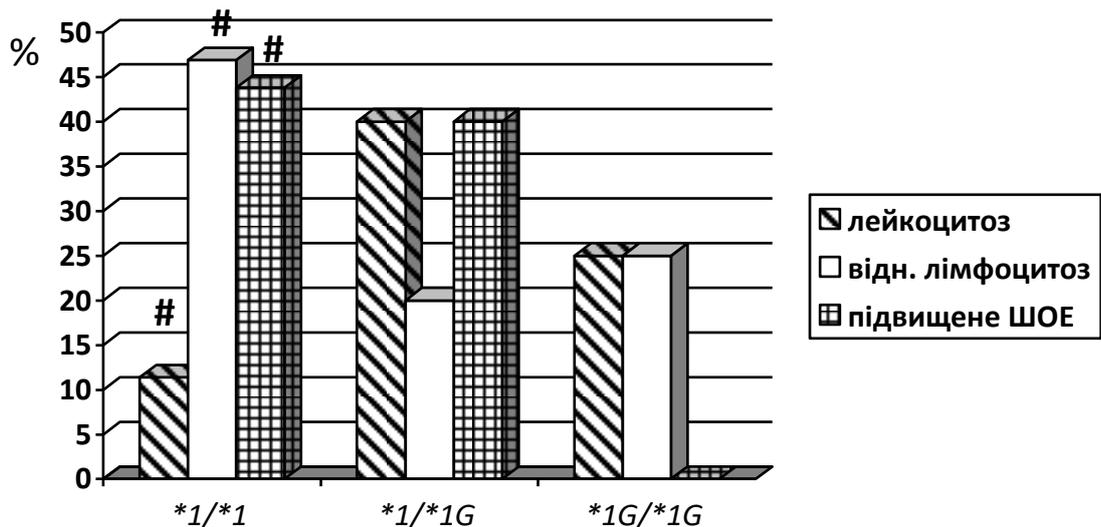


Рис. 4.5. Кількість хворих з патологічними зсувами у периферичній крові на початку інтенсивної фази лікування згідно генотипу *CYP3A4*1G*

Показник ШОЕ на момент завершення інтенсивної фази лікування у носіїв генотипу «швидких метаболізаторів» зменшився майже в 2,2 рази ($p < 0,001$; $CI=-16,14...-8,90$), аналогічна тенденція спостерігалась у носіїв інших генотипів, але мала не вірогідний характер ($p > 0,05$) у зв'язку з невеликою кількістю спостережень в групі і значною похибкою. Наприкінці інтенсивної фази лікування понад 40% хворих з генотипом **1/*1* мали підвищений рівень ШОЕ, водночас серед носіїв генотипу **1G/*1G* – такі хворі були відсутні. Серед осіб з генотипами **1/*1* і кількість лейкоцитів в периферичній крові знизилась на 27,7 % ($p < 0,001$; $CI=-2,40...-1,18$), кількість хворих з

лейкоцитозом – майже втричі – з 34,4% до 11,4% ($p < 0,05$; $\chi^2 = 14,27$ при критичному значенні 3,84), при цьому аналогічні зміни спостерігались в інших групах, але не мали вірогідності ($p > 0,05$) (таблиця 4.5, рис. 4.6).

В результаті інтенсивної фази лікування відбулись певні зміни у лейкоцитарній формулі хворих на ВДТБ легень. Зокрема, в групі **1/*1* в 1,3 рази зросла частка лімфоцитів ($p < 0,001$; $CI = 5,04 \dots 10,20$) і збільшилась частка хворих з відносним лімфоцитозом з 17,7% до 46,9% ($p < 0,05$; $\chi^2 = 18,68$). В інших групах відносна кількість лімфоцитів або не змінилась, або дещо зменшилась, а також дещо знизилась частка хворих з відносним лімфоцитозом. На момент закінчення інтенсивної фази лікування зміни у кількості моноцитів у лейкоцитарній формулі в усіх групах мали невірогідний характер, але загалом спостерігалась тенденція до зниження їх відносної кількості. В результаті інтенсивної фази лікування знизилась кількість гранулоцитів на 12,7 % при генотипі **1/*1* ($p < 0,001$; $CI = -9,89 \dots -4,67$); в інших групах значних змін не спостерігалось.



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

Рис. 4.6. Кількість хворих з патологічними зсувами у периферичній крові при завершенні інтенсивної фази лікування згідно генотипу *CYP3A4*1G*

Отже, на початку лікування лабораторні показники хворих з генотипом **1/*1* свідчили про більш важкий перебіг захворювання, ніж у носіїв

мутантної алелі *G, що зайшло своє відображення у меншій кількості еритроцитів, дещо більший ШОЕ і кількості лейкоцитів в першій групі. Водночас в результаті інтенсивної фази лікування саме у носіїв генотипу *I/*I спостерігались більш виразні процеси нормалізації – зменшенні ШОЕ, кількості лейкоцитів, зростанні кількості еритроцитів, порівняно з іншими група.

Лабораторні показники функції печінки у хворих на туберкульоз легень в залежності від генотипу CYP3A4*IG були наступні. Особи-гомозиготи з диким типом щодо дослідженого гену CYP3A4*IG визначались як «швидкі метаболізатори» (*I/*I), особи, які мали одну мутовану алель, визначались як «помірні метаболізатори» (*I/*IG) і особи, які були гомозиготами за мутантним геном, визначались як «повільні метаболізатори» (*IG/*IG). На початку інтенсивної фази лікування найвищий рівень білірубину спостерігався у носіїв генотипу «швидких метаболізаторів», дещо менший рівень був у «помірних» і «повільних метаболізаторів», причому у останніх він був на 30,2% нижче, ніж у швидких метаболізаторів (p=0,007) (таблиця 4.6).

Таблиця 4.6.

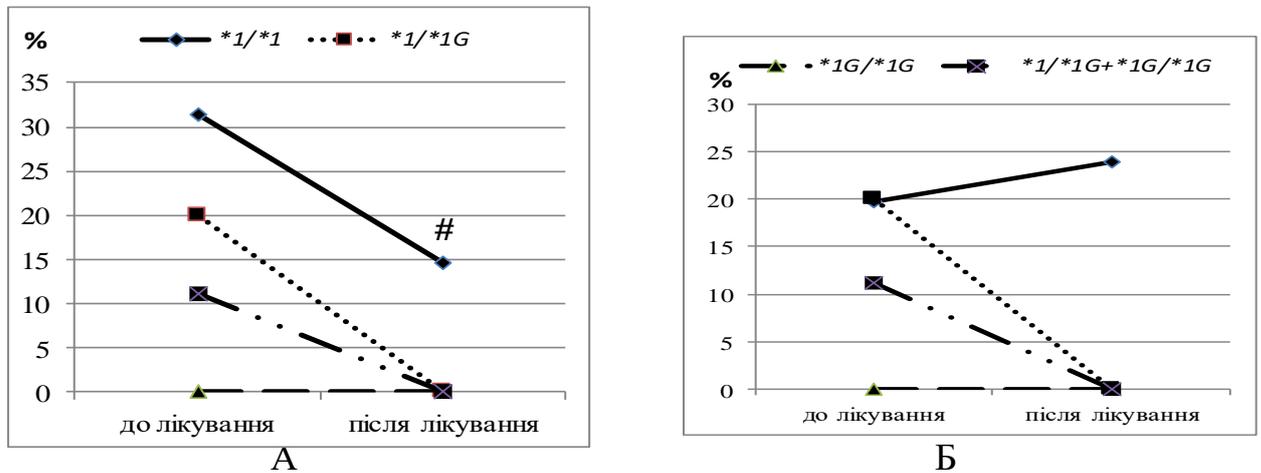
Біохімічні показники на початку лікування в залежності від генотипу CYP3A4*IG (M±SEM)

	Генотип CYP3A4*IG			
	*I/I	*I/IG	*IG/IG	*I/IG+*IG/IG
Білірубін загальний	14,67±0,53	11,93±1,40	8,70±1,42*	10,24±0,82
Тимолова проба	2,28±0,19	1,85±0,79	2,60±0,42	2,23±0,43
АлТ	23,99±1,57	22,67±4,91	22,00±3,16	22,34±1,39
АсТ	28,47±1,52	26,20±6,68	19,00±3,92	23,00±3,93
ГГФ	29,44±2,30	33,33±4,23	28,67±4,99	29,00±2,93

Примітка: * p<0,05 у порівнянні з групою *I/*I

Майже у третини носіїв генотипу «швидких метаболізаторів» спостерігалась гіпербілірубінемія; серед «помірних метаболізаторів» таких хворих було

20%, серед повільних метаболізаторів – жодного (рис. 4.7А). На початку лікування найвища активність маркерів цитолізу – ферментів АлТ і АсТ спостерігалась у «швидких метаболізаторів», найнижча – у «повільних метаболізаторів», водночас різниця була недостовірною. Близько п'ятої частини хворих мали підвищення активності АсТ і близько чверті хворих мали підвищення активності АлТ (рис. 4.8А; 4.8Б).



- $p < 0,05$ (відносно вихідного стану)

Рис 4.7. Кількість хворих з підвищеним рівнем загального білірубіну (А) та тимолової проби (Б) в крові до та після інтенсивної фази лікування

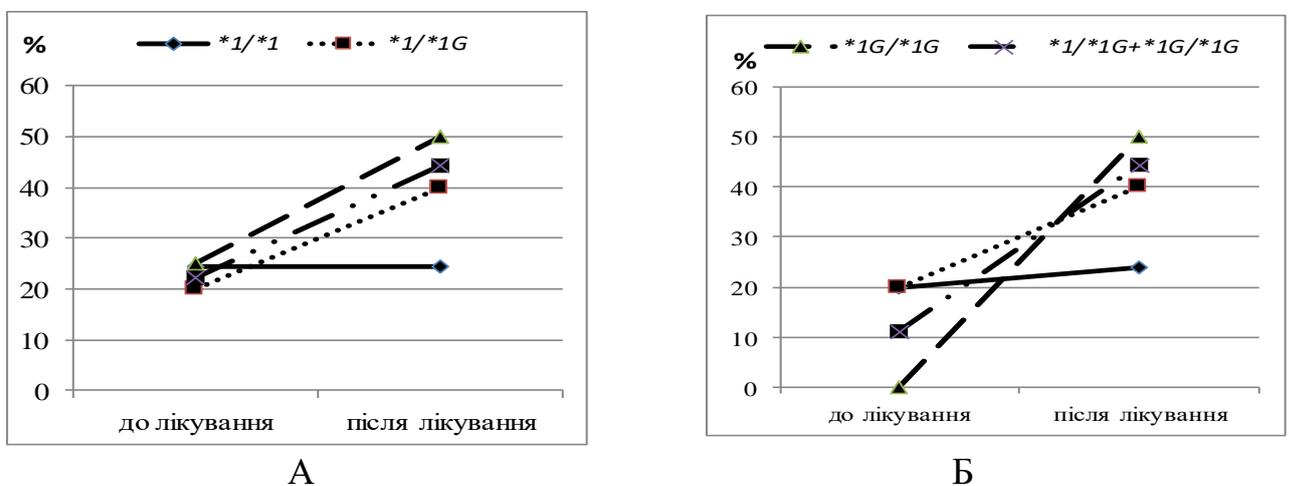


Рис 4.8. Кількість хворих з підвищеною активністю АлТ (А) та АсТ (Б) в крові до та після інтенсивної фази лікування

Кожний п'ятий хворий серед носіїв генотипу «швидких» і «помірних метаболізаторів» мали підвищену активність маркеру холестазу глутатіонтрансферази і тимолової проби, водночас серед носіїв генотипу «повільних метаболізаторів» такі хворі були відсутні. Також значних відмінностей щодо середнього рівня активності ГГТ і тимолової проби у носіїв різного генотипу **IG* не спостерігалось. Серед носіїв генотипу «швидких» і «помірних метаболізаторів» приблизно 20% хворих мали показники, що перевищували рівень норми, водночас серед «повільних метаболізаторів» такі хворі були відсутні (Рис. 4.9).

Після закінчення інтенсивної фази лікування у «швидких метаболізаторів» спостерігалось зниження вмісту загального білірубину в крові на 10,4% ($p=0,023$; $CI=-2,85...-0,21$); певне зменшення також спостерігалось у «помірних метаболізаторів» (Таблиця 4.7).

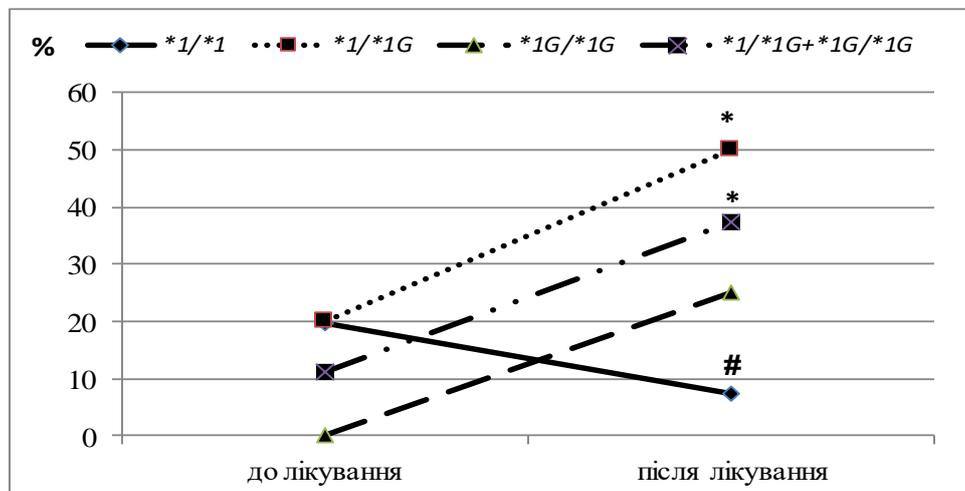
Таблиця 4.7.

Біохімічні показники під час закінчення інтенсивної фази лікування в залежності від генотипу *CYP3A4*IG* ($M \pm SEM$)

	Генотип <i>CYP3A4*IG</i>			
	<i>*I/I</i>	<i>*I/IG</i>	<i>*IG/IG</i>	<i>*I/IG+*IG/IG</i>
Білірубін загальний	13,14±0,41 #	10,80±0,89	12,88±0,67 #	11,99±0,61
Тимолова проба	2,38±0,18	1,08±0,29	1,88±0,18	1,48±0,21
АлТ	25,43±1,62	36,67±10,78	38,00±4,84 #	37,29±8,23 *#
АсТ	29,10±1,42	37,00±6,15	41,00±8,24 #	38,78±4,41*#
ГГТ	30,43±1,17	73,50±7,91*#	36,00±5,04	53,20±6,59 *#

Примітка: * - $p < 0,05$ у порівнянні з групою **I/*I*; # - $p < 0,05$ у порівнянні зі станом до лікування

Також кількість хворих з гіпербілірубінемією серед «швидких» і «помірних метаболізаторів» зменшилась відносно вихідного показника – с 31,3% до 14,6% у «швидких метаболізаторів» ($p=0,010$) і з 20% до 0 у помірних метаболізаторів ($p>0,05$) (Рис. 4.7А). Водночас у носіїв генотипу **1G/1G* середній рівень загального білірубіну збільшився в 1,5 рази ($p<0,001$; $CI=2,33...6,03$). Наприкінці інтенсивної фази лікування відбулось невірогідне зменшення показників тимолової проби у «помірних» і «повільних метаболізаторів», водночас у «швидких метаболізаторів» даний показник залишився майже без змін як за середнім рівнем, так і за кількістю хворих з перевищенням нормального показника тимолової проби – 19,8% до лікування і 24,0% після завершення лікування ($p>0,05$) (табл. 4.7; рис. 4.7Б).



- $p<0,05$ (відносно вихідного стану);

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

Рис 4.9. Кількість хворих з підвищеною активністю ГГТ в крові до та після інтенсивної фази лікування

Після проведення інтенсивної фази лікування активність маркерів цитолізу АлТ і АсТ у хворих на туберкульоз з генотипом «швидких метаболізаторів» недостовірно зросла – на 6,0% і на 2,2% ($p>0,05$). У «повільних метаболізаторів» активність АлТ і АсТ зросла на 72,7% ($p=0,033$; $CI=-30,14...-1,86$) і на 115,8% ($p=0,049$); також подвоїлась кількість хворих з

активністю АлТ і на 50% - за активністю АсТ, що перевищувала нормальний рівень, але зважаючи на відносно невелику кількість хворих з поліморфним алелем та значну похибку різниця мала недостовірний характер (табл. 4.7; рис. 4.8А і 4.8Б). Серед хворих, які були носіями мутантної алелі **IG* (генотипи **I/IG+*IG/IG*), активність АлТ і АсТ під час лікування зросла на 66,9% ($p=0,005$; $CI=-25,17...-4,73$) і 68,6% ($p=0,017$; $CI=-28,30...-3,26$); у 44,4% пацієнтів відзначалось перевищення нормального рівня АлТ і АсТ, хоча до початку лікування таких було 22,2% і 11,1% відповідно. На момент завершення інтенсивної фази лікування у носіїв мутантної алелі **IG* активність АлТ і АсТ була в 1,5 рази ($p=0,045$; $CI=-23,42...-0,30$) і 1,3 рази ($p=0,048$; $CI=-19,26...-0,10$) відповідно вище, ніж у носіїв генотипу **I/*I*.

Активність ГГТ протягом лікування у «швидких метаболізаторів» практично не змінилась, хоча кількість хворих з перевищенням граничних значень знизилась з 19,8% до 7,3% ($p=0,02$). У «помірних» і «повільних метаболізаторів» активність ГГТ зросла в 2,5 ($p=0,001$; $CI=-60,85...-19,49$) і 1,3 рази ($p>0,05$) відповідно; кількість хворих з генотипом «помірних метаболізаторів» зросла в 2,5 рази, відносно вихідного рівня ($p>0,05$) (Таблиця 5.7; Рис. 5.9). Серед «помірних метаболізаторів» середня активність ГГТ при завершенні інтенсивної фази лікування зменшилась в 2,4 рази, відносно швидких метаболізаторів ($p<0,001$; $CI=-53,79...-32,35$). Також серед носіїв генотипу «помірних метаболізаторів» випадки перевищення граничних значень ГГТ зустрічались в 6,8 разів частіше, ніж серед «швидких метаболізаторів» ($p=0,042$). Серед носіїв мутантної алелі **IG* (генотипи **I/IG+*IG/IG*) зросла активність ГГТ в 1,8 разів відносно вихідного рівня ($p=0,004$; $CI=-39,49...-8,91$), при цьому вона перевищувала аналогічний показник носіїв генотипу **I/*I* ($p<0,001$; $CI=-31,28...-14,26$). Кількість хворих, які є носіями мутантної алелі **IG* і мали підвищений рівень ГГТ перевищувала відповідний показник носіїв генотипу **I/*I* в 5,1 рази ($p<0,05$).

Отже, у носіїв генотипу **I/*I* маркери цитолізу, холестазу і детоксикаційної функції печінки не відрізнялись або дещо навіть

перевищували аналогічні показники генотипів **I/IG* і/або **IG/IG*. В результаті проведеної інтенсивної фази лікування показники цитолізу і холестазу у носіїв генотипу **I/*I* практично не змінились, водночас вони істотно зросли у носіїв генотипу **I/IG* і/або **IG/IG*.

4.3. Лабораторні показники у хворих на вперше діагностований туберкульоз легень в залежності від поєданого генотипу *CYP3A4*1B* та *CYP3A4*1G*

Лабораторні показники у хворих на ВДТБ легень в залежності від поєданого генотипу *CYP3A4*1B* та *CYP3A4*1G* були наступні. На початку лікування у хворих з генотипом **RM* кількість еритроцитів і рівень гемоглобіну були найнижчими серед трьох досліджених груп, у хворих з генотипом **SM* – найвищими, однак різниця була невірогідною ($p > 0,05$) (таблиця 4.8, рис. 4.10).

Таблиця 4.8.

Показники «червоної крові» та ШОЕ до початку та після інтенсивної фази лікування згідно поєданого генотипу *CYP3A4*1B* та *CYP3A4*1G* (Mean±SEM)

Група	n	Кількість еритроцитів, Т/л	Гемоглобін, г/л	МСНС	ШОЕ, мм/год
НА ПОЧАТКУ ЛІКУВАННЯ					
<i>*RM</i>	84	4,69±0,04	121,70±1,74	275,15±1,14	23,63±1,67
<i>*IM</i>	15	4,78±0,09	124,00±4,45	275,60±3,69	24,90±3,17
<i>*SM</i>	6	5,11±0,21	125,00±4,02	269,80±1,28	11,60±3,96
ПІСЛЯ ІНТЕНСИВНОЇ ФАЗИ ЛІКУВАННЯ					
<i>*RM</i>	84	4,69±0,05	123,96±1,56	284,57±3,14#	10,41±1,03#
<i>*IM</i>	15	4,69±0,12	124,60±5,11	291,10±6,75	13,30±2,17#
<i>*SM</i>	6	4,95±0,23	124,62±6,03	272,80±2,29	8,20±1,85

Примітка: # - $p < 0,05$ (відносно початкового рівня відповідної групи).

У носіїв генотипу **IM* відзначалась найбільш висока кількість лейкоцитів і кількість хворих з абсолютним лейкоцитозом в периферичній крові – в 2,4 рази більше, ніж серед носіїв генотипу **RM* ($p < 0,05$; $\chi^2 = 4,30$) і **SM* ($p > 0,05$); найменший рівень був у носіїв генотипу **SM* (таблиця 4.9, рис. 4.10). У носіїв генотипу **SM* спостерігався дещо вища відносна кількість лімфоцитів і кількість хворих з відносним лімфоцитозом в периферичній крові порівняно з іншими групами (таблиця 4.9, рис. 4.10). Найнижчий середній показник ШОЕ спостерігався у носіїв генотипу **SM*, при цьому кількість хворих з підвищеним ШОЕ в групі **SM* була менше від аналогічного показника носіїв генотипу **RM* і **IM* в 3,7 разів ($p < 0,05$; $\chi^2 = 5,03$) і в 4,7 разів ($p < 0,05$; $\chi^2 = 7,29$) відповідно.

Таблиця 4.9.

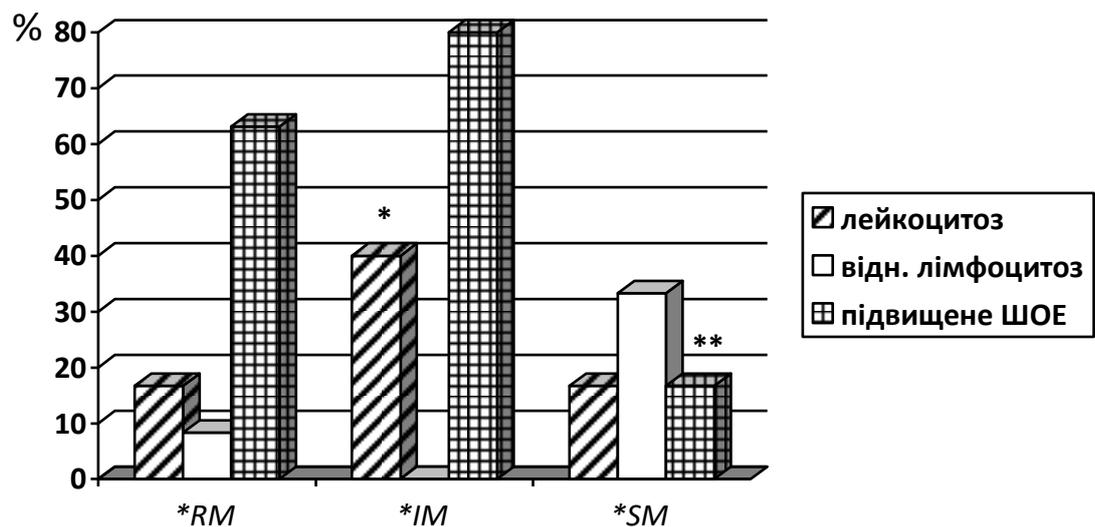
Показники «білої крові» до початку та після інтенсивної фази лікування згідно поєданого генотипу *CYP3A4*1B* та *CYP3A4*1G* (Mean±SEM)

Група	n	Кількість лейкоцитів, Г/л	Лімфоцити, %	Моноцити, %	Гранулоцити, %
НА ПОЧАТКУ ЛІКУВАННЯ					
<i>*RM</i>	84	8,40±0,25	29,78±0,90	4,84±0,15	61,36±1,88
<i>*IM</i>	15	9,04±0,63	27,67±1,76	5,35±0,41	67,03±1,75
<i>*SM</i>	6	7,27±0,88	37,22±2,43	5,62±0,55	57,10±2,86
ПІСЛЯ ІНТЕНСИВНОЇ ФАЗИ ЛІКУВАННЯ					
<i>*RM</i>	84	6,49±0,21#	37,72±1,10#	5,05±0,16	57,65±1,12
<i>*IM</i>	15	7,34±0,51#	32,33±1,86	4,84±0,29	62,80±1,54*
<i>*SM</i>	6	6,46±0,75	37,10±2,45	5,84±0,47	57,06±2,59

Примітка: * - $p < 0,05$ (відносно відповідної групи з генотипом **1/*1*);
- $p < 0,05$ (відносно початкового рівня відповідної групи).

Наприкінці інтенсивної фази лікування рівень еритроцитів у хворих на ТБ легень з генотипом **RM* практично не змінився у порівнянні з початковими показниками (таблиця 4.8), хоча у хворих з генотипом **IM*, **SM* ці показники мали тенденцію до незначного зниження ($p > 0,05$). В результаті

інтенсивної фази лікування відбулось незначне зростання МСНС в усіх групах, при чому найбільш вірогідне зростання – на 3,4% - спостерігалось у носіїв генотипу **RM* ($p < 0,005$; $CI = -16,01 \dots -2,83$). Варто додати, що 50% і 46,7% хворих з генотипами **RM* і **IM* мали нормальний рівень МСНС, водночас у всіх хворих з генотипом **SM* даний показник був нижче норми як до початку, так і після закінчення інтенсивної фази лікування.



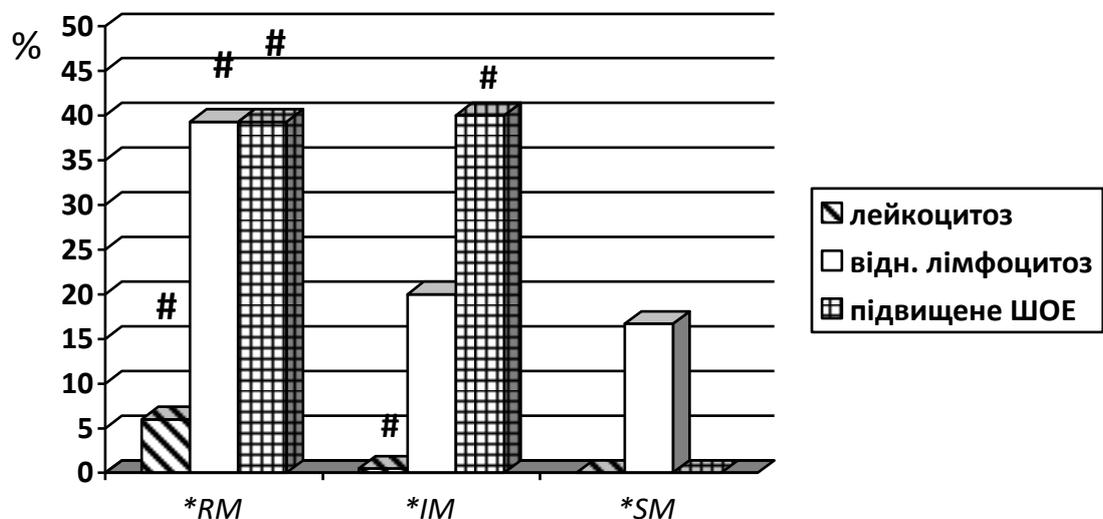
* - $p < 0,05$ - відносно **RM*; ** - $p < 0,05$ – відносно **IM*

Рис. 4.10. Кількість хворих з патологічними зсувами у периферичній крові на початку інтенсивної фази лікування згідно поєднаного генотипу *CYP3A4*1B* та *CYP3A4*1G*

Показник ШОЕ на момент закінчення інтенсивної фази лікування у носіїв генотипу «швидких метаболізаторів» (**RM*) і «помірних метаболізаторів» (**IM*) зменшився майже в 2,3 рази ($p < 0,001$; $CI = 9,35 \dots 17,09$) і 1,9 разів ($p = 0,005$; $CI = 3,74 \dots 19,46$), аналогічна тенденція спостерігалась у «повільних метаболізаторів» (**SM*), але мала не вірогідний характер ($p > 0,05$) у зв'язку з невеликою кількістю спостережень в групі і значною похибкою. Як на початку, так і при завершенні інтенсивної фази лікування найнижчий рівень ШОЕ спостерігався у носіїв генотипу **SM*. Наприкінці інтенсивної фази лікування близько 40% хворих з генотипами **RM* і **IM* мали підвищений

рівень ШОЕ, водночас серед носіїв генотипу **SM* – такі хворі були відсутні. Серед осіб з генотипами **RM* та **IM* кількість лейкоцитів в периферичній крові знизилась в 1,3 рази ($p < 0,001$; $CI = -1,26 \dots 2,56$) і 1,2 рази ($p = 0,045$; $CI = 0,04 \dots 3,36$) відповідно, кількість хворих з лейкоцитозом – майже втричі для **RM* – з 16,7% до 6,0% ($p < 0,05$; $\chi^2 = 4,81$ при критичному значенні 3,84) або повністю зникли серед **IM* ($p < 0,05$; $\chi^2 = 7,50$), при цьому аналогічні зміни спостерігались в групі **SM*, але не мали вірогідності ($p > 0,05$) (таблиця 4.9, рис. 4.11).

В результаті інтенсивної фази лікування відбулись певні зміни у лейкоцитарній формулі хворих на ТБ легень. Зокрема, в групі **RM* в 1,3 рази зріс відносний рівень лімфоцитів ($p < 0,001$; $CI = -10,74 \dots -5,14$) і збільшилась частка хворих з відносним лімфоцитозом з 8,3% до 39,3% ($p < 0,05$; $\chi^2 = 22,18$). В групі **IM* мала місце аналогічна тенденція ($p > 0,05$), водночас серед **SM* ці показники мали зворотну тенденцію, тобто до зменшення ($p > 0,05$). В результаті інтенсивної фази лікування спостерігалась тенденція до зниження відносної кількості гранулоцитів при генотипі **RM* і **IM*, при чому як на початку лікування ($P > 0,05$), так і на момент завершення лікування ($p = 0,019$; $CI = -9,44 \dots -0,86$) цей показник був більшим у **IM*, ніж у **RM*.



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

Рис. 4.11. Кількість хворих з патологічними зсувами у периферичній крові при завершенні інтенсивної фази лікування згідно поєданого генотипу *CYP3A4*1B* та *CYP3A4*1G*

Отже, на початку інтенсивної фази лікування згідно лабораторних даних найважчий перебіг туберкульозної інфекції спостерігався у носіїв генотипу **RM*, **IM* і значно легший перебіг мав місце у носіїв генотипу **SM*. Це проявлялось у меншій кількості хворих з підвищеною ШОЕ в групі **SM* і середньому показнику ШОЕ, що не перевищував граничний показник норми на відміну від носіїв генотипу **RM*, **IM*, у яких середній показник ШОЕ значно перевищував граничний показник норми, а також спостерігалась дещо вища кількість лейкоцитів, порівняно з **SM*. В результаті проведення інтенсивної фази лікування найбільш інтенсивно показники периферичної крові нормалізувались у носіїв генотипу **RM*, які у великій мірі наблизились до аналогічних показників **SM* (кількість лейкоцитів, середній рівень ШОЕ, відносна кількість лімфоцитів тощо).

Лабораторні показники функції гепатобіліарної системи у хворих на ВДТБ легень в залежності від поєданого генотипу *CYP3A4*1B* та *CYP3A4*1G* мали наступні особливості. На початку інтенсивної фази лікування найвищий рівень білірубіну спостерігався у носіїв генотипу «швидких метаболізаторів», дещо менший рівень був у «помірних» і «повільних метаболізаторів», причому у останніх він був на 79,5% нижче, ніж у «швидких метаболізаторів» ($p=0,047$) (таблиця 4.10).

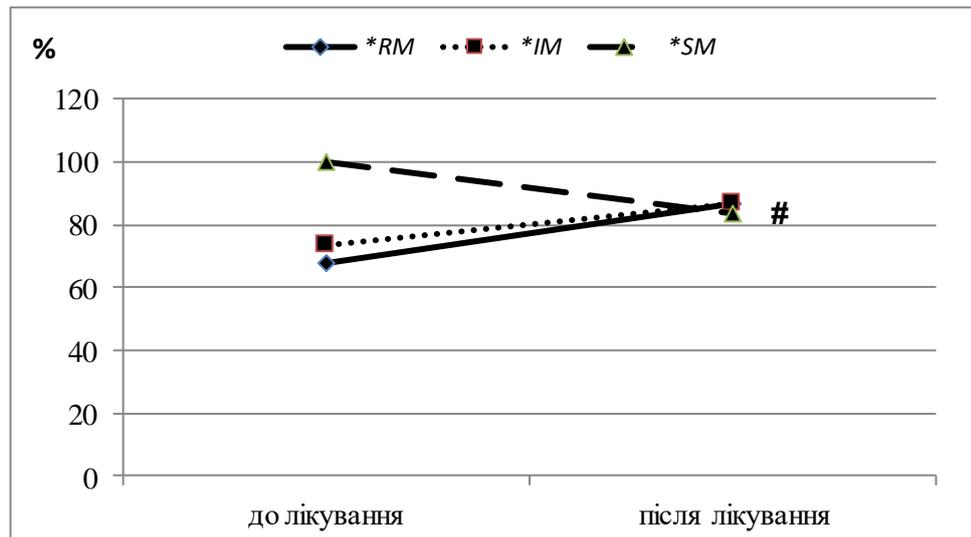
Таблиця 4.10.

Біохімічні показники на початку лікування в залежності від генотипу *CYP3A4* (M±SEM)

	Генотип <i>CYP3A4</i>		
	<i>*RM</i>	<i>*IM</i>	<i>*SM</i>
Білірубін загальний	15,65±0,71	15,68±1,53	8,72±0,50*
Тимолова проба	2,28±0,21	1,83±0,36	2,92±0,40
АлАТ	21,54±1,42	20,88±2,77	19,20±4,89
АсАТ	26,59±1,07	25,13±2,70	18,60±2,79*
ГТФ	26,04±1,37	31,00±3,39	25,25±4,03

Примітка: * - $p<0,05$ (у порівнянні з групою **RM*)

Нормальний вміст білірубину в крові спостерігався майже у двох третин носіїв генотипу «швидких метаболізаторів»; у 73,3% «помірних метаболізаторів» і у всіх носіїв генотипу «повільних метаболізаторів» (рис. 4.12). На початку лікування найвища активність маркерів цитолізу – ферментів АлТ і АсТ спостерігалась у «швидких метаболізаторів», найнижча – у «повільних метаболізаторів».



- $p < 0,05$ (відносно вихідного стану)

Рис. 4.12. Кількість хворих з нормальним вмістом білірубину в крові до та після інтенсивної фази лікування

Зокрема, початкова активність АсТ в плазмі крові носіїв генотипу «повільних метаболізаторів» була на 43,0% нижче, ніж у «швидких метаболізаторів» ($p=0,025$; $CI=1,27...18,39$). Серед «швидких метаболізаторів» близько 81%-83% на початку лікування мали нормальний рівень активності АлТ і АсТ; серед «помірних метаболізаторів» таких було 80%-87%; серед «повільних метаболізаторів» - 100% (рис. 4.13). Кожний п'ятий хворий серед носіїв генотипу «швидких» і «помірних метаболізаторів» на початку лікування мали підвищену активність маркеру холестази глутатіонтрансферази; близько 13%-17% мали підвищений рівень тимолової проби, водночас серед носіїв генотипу «повільних метаболізаторів» такі хворі були відсутні (рис. 4.14). Також значних

відмінностей щодо середнього рівня активності ГТФ і тимолової проби у носіїв різного генотипу *CYP3A4* не спостерігалось.

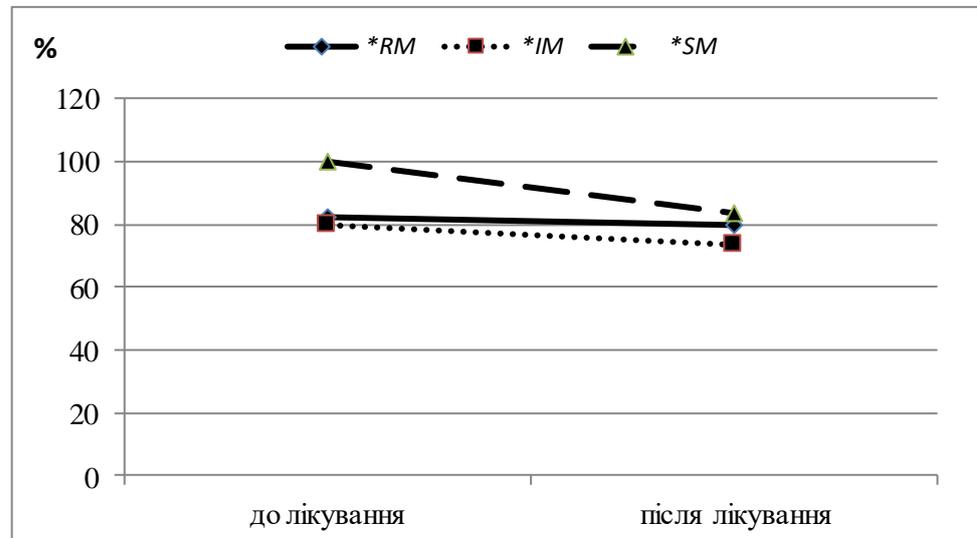
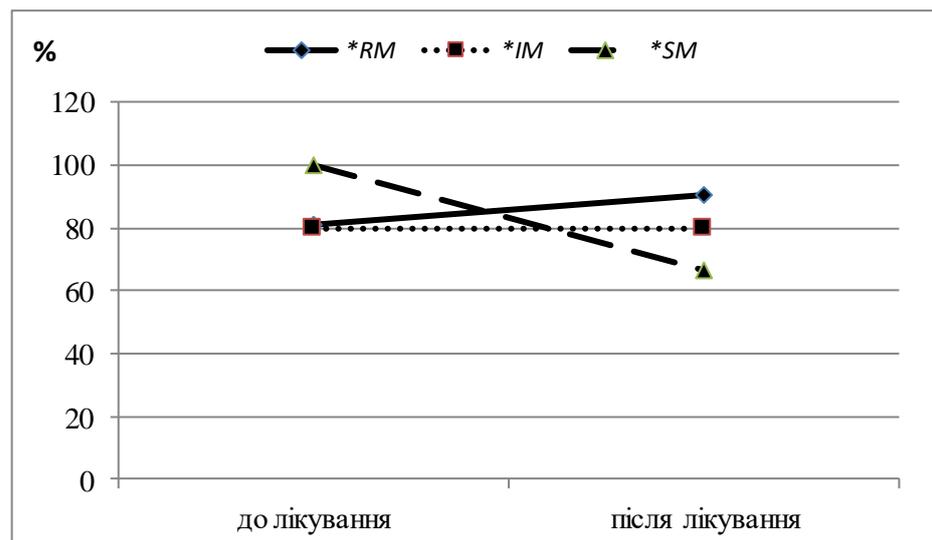


Рис. 4.13. Кількість хворих з нормальною активністю АсТ в крові до та після інтенсивної фази лікування



- $p < 0,05$ (відносно вихідного стану)

Рис. 4.14. Кількість хворих з нормальною активністю ГТФ в крові до та після інтенсивної фази лікування

Після закінчення інтенсивної фази лікування у «швидких метаболізаторів» спостерігалось зниження вмісту загального білірубину в

крові на 14,2% ($p=0,029$; $CI=0,20...3,68$); аналогічна тенденція до зменшення також спостерігалась у «помірних метаболізаторів» (Таблиця 4.11). Також кількість хворих з гіпербілірубінемією серед «швидких» і «помірних метаболізаторів» зменшилась відносно вихідного показника – с 32,1% до 13,1% у «швидких метаболізаторів» ($p<0,05$; $\chi^2=8,71$ при критичному значенні 3,84) і мала тенденцію до зниження з 26,7% до 13,3% у «помірних метаболізаторів» ($p>0,05$) (Рис. 4.12).

Таблиця 4.11.

Біохімічні показники під час закінчення інтенсивної фази лікування в залежності від генотипу *CYP3A4* ($M\pm SEM$)

	Генотип <i>CYP3A4</i>		
	<i>*RM</i>	<i>*IM</i>	<i>*SM</i>
Білірубін загальний	13,71 \pm 0,52#	12,34 \pm 1,30	12,46 \pm 0,58#
Тимолова проба	2,39 \pm 0,20	1,72 \pm 0,33	1,87 \pm 0,15#
АлТ	21,75 \pm 1,18	25,13 \pm 4,64	33,80 \pm 12,88
АсТ	29,52 \pm 1,68	29,70 \pm 3,73	37,00 \pm 6,98#
ГГТ	29,21 \pm 1,21	39,50 \pm 5,98*	36,00 \pm 5,04*

Примітка: * - $p<0,05$ у порівнянні з групою **RM*; # - $p<0,05$ у порівнянні зі станом до лікування

Водночас у носіїв генотипу «повільних метаболізаторів» спостерігали зворотню закономірність – зростання вмісту загального білірубину на 42,9% ($p<0,001$; $CI=-5,45...-2,03$).

Наприкінці інтенсивної фази лікування відбулось деяке зменшення показників тимолової проби у «помірних метаболізаторів» і «повільних метаболізаторів» - на 6,4% ($p>0,05$) і на 56,1% ($p=0,032$; $CI=0,11...1,99$), водночас у «швидких метаболізаторів» даний показник дещо зріс на 4,8% ($P>0,05$) (таблиця 4.10; 4.11).

Після проведення стаціонарного лікування активність маркерів цитолізу АлТ і АсТ у хворих на ВДТБ з генотипом «швидких» і «помірних метаболізаторів» незначно і недостовірно зросла ($p > 0,05$). У «повільних метаболізаторів» активність АсТ і АлТ зросла на 98,9% ($p = 0,034$; $CI = -35,14 \dots -1,66$) і на 76,1% ($p > 0,05$); також на 16,7% збільшилась кількість хворих з активністю АлТ і АсТ, що перевищувала нормальний рівень, але зважаючи на відносно невелику кількість хворих у цій групі та значну похибку різниця мала недостовірний характер (табл. 4.10; 4.11; рис. 4.13). Активність ГТФ протягом лікування у «швидких метаболізаторів» дещо зросла (+12,2%; $p > 0,05$), хоча кількість хворих з перевищенням граничних значень мала тенденцію до зниження - з 19,0% до 9,5% ($p > 0,05$). У «помірних» і «повільних метаболізаторів» активність ГТФ дещо збільшилась на 27,4% ($p > 0,05$) і 42,6% ($p > 0,05$) відповідно; але зважаючи на відносно невелику кількість хворих у цій групі та значну похибку різниця мала недостовірний характер. Серед «помірних» і «повільних метаболізаторів» середня активність ГТФ при завершенні інтенсивної фази лікування була на 35,2% ($p = 0,008$; $CI = -17,81 \dots -2,77$) і 23,2% ($p = 0,040$; $CI = -13,27 \dots -0,31$) вище, ніж у «швидких метаболізаторів».

Згідно отриманих даних на початку інтенсивної фази лікування, найменший рівень білірубіну спостерігався у носіїв генотипу **SM*, також в цій групі спостерігалась дещо нижча активність АлАТ, АсАТ і ГТФ, ніж у носіїв генотипу **RM* і **IM*. В результаті інтенсивної фази лікування у носіїв генотипу **RA* і **IA* спостерігалась тенденція до зниження вмісту білірубіну в крові, можливо завдяки індукції ферментів печінки, що прискорило елімінацію білірубіну, водночас активність маркерів цитолізу АлАТ, АсАТ і ГТФ мали тенденцію до зростання, особливо у носіїв генотипу **IM*. Однак найбільш інтенсивне зростання активності маркерів цитолізу спостерігалось в групі **SM*, також лише в цій групі спостерігалась тенденція до зростання рівня білірубіну в крові, що свідчило про погіршення детоксикуючої функції печінки.

Висновки до розділу 4

1. Як на початку, так і при завершенні інтенсивної фази лікування істотних відмінностей за показниками периферичної крові між носіями *AA і *AG не спостерігалось, хоча загальна тенденція свідчила про більшу виразність патологічних зсувів у носіїв генотипу *AG – дещо вищий лейкоцитоз і ШОЕ, а також нижчий рівень лімфоцитів і гемоглобіну, ніж у носіїв генотипу *AA.

2. На початку інтенсивної фази лікування носії генотипу *AG мали дещо нижчу активність маркерів цитолізу АлТ, АсТ і маркеру холестазу ГГТ, ніж носії генотипу *AA. Після проведення інтенсивної фази лікування активність маркерів цитолізу АлТ і АсТ, та маркеру холестазу ГГТ у хворих на туберкульоз з генотипом *AA недостовірно зросла – на 7,0%, на 9,3% і на 4,5% ($P > 0,05$); у хворих з генотипом *AG активність АлТ, АсТ і ГГТ навпаки мала тенденцію до зниження – на 18,7%, на 3,0% і на 9,0% відповідно ($p > 0,05$), аналогічна тенденція спостерігалась і щодо кількості хворих з підвищеним вмістом АлТ, АсТ і ГГТ. Наприкінці інтенсивної фази лікування середня активність АлТ у носіїв генотипу *AA була в 1,8 разів вища, ніж у носіїв генотипу *AG ($p = 0,046$).

3. На початку інтенсивної фази лікування лабораторні показники хворих з генотипом *I/*I свідчили про більш важкий перебіг захворювання, ніж у носіїв генотипу *IG/*IG і *I/*IG, що знайшло своє відображення у меншій кількості еритроцитів, дещо більшій ШОЕ і кількості лейкоцитів в першій групі. Водночас в результаті інтенсивної фази лікування саме у носіїв генотипу *I/*I спостерігались більш виразні процеси нормалізації – зменшенні ШОЕ, кількості лейкоцитів, зростанні кількості еритроцитів, порівняно з іншими групами. Наприклад, показник ШОЕ на момент завершення інтенсивної фази лікування у носіїв генотипу *I/*I зменшився майже в 2,2 рази ($p < 0,001$), аналогічна тенденція спостерігалась у носіїв інших генотипів, але мала не вірогідний характер ($p > 0,05$) у зв'язку з невеликою кількістю спостережень в групі і значною похибкою. Наприкінці

інтенсивної фази лікування понад 40% хворих з генотипом **I/*I* мали підвищений рівень ШОЕ, водночас серед носіїв генотипу **IG/*IG* – такі хворі були відсутні.

4. У носіїв генотипу **I/*I* маркери цитолізу, холестазу і детоксикаційної функції печінки не відрізнялись або дещо навіть перевищували аналогічні показники генотипів **I/IG* і/або **IG/IG*. В результаті проведеного стаціонарного лікування показники цитолізу і холестазу у носіїв генотипу **I/*I* практично не змінились, водночас вони істотно зросли у носіїв генотипу **I/IG* і/або **IG/IG*. Наприклад, після закінчення інтенсивної фази лікування у носіїв генотипу **I/*I* спостерігалось зниження вмісту загального білірубіну в крові на 10,4% відносно початкового рівня ($p=0,023$), водночас у носіїв генотипу **IG/IG* середній рівень загального білірубіну збільшився в 1,5 рази ($p<0,001$). Після проведення стаціонарного лікування активність маркерів цитолізу АлТ і АсТ у хворих на туберкульоз з генотипом **I/*I* недостовірно зросла – на 6,0% і на 2,2% ($p>0,05$), водночас у носіїв генотипу **IG/IG* активність АлТ і АсТ зросла на 72,7% ($p=0,033$) і на 115,8% ($p=0,049$).

5. На початку інтенсивної фази лікування згідно лабораторних даних найважчий перебіг туберкульозної інфекції спостерігався у носіїв генотипу **RM*, **IM* і значно легший перебіг мав місце у носіїв генотипу **SM*. У носіїв генотипу **IM* відзначалась найбільш висока кількість лейкоцитів і кількість хворих з абсолютним лейкоцитозом в периферичній крові – в 2,4 рази більше, ніж серед носіїв генотипу **RM* ($p<0,05$) і **SM* ($p>0,05$). Найнижчий середній показник ШОЕ спостерігався у носіїв генотипу **SM*, при цьому кількість хворих з підвищеним ШОЕ в групі **SM* була менше від аналогічного показника носіїв генотипу **RM* і **IM* в 3,7 разів ($p<0,05$) і в 4,7 разів ($p<0,05$) відповідно. При цьому в групі **SM* середній показник ШОЕ не перевищував граничний показник норми на відміну від носіїв генотипу **RM*, **IM*. В результаті проведення інтенсивної фази лікування найбільш інтенсивно показники периферичної крові нормалізувались у носіїв генотипу

**RM*, які у великій мірі наблизились до аналогічних показників **SM* (кількість лейкоцитів, середній рівень ШОЕ, відносна кількість лімфоцитів тощо).

6. Згідно отриманих даних на початку інтенсивної фази лікування, найменший рівень білірубину спостерігався у носіїв генотипу **SM* (8,72 мкмоль/л проти 15,65 і 15,68 в групі **RM* і **IM* відповідно, $p < 0,05$), також в цій групі спостерігалася дещо нижча активність АлТ, АсТ і ГТФ, ніж у носіїв генотипу **RM* і **IM*. В результаті стаціонарного лікування у носіїв генотипу **RM* і **IM* спостерігалось деяке зниження вмісту білірубину в крові – на 14,2% ($p < 0,05$) і на 27,1% ($p > 0,05$) відповідно, водночас в групі генотипу **SM* вміст білірубину зріс на 42,9% ($p < 0,05$). Водночас активність маркерів цитолізу АлТ, АсТ і ГТФ мали тенденцію до зростання як в групі **RM*, так і особливо у носіїв генотипу **IM*. Однак найбільш інтенсивне зростання активності маркерів цитолізу спостерігалось в групі **SM*, зокрема активність АсТ і АлТ зросла на 98,9% ($p = 0,034$) і на 76,1% ($p > 0,05$).

Результати досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Полуденко Г.О. Визначення генотипу *CYP3A4* як імовірного маркера гепато-токсичності протитуберкульозної терапії. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2021. Т.15, № 4. С. 266-273 <https://doi.org/10.33250/15.04.266>

2. Полуденко Г.О., Антоненко П.Б., Антоненко К.О., Макаренко О.В. Поліморфізм гена *CYP3A4*1G* як предиктор гепатотоксичності протитуберкульозної терапії. *Медичні перспективи*. 2022. Т.27, №1. С. 97-103. <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2022.1.254369> (Особистий внесок – брала участь у плануванні дослідження, формуванні огляду літератури, проведенні збору, обробки та узагальнення отриманих експериментальних даних).

3. Полуденко Г.О. Поліморфізм *CYP3A4 *1B* у хворих на туберкульоз як предиктор гепатотоксичності. *Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини: тези доп. міжнар. наук. конф. студентів та молодих*

вчених, присвяченої 100-річчю з дня народження С.І. Корхова, Одеса, 19-20 квітня 2018 р., Одеса, 2018. С. 63.

4. Полуденко Г.О. Значення поліморфізму гену *CYP3A4*1G* у прогнозуванні гепатоксичності протитуберкульозної терапії. Modern approach of experimental and preclinical pharmacology: матеріали міжнар. дистанційної наук.-практ. конф., Харків, 19 лютого 2021 р., Харків, НФУ, 2021. С. 160.

5. Antonenko P.B., Poludenko H.O., Antonenko K.O., Rozkovsky Ya.V., Kresyun V.Y. CYP3A4*1G polymorphism as a predictor of hepatotoxicity during anti-TB treatment. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Diseases*. 2021. Vol. 25, N 10 (suppl. 2). – S. 97. (abstracts 52nd World Conference on Lung Health of the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease (The Union). Virtual event, 19-22 October 2021).

6. Poludenko H.O., Antonenko P.B., Antonenko K.O. Detection of two loci of *CYP3A4* as a predictor of the hepatotoxicity during tuberculosis treatment. *Pharmaceutical and clinical research: presentation of International webinar*, November, 16, 2022, Scientex conferences, 2022. P. 12.

РОЗДІЛ 5

ПЕРЕБІГ ВПЕРШЕ ДІАГНОСТОВАНОГО ТУБЕРКУЛЬОЗУ ЛЕГЕНЬ В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ГЕНЕТИЧНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ ПРОЦЕСІВ БІОТРАНСФОРМАЦІЇ ХВОРИХ

5.1. Вміст рифампіцину та ізоніазиду в крові в залежності від генотипу *CYP3A4*

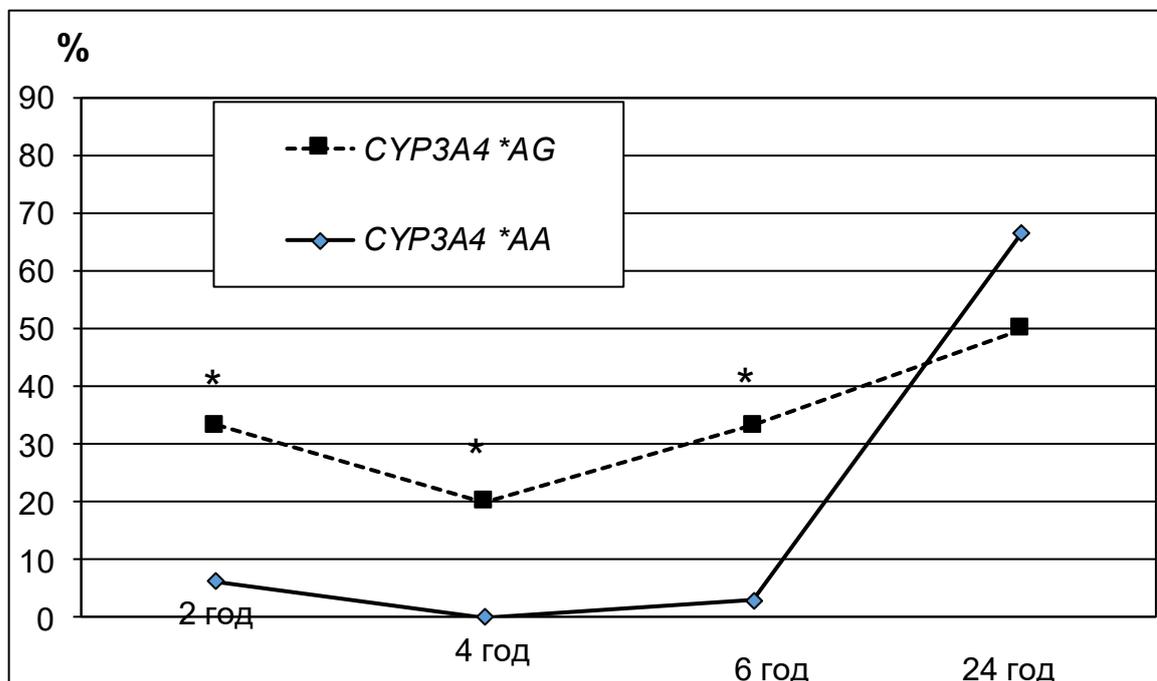
Згідно отриманих даних достовірних відмінностей у концентрації рифампіцину у хворих на ВДТБ легень стосовно поліморфізму *CYP3A4* **IB* не було відзначено (таблиця 5.1). Водночас у носіїв генотипу **AA* спостерігалась дещо вище концентрація рифампіцину, ніж у носіїв генотипу **AG*. Можливо це пов'язано з відсутністю носіїв варіантного алелю в гомозиготному стані (**GG*), в якого зазвичай відзначається найнижча ферментативна активність. З іншого боку, отримані дані співпадають з літературними даними щодо невизначеної ролі поліморфізму гену *CYP3A4* **IB* для ферментативної активності *CYP3A4* [62]. Подальші дослідження мають з'ясувати значення поліморфізму інших генів, зокрема *CYP3A4* **IG* для виникнення туберкульозу і концентрації рифампіцину в крові хворих на ВДТБ.

Табл. 5.1.

Концентрація рифампіцину в крові хворих на вперше діагностований туберкульоз з урахуванням поліморфізму *CYP3A4***IB*

Генотип <i>CYP3A4</i> * <i>IB</i>	Концентрація рифампіцину в крові (мг/кг) після введення (Mean±SED)			
	2 год.	4 год.	6 год.	24 год.
* <i>AA</i> (n=37)	11,79±2,53	16,25±3,92	11,01±2,04	7,26±1,60
* <i>AG</i> (n=6)	11,05±0,48	15,03±0,97	9,50±0,64	6,79±1,20

Було обраховано відсоток хворих з різними генотипами *CYP3A4*1B*, у яких концентрація рифампіцину була нижчою від мінімальної терапевтичної концентрації (рис. 5.1). Протягом 2-6 год. до 7% хворих з генотипом *AA мали концентрацію нижчу, від мінімальної рекомендованої; через добу після введення рифампіцину в цій групі близько дві третини мали субтерапевтичну концентрацію препарату. У носіїв генотипу *AG кількість хворих з субтерапевтичною концентрацією коливалась від 20% через 4 год після введення до 50% через добу після введення, причому кількість хворих з генотипом *AG через 2 год після введення в 5 разів частіше мали субтерапевтичну концентрацію, ніж носії генотипу *AA ($\chi^2=3,94$, при критичному значенні $\chi^2=3,84$; $p<0,05$); через 4 год – на 20% частіше ($\chi^2=6,58$; $p<0,05$); через 6 год – майже в 10 разів частіше ($\chi^2=6,57$; $p<0,05$).



* - $p<0,05$ (відносно генотипу *AA)

Рис. 5.1. Кількість хворих, що не досягала рекомендованої концентрації рифампіцину в крові хворих на ВДТБ легень через різні проміжки часу після прийому препарату в залежності від генотипу *CYP3A4*1B*

Це досить неочікувано, оскільки носії генотипу *AG (помірного типу метаболізму) згідно поліморфізму гена *CYP3A4*1B* ймовірно мають

уповільнений метаболізм деяких препаратів. Одним з таких факторів, що ускладнює оцінку впливу генотипу в даному дослідженні є відсутність хворих-носіїв мутантних алелів в гомозиготному стані («повільних метаболізаторів», *GG). Протиріччя отриманих результатів також можливо пов'язані з іншими фармакогенетичними і фармакокінетичними факторами, що асоціюються з генотипом *CYP3A4*1B*. Це може бути: вміст ізоніазиду, оскільки відомо, що ця сполука є інгібітором низки мікосомальних ферментів родини цитохромів, включаючи і *CYP3A4* [36]. Тому швидкість біотрансформації ізоніазиду (головним чином шляхом ацетилювання) може визначати активність цитохромів, які метаболізують в тому числі і рифампіцин. Гальмуючою дією ізоніазиду на ферменти родини цитохромів можна пояснити досягнення максимальної концентрації рифампіцину в крові лише к 4 год, хоча згідно довідкових даних пік має відзначатись через 2-2,5 год [95].

Згідно отриманих даних достовірних відмінностей у концентрації ізоніазиду у хворих на ТБ легень стосовно поліморфізму *CYP3A4 *1B* не було відзначено (таблиця 5.2). Водночас у носіїв генотипу *AA спостерігалась дещо вище концентрація ізоніазиду в крові, ніж у носіїв генотипу *AG. Важко в повному об'ємі оцінити вплив поліморфізму *CYP3A4 *1B*, оскільки відсутніми були носії генотипу *GG, в якого ймовірно присутня найнижча ферментативна активність. Отримані дані щодо концентрації ізоніазиду в крові з урахуванням поліморфізму *CYP3A4 *1B* є співзвучними з даними концентрації рифампіцину в крові і також можуть бути частково поясненими з літературними даними щодо невизначеної ролі поліморфізму гену *CYP3A4 *1B* для ферментативної активності *CYP3A4* [62]. Також ймовірно що серед носіїв генотипу *AG частіше зустрічались «швидкі/помірні ацетилятори», ніж серед носіїв генотипу *AA, оскільки саме реакція ацетилювання ізоніазиду є визначальною для біотрансформації ізоніазиду [37].

Концентрація ізоніазиду в крові хворих на вперше діагностований туберкульоз з урахуванням поліморфізму *CYP3A4*1B*

Генотип <i>CYP3A4*1B</i>	Концентрація ізоніазиду в крові (мг/кг) після введення (Mean±SED)			
	2 год.	4 год.	6 год.	24 год.
*AA (n=37)	4,16±0,20	2,57±0,23	1,34±0,19	0,18±0,06
*AG (n=6)	4,06±0,44	2,16±0,42	0,88±0,21	<0,023

Було обраховано відсоток хворих з різними генотипами *CYP3A4*1B*, у яких концентрація ізоніазиду була нижчою від мінімальної терапевтичної концентрації, яка має перебувати в діапазоні 0,5-2,0 мг/кг [96] (рис. 5.2).

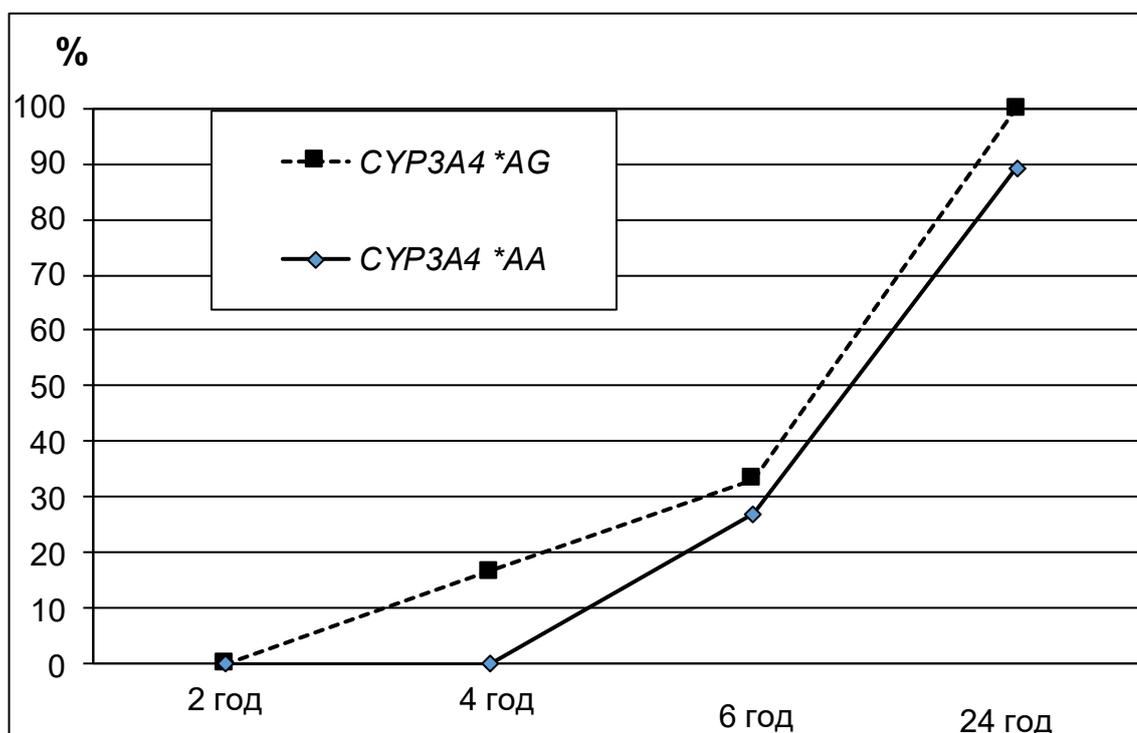


Рис. 5.2. Кількість хворих, що не досягла рекомендованої концентрації ізоніазиду в крові хворих на ВДТБ легень через різні проміжки часу після прийому препарату в залежності від генотипу *CYP3A4*1B*

Протягом перших чотирьох годин після прийому ізоніазиду всі хворі з генотипом *AA мали концентрацію препарату в крові в межах терапевтичної концентрації, у носіїв генотипу *AG вже через 4 год з'явилися хворі з субтерапевтичною концентрацією в крові. Через 6 год. після прийому препарату близько третини хворих в обох групах мали субефективну концентрацію, а через добу – практичні всі хворі мали субефективну концентрацію в крові, лише серед носіїв генотипу *AA 10,8% зберігали терапевтичну концентрацію ізоніазиду в крові. Отже, тенденція до більш високого вмісту ізоніазиду в крові хворих з генотипом *AA, ніж у носіїв генотипу *AG, була підтверджена при розрахунку кількості хворих з субтерапевтичною концентрацією ізоніазиду в крові.

На жаль, серед 43 хворих, у яких було визначено концентрацію ізоніазиду і рифампіцину в крові, лише одна особа мала генотип *1/*1G, решта – мала генотип *1/*1, тому визначити вплив поліморфізму *CYP3A4*1G* на концентрацію ізоніазиду і рифампіцину в межах даної роботи не було можливим.

5.2. Вміст рифампіцину в крові в залежності від поєданого поліморфізму *CYP2C9* і *CYP2C19*

Відповідно до генотипу *CYP2C9* зі 111 здорових донорів (контрольна група) 76,6% індивідів були носіями гомозиготного дикого типу гену *CYP2C9*1/*1* (табл. 5.3). Решта хворих – 19,8% і 3,6% - були носіями гетерозиготного генотипу (*CYP2C9*1/*2* або *CYP2C9*1/*3*) і гомозиготного мутантного типу гену (*CYP2C9*2/*3* або *CYP2C9*3/*3*). У подальшому для зручності згідно генотипу *CYP2C9* було виділено хворих, які були немутованими гомозиготами (*1/*1) («швидкі метаболізатори», *RM*), хворих, які були гетерозиготами (*1/*2, *1/*3) («помірні метаболізатори», *IM*), і хворих, які були мутованими гомозиготами (*2/*3, *3/*3) («повільні метаболізатори», *SM*). Згідно до генотипу *CYP2C19* зі 111 здорових донорів

(контрольна група) 80,4% індивідів були носіями гомозиготного дикого типу гену *CYP2C19*1/*1* («швидкі метаболізатори», *RM*) (таблиця 5.3). Решта хворих – 19,68% - були носіями гетерозиготного генотипу (*CYP2C19*1/*2*) («помірні метаболізатори», *IM*).

Таблиця 5.3.

Поліморфізм генотипу *CYP2C19* і *CYP2C9* серед здорових донорів (%)

Генотип <i>CYP2C9</i> (n=111)		
<i>*1/*1</i>	<i>*1/*2, *1/*3</i>	<i>*2/*3, *3/*3</i>
76,6 (85)	19,8 (22)	3,6 (4)
Генотип <i>CYP2C19</i> (n=111)		
<i>*1/*1</i>	<i>*1/*2</i>	<i>*2/*2</i>
80,4 (90)	19,6 (21)	0 (0)

Відповідно до генотипу *CYP2C9* зі 42 хворих на туберкульоз 64,3% індивідів були носіями гомозиготного дикого типу гену *CYP2C9*1/*1* («швидкі метаболізатори», *RM*) (таблиця 5.4). Решта хворих – 28,6% і 7,1% - були носіями гетерозиготного гена *CYP2C9*1/*2* і **1/*3* («помірні метаболізатори», *IM*) і гомозиготного варіантного типу гену (*CYP2C9*2/*3* і **3/*3*) («повільні метаболізатори», *SM*) відповідно. Згідно до дослідженого генотипу *CYP2C19* з 42 хворих на туберкульоз 73,8% індивідів були носіями гомозиготного дикого типу гену *CYP2C19*1/*1* («швидкі метаболізатори», *RM*) (таблиця 5.4). Решта хворих – 26,2% - були носіями гетерозиготного гена *CYP2C19*1/*2* («помірні метаболізатори», *IM*).

Більшість здорових донорів – 63,1% - не мали жодного варіантного алелю в генах *CYP2C9* і *2C19* (*RM+RM*), водночас серед хворих на туберкульоз таких носіїв було в 1,7 разів менше (38,1%; $p=0,009$; $\chi^2=6,736$) (таблиця 5.5). Водночас більша частина хворих на туберкульоз мали один варіантний алель в генах *CYP2C9* і *2C19* (*RM+IM*; *IM+RM*) – 54,8%, що перевищувало аналогічний показник у здорових донорів майже в 2 рази

(27,9%; $p=0,003$; $\chi^2=8,687$). Близько 7-9% мали два варіативні алелі *CYP2C9* і *2C19* (*SM+RM*; *IM+IM*).

Таблиця 5.4.

Поліморфізм генотипу *CYP2C19* і *CYP2C9* серед хворих на ВДТБ (%)

Генотип <i>CYP2C9</i> (n=42)		
<i>*1/*1</i>	<i>*1/*2, *1/*3</i>	<i>*2/*3, *3/*3</i>
64,3 (27)	28,6 (12)	7,1 (3)
Генотип <i>CYP2C19</i> (n=42)		
<i>*1/*1</i>	<i>*1/*2</i>	<i>*2/*2</i>
73,8 (31)	26,2 (11)	-

Таблиця 4.5.

Комбінований поліморфізм гомологів *CYP2C9* і *CYP2C19* у здорових людей (контроль) і хворих на ВДТБ легень

Генотип <i>CYP2C9</i>	Генотип <i>CYP2C19</i>	Контроль, n=111	Хворі на туберкульоз, n=42
<i>*1/*1 (RM)</i>	<i>*1/*1 (RM)</i>	63,1 (70)	38,1 (16)*
<i>RM+IM; IM+RM</i>		27,9 (31)	54,8 (23)*
<i>*1/*1 (RM)</i>	<i>*1/*2, *1/*3 (IM)</i>	13,5 (15)	26,2 (11)
<i>*1/*2, *1/*3 (IM)</i>	<i>*1/*1 (RM)</i>	14,4 (16)	28,6 (12)
<i>SM+RM; IM+IM</i>		9,0 (10)	7,1 (3)
<i>*1/*2, *1/*3 (IM)</i>	<i>*1/*2 (IM)</i>	5,4 (6)	-
<i>*2/*2, *2/*3, *3/*3 (SM)</i>	<i>*1/*1 (RM)</i>	4,6 (4)	7,1 (3)

Примітка: * - $p<0,05$ відносно контрольної групи

Протягом доби після введення вміст рифампіцину в крові дещо був вищим у хворих на туберкульоз з наявністю двох варіантних алелей ($SM+RM$), ніж у носіїв інших генотипів (таблиця 5.6).

Таблиця 5.6.

Концентрація рифампіцину у хворих на ВДТБ в залежності від комбінації генотипу *CYP2C9* і *CYP2C19* (год.)

Генотип <i>CYP2C9</i>	Генотип <i>CYP2C19</i>	N	Концентрація рифампіцину в крові через			
			2 год.	4 год.	6 год.	24 год.
<i>RM</i>	<i>RM</i>	16	11,68±0,68	17,19±0,85	10,85±0,45	7,89±0,26
<i>RM+IM, IM+RM</i>		23	11,74±0,47	15,44±0,78	10,50±0,39	6,60±0,30*
<i>SM</i>	<i>RM</i>	3	12,17±2,03	17,79±3,16	12,50±1,13	9,65±1,69**

Примітка: * - $p < 0,05$ відносно групи $RM+RM$;

** - $p < 0,05$ відносно групи $RM+IM$ і $IM+RM$

Однак лише через добу ця різниця стала вірогідною – рівень рифампіцину при генотипі ($SM+RM$) був на 46,2% вище, ніж при генотипі $RM+IM$, $IM+RM$ ($p=0,005$; $CI=-5,10\dots-1,00$), і на 22,3% вище, ніж при генотипі $RM+RM$ ($p=0,062$; $CI=-3,51\dots-0,01$). Дещо несподіваним був нижчий рівень вмісту рифампіцину через 24 год. в крові хворих на ВДТБ з генотипом $RM+IM$, $IM+RM$, ніж у носіїв з генотипом $RM+RM$ без жодної варіантної алелі (-19,5%; $p=0,012$; $CI=0,3\dots2,28$), оскільки наявність варіативних алелей має знижувати ферментативну активність, уповільнювати метаболізм ліків і сприяти зростанню концентрації препаратів в крові. Протиріччя отриманих результатів також можливо пов'язані з іншими фармакогенетичними і фармакокінетичними факторами, що асоціюються з генотипом *CYP2C19* і *2C9*. Це може бути вміст ізоніазиду, оскільки відомо, що ця сполука є можливим інгібітором мікросомальних ферментів родини цитохромів, включаючи і *CYP2C19* і *2C9* [42]. Тому швидкість біотрансформації ізоніазиду (головним чином шляхом ацетилювання) може визначати

активність цитохромів, які метаболізують в тому числі і рифампіцин. Гальмуючою дією ізоніазиду на ферменти родини цитохромів можна пояснити досягнення максимальної концентрації рифампіцину в крові лише до 4 год., хоча пік має відзначатись через 2-2,5 год.

В усіх групах хворих на туберкульоз, крім носіїв генотипу *SM+RM*, середній вміст рифампіцину протягом доби після прийому препарату був нижче терапевтичної концентрації (>8 мкг/мл).

Було обраховано відсоток хворих з різним генотипом *CYP2C19* і *2C9*, концентрація рифампіцину у яких була нижчою від мінімальної терапевтичної концентрації (8 мкг/мл) (рис. 5.3).

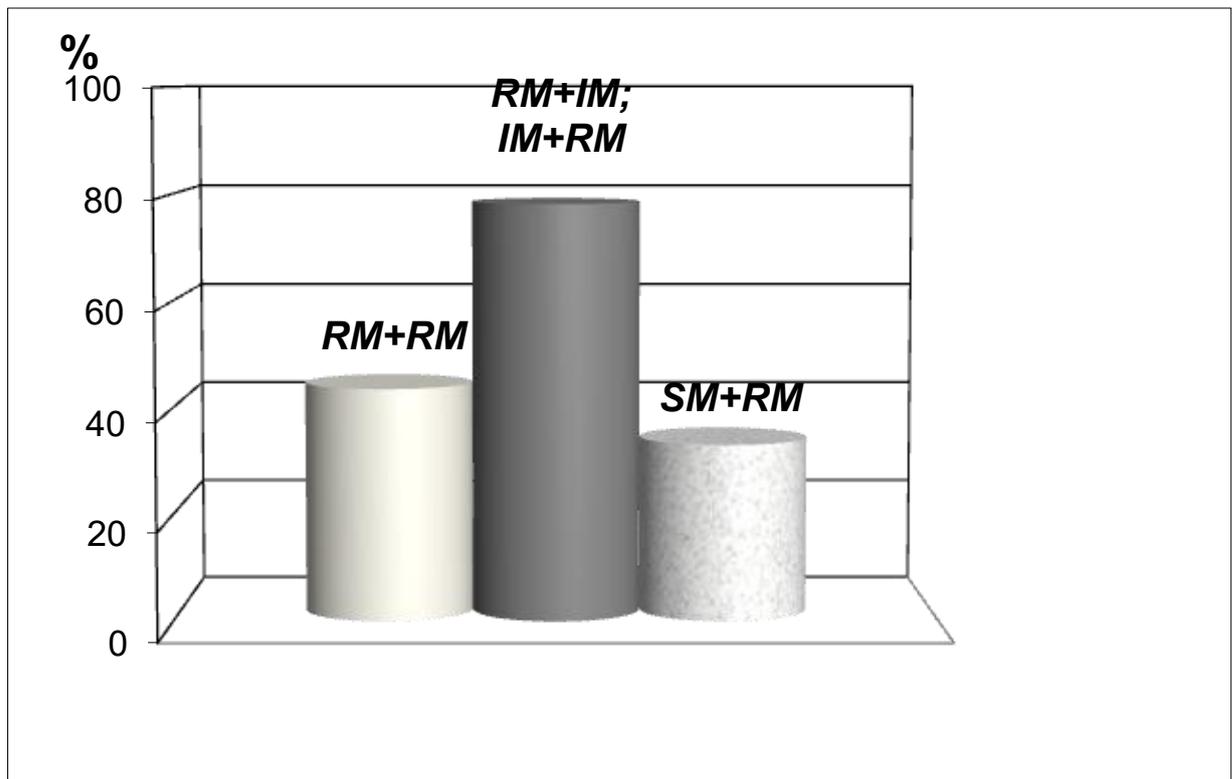


Рис. 5.3. Кількість хворих на ВДТБ, що не досягала рекомендованої концентрації рифампіцину в крові через 24 год. після прийому препарату в залежності від комбінації генотипів *CYP2C19* і *CYP2C9*

Через 24 год. після прийому рифампіцину найменша кількість випадків субефективної концентрації – 33,3% - спостерігалась у хворих з генотипом *SM+RM* проти 43,8% у носіїв генотипу *RM+RM* і 78,3% у хворих з комбінацією *RM+IM*; *IM+RM*. Різниця між останніми двома групами була близькою до статистичної вірогідності ($p=0,061$; $\chi^2=3,499$). Наведені дані є співзвучними до даних, наведених в таблиці 5.6.

Отже, серед хворих на туберкульоз майже в 2 рази частіше зустрічались носії генотипу *CYP2C9* і *2C19* (*RM+IM*; *IM+RM*), ніж в контрольній групі (54,8% проти 27,9%; $p=0,003$; $\chi^2=8,687$). Найвищий рівень рифампіцину в крові через добу після введення і найменша кількість випадків субефективної концентрації рифампіцину спостерігався у носіїв генотипу *CYP2C9* і *2C19* (*SM+RM*).

5.3. Вплив лікування вперше діагностованого туберкульозу легень в залежності від генотипу *CYP3A4*1B*

На початку стаціонарного лікування процеси деструкції спостерігались приблизно у 45,8 % «швидких метаболізаторів» (генотип **AA*) і більш, ніж у половини «помірних метаболізаторів» - 55,6% (генотип **AG*) (таблиця 5.7). Близько 40% і 22% носіїв генотипу **AA* і **AG* відповідно мали ураження обох легень. Згідно клінічної форми, дисемінація туберкульозного процесу спостерігалась у 29,1% носіїв генотипу **AA* і лише у 11,1 % індивідів з генотипом **AG*. У більшості швидких і помірних метаболізаторів відзначалась інфільтративна форма туберкульозного процесу, причому у перших вона зустрічалась в 61,5% випадках, у других – в 88,9% ($p>0,05$) (рис. 5.4). Вогнищева форма зустрічалась лише у 9,4% хворих з генотипом **AA* і взагалі була відсутня серед носіїв генотипу **AG*.

Серед носіїв генотипу **AA* процеси розпаду і обсіменіння мали місце у 13,5% і 32,3% відповідно. В той же час серед хворих з генотипом **AG* вказані процеси спостерігались у 44,4% і 44,4% пацієнтів відповідно (таблиця 5.8).

Таблиця 5.7.

Характеристика туберкульозного процесу в залежності від генотипу *CYP3A4*1B*

Характеристика туберкульозного процесу		На початку лікування, (%)		Наприкінці інтенсивної фази лікування, (%)	
		*AA, n=96	*AG, n=9	*AA, n=96	*AG, n=9
Поширення	обидві легені	38 (39,6)	2 (34,8)	37 (38,5)	3 (33,3)
	частини легені	58 (60,4)	7 (77,8)	59 (61,5)	6 (66,7)
Деструкція	є	44 (45,8)	5 (55,6)	22 (22,9) #	2 (22,2)
	нема	52 (54,2)	4 (44,4)	74 (77,1)	7 (77,8)

Примітка: # - $p < 0,05$ (відносно вихідного рівня відповідної групи)

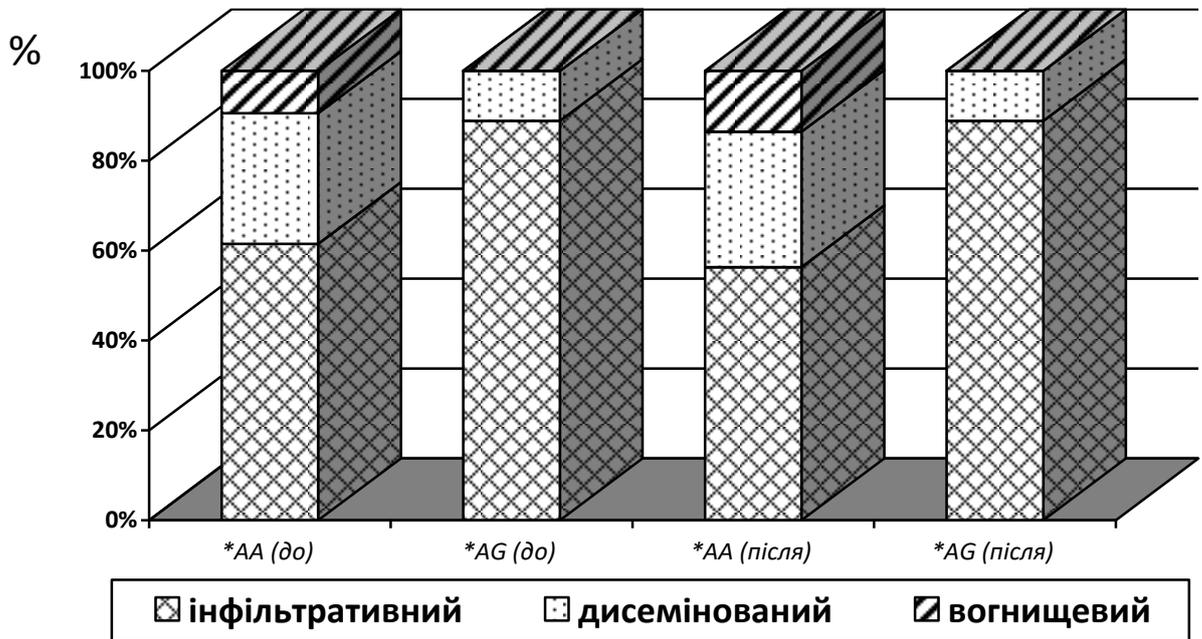


Рис. 5.4. Характер ураження легень з урахуванням генотипу *CYP3A4*1B* на початку (до) і наприкінці (після) інтенсивної фази лікування

Отже, серед носіїв генотипу *AG процеси розпаду зустрічались в 3,3 рази частіше, ніж у носіїв генотипів *AA ($p < 0,05$; $\chi^2 = 5,79$ при критичному значенні $\chi^2 = 3,84$ тут і далі). Натомість процеси інфільтрації найбільше

зустрічались у осіб з генотипом *AA – 54,2%, що майже в 4,9 разів частіше, ніж у хворих з генотипом *AG – 11,1 % ($p < 0,05$; $\chi^2 = 6,10$).

Таблиця 5.8.

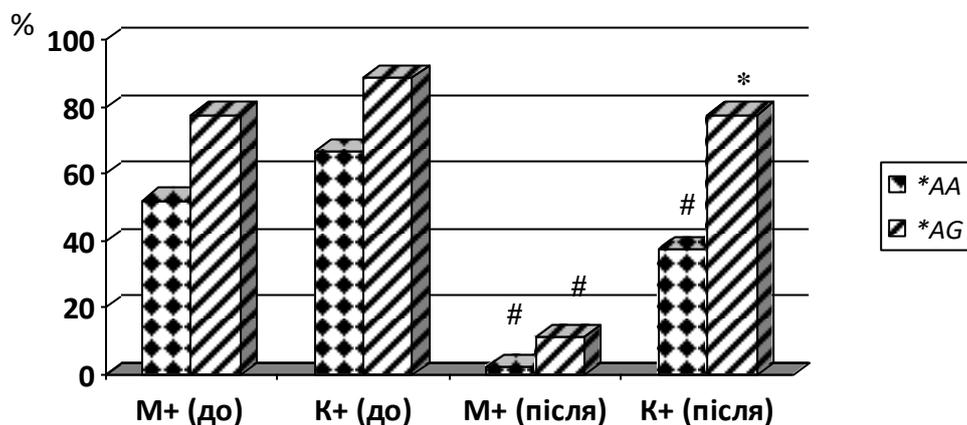
Характеристика туберкульозного процесу в залежності від генотипу *CYP3A4*1B* (продовження)

Характеристика туберкульозного процесу		На початку лікування, (%)		Наприкінці інтенсивної фази лікування, (%)	
		*AA, n=96	*AG, n=9	*AA, n=96	*AG, n=9
Стадія ураження	інфільтрація	52 (54,2)	1 (11,1)*	9 (9,4)#	-
	розпад	13 (13,5)	4 (44,4)*	-#	-#
	обсіменіння	31 (32,3)	4 (44,4)	9 (9,4)#	3 (33,3)*
	розсмоктування	-	-	78 (81,2)#	6 (66,7)#

Примітки:

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

На початку інтенсивної фази лікування близько половини носіїв генотипу *AA за даними мікроскопії мали бактеріовиділення, водночас за наявності генотипу *AG ця ознака зустрічалась в 77,8% (рис. 5.5).



* - $p < 0,05$ (відносно хворих з генотипом *AA)

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

Рис. 5.5. Кількість хворих, які виділяли збудника туберкульозу згідно бактеріоскопії (M+) або культурального методу (K+) залежно від генотипу *CYP3A4*1B* на початку (до) або наприкінці (після) інтенсивної фази лікування

Згідно посіву більшість хворих - 66,7 % «швидких» і 88,9 % «помірних метаболізаторів» виділяли збудника туберкульозу. Таким чином, на початку лікування хворі, які мали генотип *AG дещо частіше мали явища деструкції і розпаду в легеневій тканині, ніж носії генотипу *AA. Тривалість стаціонарного лікування була найбільшою у хворих з генотипом *AA і становила $95,41 \pm 5,04$ дня. У пацієнтів з генотипом *AG амбулаторне лікування було дещо коротшим і тривало $89,22 \pm 5,85$ дня.

Наприкінці інтенсивної фази лікування процеси деструкції зберігались у 22% у хворих незалежно від генотипу *CYP3A4*1B* (рис. 5.4). В усіх групах в результаті стаціонарного лікування відбулось скорочення кількості хворих з явищами деструкції, зокрема у носіїв генотипу *AA на 50% ($p < 0,05$; $\chi^2 = 11,17$) і у 60% індивідів з генотипом *AG ($p > 0,05$) (таблиця 5.9). Припинення процесів деструкції у носіїв генотипу *AA в середньому займало близько 58 днів, у носіїв генотипу *AG – близько 60 днів.

Таблиця 5.9.

Припинення процесів деструкції легень і бактеріовиділення в залежності від генотипу *CYP3A4*1B*

Група хворих	Припинення процесу деструкції		Припинення бактеріовиділення за даними			
			Мікроскопії		посіву	
	кількість хворих (%)	тривалість (днів) \pm SEM	кількість хворих (%)	тривалість (днів) \pm SEM	кількість хворих (%)	тривалість (днів) \pm SEM
*AA, n=96	22/44 (50,0)	57,9 \pm 3,36	48/50 (96,0)	55,27 \pm 4,13	28/64 (43,7)	71,3 \pm 5,37
*AG, n=9	3/5 (60,0)	60,4 \pm 3,80	6/7 (83,7)	59,0 \pm 3,82	1/8 (12,5)	70

Як і на початку, так і при завершенні інтенсивної фази лікування у більшості носіїв генотипу *AA і *AG - 56,3% і 88,9% відповідно -

спостерігалась інфільтративна форма туберкульозного процесу. Отже, при наявності генотипу *AG інфільтративна форма зустрічалась дещо частіше, ніж при наявності генотипу *AA ($p > 0,05$; $\chi^2 = 3,63$ при критичному значенні 3,84).

В результаті проведеного інтенсивної фази лікування кількість хворих з генотипом *AA з явищами інфільтрації знизилась в 5,8 разів ($p < 0,05$; $\chi^2 = 44,43$); з явища обсіменіння – в 3,4 разів ($p < 0,05$; $\chi^2 = 21,18$). В обох групах, що досліджувались, в результаті стаціонарного лікування припинились явища розпаду, причому різниця була вірогідною відносно початкового показника – для носіїв генотипу *AA ($\chi^2 = 13,94$) і *AG ($\chi^2 = 5,14$). Також у хворих з генотипом *AA в 3,4 рази зменшилась обсіменіння легеневої тканини ($p < 0,05$; $\chi^2 = 15,28$). При завершенні інтенсивної фази лікування, процес обсіменіння легеневої тканини спостерігався майже втричі частіше у носіїв генотипу *AG, ніж при генотипі *AA ($p < 0,05$; $\chi^2 = 4,67$). В той же час явища розсмоктування і ущільнення в легеневій тканині спостерігалось у 81,2% носіїв генотипу *AA і 66,7% носіїв генотипу *AG ($p < 0,05$; $\chi^2 = 131,37$ і $\chi^2 = 9,00$ відповідно вихідного рівня).

Незалежно від генотипу *CYP3A4*1B* співвідношення хворих з двостороннім і одностороннім ураженням легень майже не змінилось протягом інтенсивної фази лікування. За даними мікроскопії бактеріовиділення на завершення інтенсивної фази було відсутнім у 97,9% носіїв генотипу *AA і у 88,9% носіїв генотипу *AG. Припинення бактеріовиділення при цьому відбулось у 96,0% хворих з генотипом *AA ($p < 0,05$; $\chi^2 = 60,76$) і у 83,7 % - генотипом *AG ($p < 0,05$; $\chi^2 = 8,1$). При цьому тривалість припинення бактеріовиділення в обох групах склало близько 55-59 днів.

Згідно даних культурального методу наприкінці інтенсивної фази лікування бактеріовиділення спостерігалось приблизно у 37,5 % носіїв генотипів *AA і 77,8% носіїв генотипу *AG, тобто хворі з генотипом *AG в 2,1 рази частіше були бактеріовиділювачами на момент завершення

інтенсивної фази, ніж носії генотипу **AA* ($p < 0,05$; $\chi^2 = 5,52$). В результаті лікування кількість бактеріовиділювачів з генотипом **AA* зменшилось на 43,7% ($p < 0,05$; $\chi^2 = 16,36$), з генотипом **AG* – лише на 12,5% ($p > 0,05$). Припинення бактеріовиділення зайняло майже однаковий час в обох групах – близько 70-71 днів.

Отримані дані засвідчили, що на початку лікування у хворих з генотипом *CYP3A4*AG* частіше спостерігались явища деструкції, ніж у хворих з генотипом **AA*. Наприкінці інтенсивної фази лікування найчастіше процеси розсмоктування і відсутність деструкції спостерігались при наявності генотипу **AA*. Водночас серед носіїв генотипу **AG* частіше зберігалось бактеріовиділення за даними культурального методу. Саме цей генотип - **AG* згідно попередніх даних асоціювався з дещо нижчим вмістом ізоніазиду і рифампіцину в крові, а також більш поширеним явищем субефективної концентрації рифампіцину в крові. Отже, наявність генотипу *CYP3A4*1AG* може слугувати маркером більш важкого перебігу туберкульозу легень як на початку лікування, так і при завершенні інтенсивної фази протитуберкульозного лікування.

5.4. Результати лікування вперше діагностованого туберкульозу легень в залежності від генотипу *CYP3A4*1G*

Близько 37,5%, 40% і 50% носіїв генотипу **1/*1*, **1/*1G* і **1G/*1G* відповідно мали ураження обох легень. На початку інтенсивної фази лікування процеси деструкції спостерігались приблизно у 45,8 % «швидких метаболізаторів» (генотип **1/*1*), у половини «повільних метаболізаторів» (генотип **1G/*1G*) і більш, ніж у половини «помірних метаболізаторів» - 60% (генотип **1/*1G*) (таблиця 5.10). Згідно клінічної форми, дисемінація туберкульозного процесу спостерігалась у 27,1% носіїв генотипу **1/*1*, у 40% і 25% індивідів з генотипом **1/*1G* і **1G/*1G* відповідно. У більшості хворих незалежно від генотипу *CYP3A4*1G* відзначалась інфільтративна

форма туберкульозного процесу, причому при генотипі **1/*1* вона зустрічалась в 63,5% випадках, при генотипах **1/*1G* і **1G/*1G* других – в 60% і 75% відповідно ($p>0,05$) (рис. 5.6).

Таблиця 5.10.

Характеристика туберкульозного процесу в залежності від генотипу *CYP3A4*1G*

Характеристика туберкульозного процесу		На початку лікування, %			Наприкінці інтенсивної фази лікування, %		
		<i>*1/*1</i> , n=96	<i>*1/*1G</i> , n=5	<i>*1G/*1G</i> , n=4	<i>*1/*1</i> , n=96	<i>*1/*1G</i> , n=5	<i>*1G/*1G</i> , n=4
Поширення	обидві легені	37,5	40,0	50,0	36,5	40,0	50,0
	частини легені	62,5	60,0	50,0	63,5	60,0	50,0
Деструкція	є	45,8	60,0	50,0	21,9	40,0	25,0
	нема	54,2	40,0	50,0	78,1	60,0	75,0

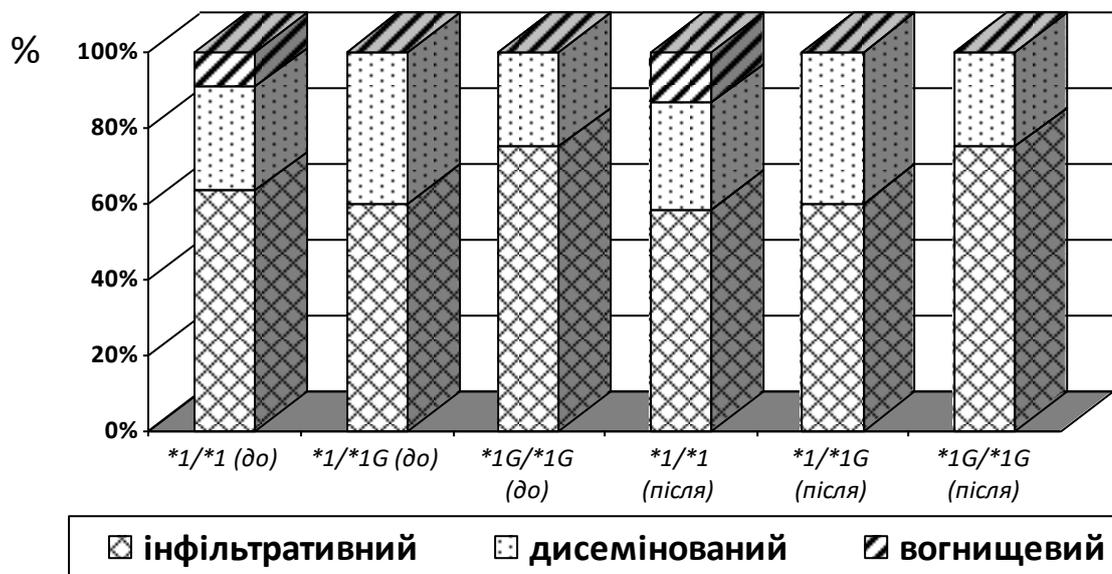


Рис. 5.6. Характер ураження легень з урахуванням генотипу *CYP3A4*1G* на початку (до) і наприкінці (після) інтенсивної фази лікування

Вогнищева форма зустрічалась лише у 9,4% хворих з генотипом $*I/*I$ і взагалі була відсутня серед носіїв з мутантним алелем $*G$.

Серед носіїв генотипу $*I/*I$ процеси розпаду і обсіменіння мали місце у 18,7% і 32,3% відповідно, загалом у 47,9% (табл. 5.11). В той же час серед хворих з мутантним алелем $*G$ (генотипи $*I/*IG$ + $*IG/*IG$) вказані процеси спостерігались у 22,2% і 44,5% пацієнтів відповідно, загалом у 66,7%.

Отже, серед носіїв алелю $*G$ (генотипи $*I/*IG$ і $*IG/*IG$) процеси розпаду і обсіменіння легеневої тканини зустрічались дещо частіше, ніж серед у хворих з генотипом $*I/*I$ ($p>0,05$). Натомість процеси інфільтрації найбільше зустрічались у осіб з генотипом $*I/*I$, ніж у хворих з генотипами $*I/*IG$ і $*IG/*IG$ – 52,2% проти 33,3% ($p>0,05$).

Таблиця 5.11.

Характеристика туберкульозного процесу в залежності від генотипу *CYP3A4*IG* (продовження)

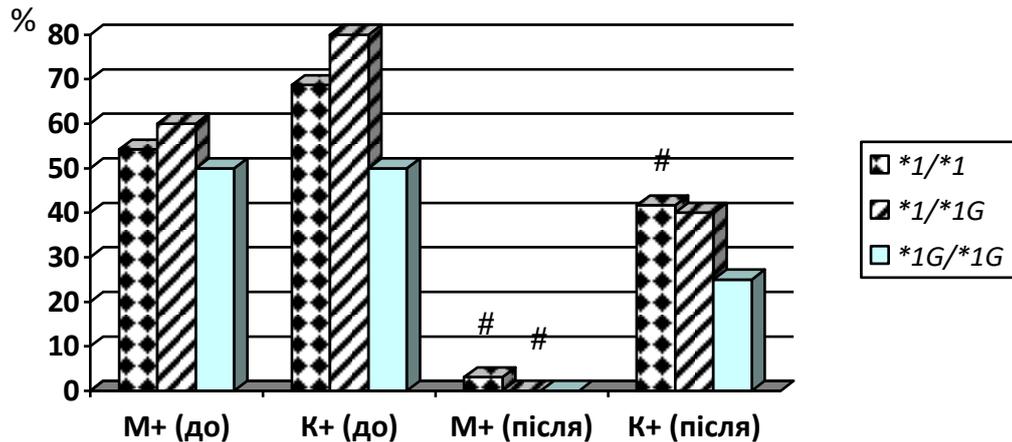
Характеристика туберкульозного процесу		На початку інтенсивної фази лікування, %			Наприкінці інтенсивної фази лікування, %		
		$*I/*I$, n=96	$*I/*IG$, n=5	$*IG/*IG$, n=4	$*I/*I$, n=96	$*I/*IG$, n=5	$*IG/*IG$, n=4
Стадія ураження	інфільтрація	52,1	40,0	25,0	6,3#	20,0	50,0*
	розпад	18,7	20,0	25,0	12,5	-	-
	обсіменіння	29,2	40,0	50,0	-#	-	-
	розсмоктування	-	-	-	81,2#	80,0#	50,0

Примітки:

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

На початку інтенсивної фази лікування половина носіїв генотипу $*IG/*IG$ за даними мікроскопії мали бактеріовиділення, водночас за

наявності генотипів $*1/*1$ і $*1/*1G$ ця ознака зустрічалась в 54,2% і 60% відповідно (рис. 5.7).



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

Рис. 5.7. Кількість хворих, які виділяли збудника туберкульозу згідно бактеріоскопії (M+) або культурального методу (K+) залежно від генотипу $CYP3A4*1G$ на початку (до) або наприкінці (після) інтенсивної фази лікування

Згідно посіву більшість хворих - 68,7% носіїв дикого алелю $*1$ (генотип $*1/*1$) і 66,7% носіїв мутантного алелю (генотипи $*1/*1G+*1G/*1G$) виділяли збудника туберкульозу. Таким чином, на початку лікування у носіїв дикого алелю $*1$ (генотип $*1/*1$) переважали процеси туберкульозної інфільтрації, водночас у носіїв мутантного алелю (генотипи $*1/*1G+*1G/*1G$) домінували явища деструкції і розпаду в легеневій тканині. Тривалість стаціонарного лікування була найбільшою у хворих з генотипом $*1/*1$ і $*1/*1G$ і становила $95,96 \pm 3,42$ і $95,00 \pm 3,65$ дня відповідно. У пацієнтів з генотипом $*1G/*1G$ амбулаторне лікування було дещо коротшим і тривало $92,0 \pm 14,55$ дня.

При завершенні інтенсивної фази лікування, як і на початку лікування у більшості пацієнтів спостерігалась інфільтративна форма туберкульозного процесу, зокрема у носіїв генотипу $*1/*1$, $*1/*1G$, $*1G/*1G$ такі хворі становили 58,3%, 60% і 75% відповідно. При цьому істотних змін у співвідношенні форм туберкульозного ураження легень під час інтенсивної фази лікування не спостерігалось.

Наприкінці інтенсивної фази лікування процесу деструкції зберігались у 21,9% у хворих з генотипом **I/*I*, у 40% і 25% - з генотипом **I/*IG* і **IG/*IG* відповідно (рис. 4.6). В усіх групах в результаті інтенсивної фази лікування відбулось скорочення кількості хворих з явищами деструкції, зокрема у носіїв генотипу **I/*I* в 2,1 рази ($p < 0,05$; $\chi^2 = 12,30$), у носіїв генотипу **I/*IG*, **IG/*IG* в 1,5 і 2 рази відповідно, однак мало недостовірний характер у зв'язку з малою кількістю спостережень (табл. 5.12). Припинення процесів деструкції у носіїв генотипу **I/*I* в середньому займало близько 58,3 днів, у носіїв генотипу **I/*IG* + **IG/*IG* – близько 72,5 днів, тобто на 23,4 довше, ніж в першій групі ($p < 0,001$; $CI = -21,05 \dots -7,29$).

Таблиця 5.12.

Припинення процесів деструкції легень і бактеріовиділення в залежності від генотипу *CYP3A4*1B*

Група хворих	Припинення процесу деструкції		Припинення бактеріовиділення за даними			
			Мікроскопії		Посіву	
	кількість хворих (%)	тривалість (днів) \pm SEM	кількість хворих (%)	тривалість (днів) \pm SEM	кількість хворих (%)	тривалість (днів) \pm SEM
<i>*I/*I</i> , n=96	23/44 (52,3)	58,3 \pm 0,68	49/52 (94,2)	56,44 \pm 0,83	26/66 (39,4)	78,2 \pm 2,71
<i>*I/*IG</i> , n=5	1/3 (33,3)	100	3/3 (100)	73,00 \pm 4,31 *	2/4 (50,0)	66,00 \pm 1,79
<i>*IG/*IG</i> , n=4	1/2 (50,0)	45	2/2 (100)	41,00 \pm 10,5 *	1/2 (50,0)	62
<i>*I/*IG</i> + <i>*IG/*IG</i> , n=9	2/5 (40,0)	72,5 \pm 9,17*	5/5 (100)	60,2 \pm 7,29	3/6 (50,0)	64,67 \pm 1,26

Примітка: * - $p < 0,05$ (відносно хворих з генотипом **I/*I*)

В результаті проведеної інтенсивної фази лікування кількість хворих з генотипом $*I/*I$ з явищами інфільтрації знизилась в 8,3 разів ($p < 0,05$; $\chi^2 = 48,481$); з явищами розпаду – в 3,4 разів ($p < 0,05$; $\chi^2 = 21,18$). В усіх групах, що досліджувались, в результаті інтенсивної фази лікування припинились явища туберкульозного обсіменіння легеневої тканини, причому різниця була вірогідною відносно початкового показника – для носіїв генотипу $*I/*I$ ($\chi^2 = 32,78$), а також для хворих з мутантним алелем $*G$ (генотипи $*I/*IG + *IG/*IG$) ($\chi^2 = 5,14$). В той же час явища розсмоктування і ущільнення в легеневій тканині спостерігались у 81,2% носіїв генотипу $*I/*I$ ($p < 0,05$; $\chi^2 = 131,37$ відносно вихідного рівня), у 80,0% носіїв генотипу $*I/*IG$ ($p < 0,05$; $\chi^2 = 6,67$) і 50,0% носіїв генотипу $*IG/*IG$. В той же час процеси туберкульозної інфільтрації на момент завершення інтенсивної фази лікування зустрічались у носіїв генотипу $*I/*I$ в 7,9 разів рідше, ніж у носіїв генотипу $*IG/*IG$ ($p < 0,05$; $\chi^2 = 9,99$), і в 5,3 рази рідше, ніж у хворих з мутантним алелем $*G$ (генотипи $*I/*IG + *IG/*IG$) ($p < 0,05$; $\chi^2 = 7,70$).

Незалежно від генотипу $CYP3A4*IG$ співвідношення хворих з двостороннім і одностороннім ураженням легень майже не змінилось протягом інтенсивної фази лікування. За даними мікроскопії бактеріовиділення на момент завершення інтенсивної фази було відсутнім у 96,9% носіїв генотипу $*I/*I$ і у 100% носіїв інших генотипів. Припинення бактеріовиділення при цьому відбулось у 94,2% хворих з генотипом $*I/*I$ ($P < 0,05$; $\chi^2 = 61,18$) і у 100% - генотипом $*I/*IG$ ($p < 0,05$; $\chi^2 = 4,29$) і генотипом $*IG/*IG$. При цьому тривалість припинення бактеріовиділення в групах склало $*I/*I$ близько 56,4 днів, що було коротше відповідного показника в групі носіїв генотипу $*I/*IG$ на 29,3% ($p < 0,001$; $CI = -24,05 \dots -9,07$) і водночас перевищувало відповідний показник носіїв генотипу $*IG/*IG$ на 37,7% ($p < 0,001$; $CI = 6,48 \dots 24,40$).

Згідно даних культурального методу наприкінці інтенсивної фази лікування бактеріовиділення спостерігалось приблизно у 41,7% носіїв генотипів $*I/*I$ і у 40,0% та 25,0% носіїв генотипу $*I/*IG$ та $*IG/*IG$

відповідно. В результаті лікування кількість бактеріовиділювачів з генотипом $*I/*I$ зменшилось на 43,7% ($p < 0,05$; $\chi^2 = 14,23$), з генотипом $*I/*IG$ і $*IG/*IG$ – на 50,0% ($p > 0,05$). Припинення бактеріовиділення зайняло близько 78,2 днів у носіїв генотипу $*I/*I$ і дещо менше за наявності генотипу $*I/*IG$ і $*IG/*IG$ – 66,0 і 62 дні відповідно.

Отримані дані засвідчили, що як на початку, так і під час закінчення інтенсивної фази лікування у хворих з різним генотипом $CYP3A4*IG$ істотних відмінностей не спостерігалось. Водночас, особи з мутантним алелем $*G$ дещо частіше мали явища деструкції легеневої тканини як на початку, так і при завершенні інтенсивної фази лікування, а також більш поширений процес туберкульозної інфільтрації легеневої тканини на момент завершення інтенсивної фази лікування, ніж хворі з генотипом $*I/*I$. Отже, наявність алелю $*G$ у хворих на туберкульоз може слугувати певним прогностичним маркером більш важкого перебігу ВДТБ легень.

5.5. Вплив лікування вперше діагностованого туберкульозу легень в залежності від поєднаного генотипу $CYP3A4*1B$ та $CYP3A4*IG$

Для дослідження значення поліморфізму гену $CYP3A4$ одночасно було враховано генотип $*1B$ і $*IG$. Особи, які не мали жодної мутації у досліджених локусах (носії генотипів $*AA$ і $*I/I$ відповідно), було віднесено до носіїв генотипу «швидких метаболізаторів» (RM , “*rapid metabolizers*”). Особи, які мали лише одну мутацію у двох досліджених локусах (носії генотипу $*AG + *I/I$; $*AA + *I/IG$ відповідно) були віднесені до носіїв генотипу «помірних метаболізаторів» (IA , “*intermediate metabolizers*”). Особи, які мали дві мутації у досліджених локусах (генотипи $*AA + *IG/IG$; $*AG + *I/IG$ відповідно), були віднесені до носіїв генотипу «повільних метаболізаторів» (SM , “*slow metabolizers*”). Було встановлено, що серед 105 хворих на ВДТБ 84 (80,0%) індивіди належали до «швидких

метаболізаторів», 15 (14,3%) і 6 (5,7%) осіб – до «помірних» і «повільних метаболизаторів».

На початку стаціонарного лікування ураження обох легень спостерігали у 39,3% носіїв генотипу «швидких метаболизаторів», у 1/5 «помірних метаболизаторів» і 2/3 «повільних метаболизаторів» (таблиця 5.13). Отже, серед носіїв генотипу «повільних метаболизаторів» ураження обох легень було найбільш поширеним і перевищувало аналогічний показник «помірних метаболизаторів» в 3,3 рази ($p < 0,05$; $\chi^2 = 4,2$) (таблиця 5.13).

Таблиця 5.13.

Характеристика туберкульозного процесу в залежності від генотипу *CYP3A4*1B* і **1G*

Характеристика туберкульозного процесу		На початку інтенсивної фази лікування, (%)			Наприкінці інтенсивної фази лікування, (%)		
		<i>*RM</i> , n=84	<i>*IM</i> , n=15	<i>*SM</i> , n=6	<i>*RM</i> , n=84	<i>*IM</i> , n=15	<i>*SM</i> , n=6
Поширення	обидві легені	33 (39,3)	3 (20,0)	4** (66,7)	31 (36,9)	4 (26,7)	4 (66,7)
	однієї легені або частини	51 (60,7)	12 (80,0)	2 (33,3)	53 (63,1)	11 (73,3)	2 (33,3)
Деструк	є	37 (44,0)	8 (53,3)	4 (66,7)	19# (22,6)	3 (20,0)	2 (33,3)
	нема	47 (56,0)	7 (46,7)	2 (33,3)	65 (77,4)	12 (80,0)	4 (66,7)

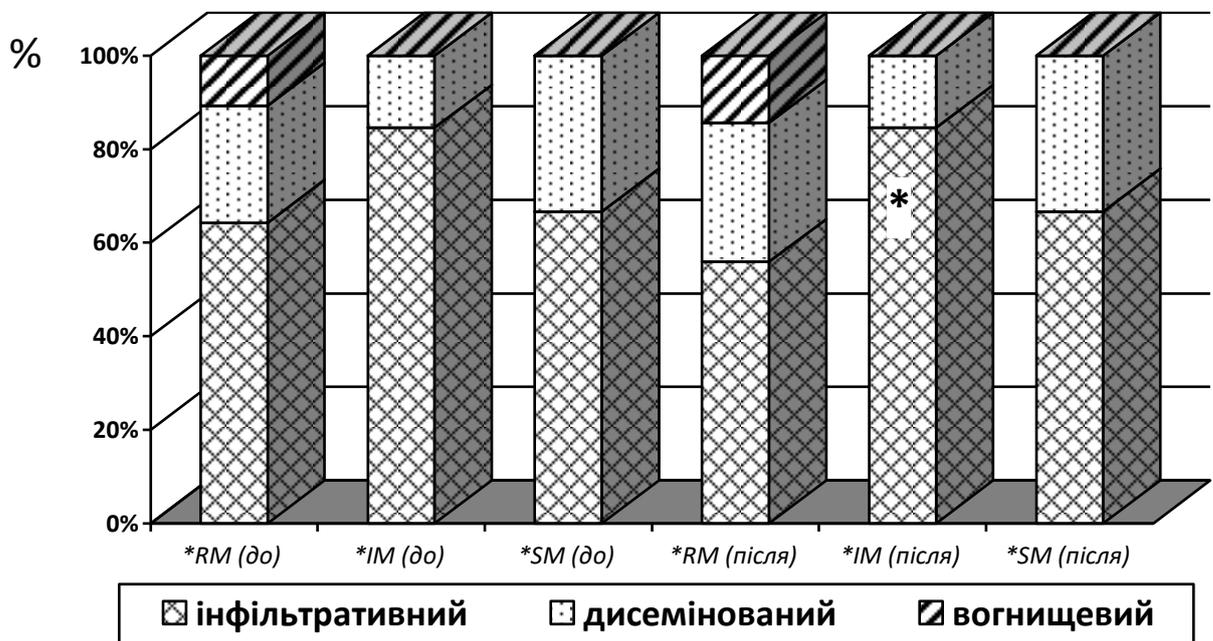
Примітка: # - $p < 0,05$ (відносно вихідного рівня відповідної групи);

** - $p < 0,05$ (відносно хворих з генотипом **IM*)

Водночас серед хворих з генотипом «швидких» та «помірних метаболизаторів» переважали випадки з ураженням однієї легені або частини легені – 60,7% і 80,0% відповідно. Також певні відмінності спостерігалися між групами за ознакою наявності деструкції в легеневій тканині – якщо

серед «швидких метаболізаторів» переважали хворі з відсутністю процесу деструкції в легенях (56,0%), то серед «помірних» і «повільних метаболізаторів» навпаки, переважали хворі з наявністю процесу деструкції – 60,0% і 66,7% відповідно. На початку інтенсивної фази лікування в усіх трьох групах переважали хворі з інфільтраційною формою туберкульозного ураження – у 84,6% носіїв генотипу «помірних метаболізаторів», у 66,7% і 64,3% - носіїв генотипу «повільних» і «швидких метаболізаторів» (рис. 5.8).

За характером туберкульозного процесу серед «швидких метаболізаторів» переважали хворі зі стадією інфільтрації (56,0%), водночас серед «помірних метаболізаторів» і «повільних метаболізаторів» - переважали хворі з явищами обсіменіння легень – у 53,4% і 83,3% відповідно (таблиця 5.14).



* - $p < 0,05$ (відносно хворих з генотипом *RM*)

Рис. 5.8. Характер ураження легень з урахуванням генотипу *CYP3A4*1B* і **1G* на початку (до) і наприкінці (після) інтенсивної фази лікування

Загалом, серед «помірних метаболізаторів» процес обсіменіння відзначався майже вдвічі частіше, ніж у «швидких метаболізаторів» ($p < 0,05$;

$\chi^2=4,44$). Аналогічна до поширеності туберкульозної деструкції легеневої тканини закономірність спостерігалась між групами і за бактеріовиділенням згідно бактеріоскопії, що спостерігалось у 52,4% «швидких метаболізаторів», у 60,0% «помірних метаболізаторів» і у 66,7% «повільних метаболізаторів» (рис. 4.9). За даними культурального методу бактеріовиділення найчастіше спостерігалось серед «помірних метаболізаторів» (86,7%) і дещо рідше серед «повільних метаболізаторів» (66,7%) і «швидких метаболізаторів» (65,5%).

В результаті інтенсивної фази протитуберкульозного лікування спостерігалось незначне зменшення частки «швидких метаболізаторів» з двостороннім ураженням легень (на 2,4%, $p>0,05$) і водночас дещо зріс відсоток «помірних метаболізаторів» з двостороннім ураженням - на 6,7% хворих ($p>0,05$); серед «повільних метаболізаторів» змін не відбулось (таблиця 5.14).

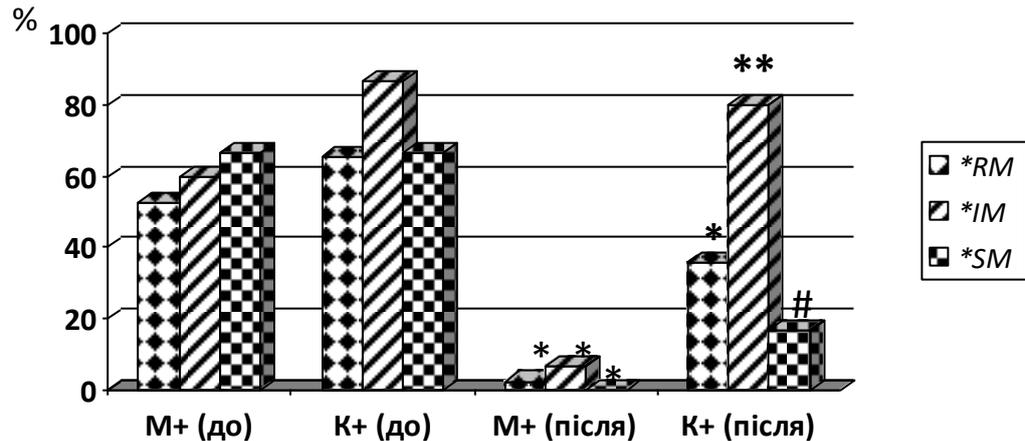
Таблиця 5.14.

Характеристика туберкульозного процесу в залежності від генотипу *CYP3A4*1B* і **1G* (продовження)

Характеристика туберкульозного процесу		На початку інтенсивної фази лікування, %			Наприкінці інтенсивної фази лікування, %		
		<i>*RM</i> , n=84	<i>*IM</i> , n=15	<i>*SM</i> , n=6	<i>*RM</i> , n=84	<i>*IM</i> , n=15	<i>*SM</i> , n=6
Стадія ураження	інфільтрація	47 (56,0)	5 (33,3)	1 (16,7)	7# (8,3)	- #	2* (33,3)
	розпад	15 (17,9)	2 (13,3)	-	9 (10,7)	3 (20,0)	-
	обсіменіння	22 (26,2)	8* (53,3)	5 (83,3)	- #	- #	- #
	розсмоктування	-	-	-	68# (81,0)	12# (80,0)	4# (66,7)

Примітки:

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



* - $p < 0,05$ відносно відповідної групи на початку лікування; ** - $P < 0,05$ відносно **RM*; # - $p < 0,05$ відносно **IM*

Рис. 5.8. Кількість хворих, які виділяли збудника туберкульозу згідно бактеріоскопії (M+) або культурального методу (K+) залежно від генотипу *CYP3A4* на початку (до) або наприкінці (після) інтенсивної фази лікування

Наприкінці інтенсивної фази лікування відбулось деяке зменшення частки хворих з інфільтративною формою ураження легень серед носіїв генотипу **RM* з 64,3% до 55,9%, що було в 1,5 рази менше, ніж у носіїв генотипу **IM* (55,9% проти 84,6%, $p < 0,05$; $\chi^2 = 5,03$) (рис. 5.8). Тривалість стаціонарного лікування у хворих з генотипом **RM* становила $96,81 \pm 3,80$ днів; у хворих з генотипом **IM* і **SM* - $85,50 \pm 4,06$ і $101,67 \pm 11,22$ дні відповідно.

Під час інтенсивної фази лікування практично в усіх групах кількість хворих з явищами деструкції зменшилась вдвічі порівняно з початковим рівнем (серед «помірних метаболізаторів» - навіть в 2,5 рази) (для **RM* $p < 0,05$; $\chi^2 = 8,68$) (таблиця 5.15). Наприкінці інтенсивної фази лікування процесу, так само як і на початку лікування, явища деструкції дещо частіше зустрічались серед «повільних метаболізаторів» (**SM*), ніж в інших групах (таблиця 5.13). Припинення процесів деструкції у носіїв генотипу **RM* в середньому займала близько 55,8 днів, у носіїв генотипу **IM* - близько 80

днів, тобто на 43,3% довше ($p < 0,001$; $CI = -29,53 \dots -18,81$); у носіїв генотипу **SM* цей показник склав 55,6 днів.

Таблиця 5.15.

Припинення процесів деструкції легень і бактеріовиділення в залежності від генотипу *CYP3A4*

Група хворих	Припинення процесу деструкції		Припинення бактеріовиділення за даними			
			мікроскопії		посіву	
	кількість хворих (%)	тривалість (днів) \pm SEM	кількість хворих (%)	тривалість (днів) \pm SEM	кількість хворих (%)	тривалість (днів) \pm SEM
* <i>RM</i> , n=84	18/37 (48,6)	55,83 \pm 6,41	42/44 (95,5)	56,52 \pm 1,50	25/55 (45,5)	80,0 \pm 3,32
* <i>IM</i> , n=15	5/8 (62,5)	80,20 \pm 5,16*	8/9 (88,9)	63,0 \pm 3,08	1/13 (7,7)	62
* <i>SM</i> , n=6	2/4 (50,0)	55,60 \pm 9,12	4/4 (100)	50,67 \pm 8,95	3/4 (75,0)	66,0 \pm 1,63

Примітка: * - $p < 0,05$ (відносно хворих з генотипом **RM*).

В усіх трьох групах на момент завершення лікування переважали хворі з процесами розсмоктування туберкульозних осередків – у 81,0% «швидких метаболізаторів» ($p < 0,05$; $\chi^2 = 114,24$ відносно початкового стану); у 80,0% «помірних метаболізаторів» ($p < 0,05$; $\chi^2 = 20,00$); і у 66,7% «повільних метаболізаторів» ($p < 0,05$; $\chi^2 = 6,00$); в усіх групах зникли ознаки туберкульозного обсіменіння легеневої тканини - **RM* ($p < 0,05$; $\chi^2 = 25,32$), **IM* ($p < 0,05$; $\chi^2 = 10,91$), **SM* ($p < 0,05$; $\chi^2 = 8,57$) (таблиця 5.14). Серед носіїв генотипів (**RM* $p < 0,05$; $\chi^2 = 43,66$) та **IM* ($p < 0,05$; $\chi^2 = 6,00$) в 7 разів зменшились або взагалі зникли ознаки туберкульозної інфільтрації легеневої тканини. При цьому в групі генотипу **SM* спостерігалась протилежна тенденція і загалом в цій групі частіше зберігались явища інфільтрації

легеневої тканини на момент завершення інтенсивної фази лікування, ніж серед «швидких метаболізаторів» (**RM*) (33,3% проти 8,3%, $p < 0,05$; $\chi^2 = 4,44$).

За даними бактеріоскопії під час інтенсивної фази лікування припинення бактеріовиділення відбулось у 100% «повільних метаболізаторів» ($p < 0,05$; $\chi^2 = 6,00$ відносно початкового показника); у 95,5% «швидких метаболізаторів» ($p < 0,05$; $\chi^2 = 52,81$); у 88,9% «помірних метаболізаторів» ($p < 0,05$; $\chi^2 = 9,60$) (рис. 5.8). За даними культурального методу на момент завершення інтенсивної фази лікування припинення бактеріовиділення спостерігалось у 75,0% «повільних метаболізаторів», у 45,5% «швидких метаболізаторів» ($p < 0,05$; $\chi^2 = 14,88$ відносно початкового показника) і лише у 7,7% «помірних метаболізаторів». При цьому, на момент завершення інтенсивної фази лікування бактеріовиділення серед носіїв генотипу **IM* зустрічалось в 2,2 рази частіше, ніж в групі **RM* ($p < 0,05$; $\chi^2 = 10,22$), і в 4,8 разів, ніж в групі **SM* ($p < 0,05$; $\chi^2 = 7,29$). Тривалість припинення бактеріовиділення за даними бактеріоскопії була найкоротша у носіїв генотипу **SM* – 50,67 днів; найдовша – у носіїв генотипу **IM* – 63,0 днів. За даними культурального методу найдовше припинення бактеріовиділення тривало в групі **RM* – 80,0 днів, найшвидше в групі **IM* – 62 дні.

Отже, серед «помірних метаболізаторів» при завершенні інтенсивної фази лікування спостерігався найбільший відсоток хворих, які залишились бактеріовиділятелями – 80% проти 35,7% серед «швидких метаболізаторів» ($p < 0,05$; $\chi^2 = 10,22$) і 16,7% серед «повільних метаболізаторів» ($p < 0,05$; $\chi^2 = 7,29$). Також серед «помірних метаболізаторів» за даними культурального методу найгірше відбулась конверсія бактеріовиділення, як порівняно з «швидкими метаболізаторами» (7,7% проти 45,5%, $p < 0,05$; $\chi^2 = 6,35$), так і порівняно з «повільними метаболізаторами» (7,7% проти 75,0%, $p < 0,05$; $\chi^2 = 7,70$).

Таким чином, врахування комбінованого поліморфізму *CYP3A4* **1B* і **1G* виявило, що наявність мутантних алелів супроводжувалось дещо гіршими результатами інтенсивної фази лікування – більшим поширенням

інфільтративної форми ураження легень у носіїв генотипу **IM*, ніж в групі **RM* (55,9% проти 84,6%, $p < 0,05$), і довшим припиненням процесів деструкції легень, ніж в групі **RM* (80,0 проти 55,8 днів, $p < 0,001$). Водночас серед носіїв генотипу **SM* частіше зберігались явища інфільтрації легеневої тканини, ніж у хворих з генотипом **RM* (33,3% проти 8,3%, $p < 0,05$).

Висновки до розділу 5

1. Хворі з генотипом **AG* через 2 год. після введення рифампіцину в 5 разів частіше мали субтерапевтичну концентрацію рифампіцину, ніж носії генотипу **AA* ($p < 0,05$); через 4 год. - на 20% частіше ($p < 0,05$); через 6 год. – майже в 10 разів частіше ($p < 0,05$). У носіїв генотипу **AA* спостерігалась дещо вище концентрація ізоніазиду в крові і рідше зустрічались випадки субтерапевтичної концентрації ізоніазиду, ніж у носіїв генотипу **AG* ($P > 0,05$).

2. Серед хворих на туберкульоз майже в 2 рази частіше зустрічались носії генотипу *CYP2C9* і *2C19* (*RM+IM; IM+RM*), ніж в контрольній групі (54,8% проти 27,9%; $p = 0,003$; $\chi^2 = 8,687$). Найвищий рівень рифампіцину в крові через добу після введення і найменша кількість випадків субефективної концентрації рифампіцину спостерігався у носіїв генотипу *CYP2C9* і *2C19* (*SM+RM*).

3. На початку інтенсивної фази лікування серед носіїв генотипу **AG* процеси розпаду зустрічались в 3,3 рази частіше, ніж у носіїв генотипів **AA* (44,4% проти 13,5%; $p < 0,05$), водночас процеси інфільтрації найбільше зустрічались у осіб з генотипом **AA* – 54,2%, що майже в 4,9 разів частіше, ніж у хворих з генотипом **AG* – 11,1 % ($p < 0,05$). При завершенні інтенсивної фази лікування, процес туберкульозного обсіменіння легеневої тканини спостерігався майже втричі частіше у носіїв генотипу **AG*, ніж при генотипі **AA* ($p < 0,05$); явища розсмоктування і ущільнення в легеневій тканині спостерігалось у 81,2% носіїв генотипу **AA* ($p < 0,05$) і 66,7% носіїв генотипу **AG* ($p < 0,05$). Згідно даних культурального методу наприкінці інтенсивної

фази лікування бактеріовиділення спостерігалось приблизно у 37,5 % носіїв генотипів *AA і 77,8% носіїв генотипу *AG, тобто хворі з генотипом *AG в 2,1 рази частіше були бактеріовиділювачами на момент завершення інтенсивної фази, ніж носії генотипу *AA ($p < 0,05$).

4. Отримані дані засвідчили, що як на початку, так і під час закінчення інтенсивної фази лікування у хворих з різним генотипом *CYP3A4*1G* істотних відмінностей не спостерігалось. На початку і при завершенні інтенсивної фази лікування бактеріовиділення згідно культурального методу і мікроскопії дещо рідше спостерігаються у носіїв генотипу *1G/*1G. Водночас на початку інтенсивної фази лікування серед носіїв генотипу *1/*1 процеси розпаду і обсіменіння мали місце у 18,7% і 29,2% відповідно, загалом у 47,9%; в той же час серед хворих з мутантним алелем *G (генотипи *1/*1G + *1G/*1G) вказані процеси спостерігались у 22,2% і 44,5% пацієнтів відповідно, загалом у 66,7%. На момент завершення інтенсивної фази лікування процеси туберкульозної інфільтрації зустрічались у носіїв генотипу *1/*1 в 7,9 разів рідше, ніж у носіїв генотипу *1G/*1G ($p < 0,05$), і в 5,3 рази рідше, ніж у хворих з мутантним алелем *G (генотипи *1/*1G + *1G/*1G) ($p < 0,05$).

5. Відповідно до комбінованого поліморфізму *CYP3A4 *1B* і *1G наявність мутантних алелів супроводжувалось дещо гіршими результатами лікування – більшим поширенням інфільтративної форми ураження легень у носіїв генотипу *1M, ніж в групі *1R (84,6% проти 55,9%, $p < 0,05$), і довшим припиненням процесів деструкції легень, ніж в групі *1R (80,0 проти 55,8 днів, $p < 0,001$). Водночас серед носіїв генотипу генотипу *1S частіше зберігались явища інфільтрації легеневої тканини, ніж у хворих з генотипом *1R (33,3% проти 8,3%, $p < 0,05$).

Результати досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Полуденко Г.О., Антоненко П.Б. Значення поліморфізму *CYP3A4*1B* для метаболізму рифампіцину. *Journal of Health Sciences*. 2017.

Vol. 7, N8. P. 1082-1090. (Особистий внесок – брала участь у плануванні дослідження, формуванні огляду літератури, проведенні збору, обробки та узагальнення отриманих експериментальних даних).

2. Полуденко Г.О., Антоненко П.Б., Філюк В.В., Антоненко К.О. Поєднаний поліморфізм цитохромів CYP2C9 і CYP2C19 у хворих на туберкульоз та їх значення для вмісту рифампіцину в крові. *Досягнення біології та медицини*. 2019. № 2. С. 39-43. - Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/dbtm_2019_2_10 (Особистий внесок – брала участь у плануванні дослідження, формуванні огляду літератури, проведенні збору, обробки та узагальнення отриманих експериментальних даних)

3. Полуденко Г.О., Антоненко П.Б., Рожковський Я.В., Антоненко К.О., Лобашова К.Г. Ефективність лікування туберкульозу легень в залежності від генотипу CYP3A4. *Український пульмонологічний журнал*. 2022. Т.30, №1. С. 62-66. doi: 10.31215/2306-4927-2022-30-1-62-66 (Особистий внесок – брала участь у плануванні дослідження, формуванні огляду літератури, проведенні збору, обробки та узагальнення отриманих експериментальних даних).

4. Antonenko P., Poludenko H., Kresyun V., Antonenko K. Association between tuberculosis treatment and CYP3A4*1B polymorphism of the patients. *Pharmacology for the future. Science, drug development and therapeutics: program book 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology, Kyoto, Japan, 1-6 July 2018, Kyoto, Japan, 2018.* – PO4-10-32. DOI: 10.1254/jpssuppl.WCP2018.0_PO4-10-32

5. Полуденко Г.О., Антоненко П.Б., Кресюн В.Й., Антоненко К.О. Вміст рифампіцину у хворих на туберкульоз в залежності від генотипу CYP450 3A4*1B. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція: тези доп. І наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар., Харків, 18 жовтня 2018 р., Харків, 2018.* С. 182.

6. Poludenko H.O., Antonenko P.B., Kresyun V.I., Antonenko K.O., Godovan V.V. Results of intensive phase treatment of tuberculosis treatment according to CYP3A4*1B genotype. *Medicine under the modern conditions of*

integration development of European countries: Conference proceeding International scientific conference, Lublin, Poland, 10-11 May, 2019, Lublin, Poland, 2019. P. 174-176.

7. Полуденко Г.О. Перебіг туберкульозу легень в залежності від генотипу СYP3A4*1G. *Безпека та нормативно-правовий супровід лікарських засобів: від розробки до медичного застосування: матеріали п'ятої наук.-практ. конф. з міжн. участю, присвяченої пам'яті проф. Вікторова О. П., Київ, 22-23 жовтня 2019 р., Київ, 2019. С. 70-71.*

8. Полуденко Г.О., Антоненко П.Б., Кресюн В.Й., Антоненко К.О. Поєднаний поліморфізм цитохромів СYP2C9 і СYP2C19 у хворих на туберкульоз та його значення для вмісту рифампіцину в крові. *Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів: матеріали IV Міжнародної наук.-практ. конф. «Ліки – людині», Харків, 12-13 березня 2020 р., Харків, НФУ, 2020, Т.2. С. 444-446.*

РОЗДІЛ 6

КЛІНІКО-ФАРМАКОЛОГІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ГЕНЕТИЧНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ *CYP3A4* ДЛЯ ХІМІОТЕРАПІЇ ТУБЕРКУЛЬОЗУ

6.1. Значення поліморфізму *CYP3A4*1B* для протитуберкульозної хіміотерапії

Важливим фактором, що впливав на експресію і активність *CYP3A4* є однонуклеотидні заміни (SNPs) у певних ділянках гену. SNPs відрізняються між собою за локалізацією, що обумовлює відмінності між людьми. Деякі SNPs обумовлюють значні варіації в експресії і активності ферментів, що в свою чергу може обумовлювати відмінності в діях лікарських препаратів, їх токсичності, біодоступності, елімінації [97]. Дослідження в Бразилії виявили, що генотип *CYP3A4*AA* дещо частіше зустрічався у випадках позалегенового туберкульозу, ніж загалом у хворих на туберкульоз (59,9% проти 45,3%). На основі отриманих даних дослідники зробили висновок про цінність визначення генотипу *CYP3A4* як прогностичного критерію перебігу туберкульозу [98].

Згідно отриманих результатів в ході виконання даної роботи було встановлено, що поширеність дикого алелю **A* гену *CYP3A4*1B* на південному заході України (97,6%) була близькою до результатів досліджень в країнах Європи (Фінляндія, Боснія – 95-96%). Також виявлено тенденцію до збільшення частки носіїв генотипу **AG* зі збільшенням віку добровольців – від 4,5% у віковій групі 21-30 років до 9,8% і 20,0% серед вікових груп 31-40 і старших за 50 років відповідно ($p>0,05$). Вірогідні відмінності у поліморфізмі *CYP3A4*1B* між хворими на ТБ легень і здоровими донорами не було зафіксовано, хоча серед хворих на ТБ легень дещо частіше спостерігались носії генотипу **AG*, ніж серед здорових добровольців (8,6% проти 6,3%, $p>0,05$). Відповідно до літературних джерел мутований алель **G* частіше зустрічається при деяких захворюваннях. Ізоферменти *CYP3A*

залучені до метаболізму табачних канцерогенів і їх експресія значно відрізняється між людьми. У багатьох формах раку спостерігається посилення експресії *CYP3A4* і *CYP3A5* [99]. Застосування мета-аналізу засвідчило, що наявність *G алелю (генотипи *AG* + *GG*) асоціюється зі збільшенням ризику раку передміхурової залози [100]. У хворих з множинною мієломою загальний рівень виживання і виживання без прогресії захворювання вірогідно частіше зустрічались у носіїв генотипу *AA, ніж при наявності мутантного алелю *G ($p=0.001$, $p=0.014$) [97]. У носіїв мутованого алелю *CYP3A4*1B* (*G) частіше спостерігався дрібно клітинний рак легень ($p=0.02$), ніж у носіїв немутованого алелю, особливо серед жінок [101]. У хворих з депресією спостерігалась тенденція до більшого поширення мутантного алелю, ніж серед здорових людей ($p=0.050$) [102]. Певний зв'язок між наявністю мутованого алелю *CYP3A4*1B* (*G) і тяжкістю туберкульозного процесу було підтверджено в межах даної роботи. Так, на початку лікування серед носіїв генотипу *AG процеси розпаду зустрічались в 3,3 рази частіше, ніж у носіїв генотипів *AA (44,4% проти 13,5%; $P<0,05$), водночас процеси інфільтрації найбільше зустрічались у осіб з генотипом *AA – 54,2%, що майже в 4,9 разів частіше, ніж у хворих з генотипом *AG – 11,1 % ($P<0,05$).

Згідно проведених розрахунків PASS з високим ступенем ймовірності прогнозувалась участь ферменту *CYP3A4* в метаболізмі рифампіцину. Водночас дослідження в Бангладеші 90 хворих на туберкульоз виявило лише одного хворого з мутантним алелем, що поставило під сумнів вплив поліморфізму *CYP3A4* на вміст протитуберкульозних препаратів в організмі хворих [103]. За результатами даного дисертаційного дослідження було встановлено, що кількість хворих з генотипом *AG, які через 2 год. після введення рифампіцину мали субтерапевтичну концентрацію рифампіцину, була в 5 разів більша, ніж серед носіїв генотипу *AA ($p<0,05$); через 4 год. - на 20% частіше ($p<0,05$); через 6 год. – майже в 10 разів частіше ($p<0,05$). Крім того, у носіїв генотипу *AA спостерігалась дещо вище концентрація

ізоніазиду в крові і рідше зустрічались випадки субтерапевтичної концентрації ізоніазиду, ніж у носіїв генотипу *AG ($p > 0,05$).

В літературі наведено багато фактів прискорення метаболізму лікарських препаратів у носіїв мутантного алелю *G. Зокрема, поліморфізм *CYP3A4*1B* достовірно впливає на кліренс імуносупресанту такролімусу, при цьому у носіїв мутантного алелю *G кліренс такролімусу був вищим, ніж у носіїв «дикого» алелю *A (5,3 проти 3,9 л/год) [104]. Мета-аналіз засвідчив, що носії генотипу *I/*I (*AA) потребують достовірно меншу денну дозу такролімусу, ніж носії мутантного алелю *IG через тиждень, півріччя і рік після трансплантації нирки [105]. Водночас, дослідження не довели вірогідної відмінності щодо вмісту в крові і дози циклоспорину в залежності від генотипу *CYP3A4*1B*, що ймовірно з невеликою кількістю залучених до дослідження хворих [106].

Відмінності в інтенсивності метаболізму лікарських препаратів в залежності від генотипу *CYP3A4*1B* ймовірно обумовлено тим, що наявність мутантного алелю *CYP3A4*1B* (*G) пов'язана з двократним збільшенням промойтерної активності гену [101]. Ймовірно, що зниження активності *CYP3A4* у носіїв немутованого алелю *A обумовлено наявністю транскрипційного супресора. Тому фенотипові ефекти мутованого алелю *G можуть бути пов'язані зі зниженням приєднання транскрипційного супресора і відповідно більшою експресією гену і більшою ферментативною активністю *CYP3A4*, що в свою чергу обумовлює більш швидкий метаболізм лікарських препаратів, в тому числі рифампіцину [107].

Більш важкий вихідний стан на початку лікування і більша поширеність випадків субефективної концентрації рифампіцину у носіїв мутованого алелю *CYP3A4*1B* (*G) обумовлювали гірші результати інтенсивної фази лікування хворих на ВДТБ. Так, при завершенні інтенсивної фази лікування, процес туберкульозного обсіменіння легеневої тканини спостерігався майже втричі частіше у носіїв генотипу *AG, ніж при генотипі *AA ($p < 0,05$); явища розсмоктування і ущільнення в легеневій

тканині спостерігались у 81,2% носіїв генотипу *AA ($p < 0,05$) і 66,7% носіїв генотипу *AG ($p < 0,05$). Згідно даних культурального методу наприкінці інтенсивної фази лікування бактеріовиділення спостерігалось приблизно у 37,5 % носіїв генотипу *AA і 77,8% носіїв генотипу *AG, тобто хворі з генотипом *AG в 2,1 рази частіше були бактеріовиділювачами на момент виписки зі стаціонару, ніж носії генотипу *AA ($P < 0,05$). Гірший стан хворих на туберкульоз, які були носіями мутованого алелю *CYP3A4*1B* (*G), підтверджувався дещо вищим лейкоцитозом і ШОЕ, а також нижчим рівнем лімфоцитів і гемоглобіну, ніж у носіїв алелю *A.

За результатами дослідження показників функції печінки було встановлено, що як на початку, так і наприкінці інтенсивної фази лікування носії мутованого алелю *G мали менший ризик ураження печінки. Так, на початку лікування носії генотипу *AG мали дещо нижчу активність маркерів цитолізу АлТ, АсТ і маркеру холестазу ГГТ, ніж носії генотипу *AA. Після проведення інтенсивної фази лікування активність маркерів цитолізу АлТ і АсТ, та маркеру холестазу ГГТ у хворих на ВДТБ з генотипом *AA недостовірно зроста – на 7,0%, на 9,3% і на 4,5% відповідно ($p > 0,05$); у хворих з генотипом *AG активність АлТ, АсТ і ГГТ навпаки мала тенденцію до зниження – на 18,7%, на 3,0% і на 9,0% відповідно ($p > 0,05$), аналогічна тенденція спостерігалась і щодо кількості хворих з підвищеним вмістом АлТ, АсТ і ГГТ. Наприкінці інтенсивної фази лікування середня активність АлТ у носіїв генотипу *AA була в 1,8 разів вища, ніж у носіїв генотипу *AG ($p = 0,046$).

Отже, у хворих на ВДТБ, які були носіями мутованого алелю *G відзначався більш важкий перебіг туберкульозу легень як на початку, так і наприкінці лікування, що ймовірно пов'язано з більшою частотою субтерапевтичної концентрації рифампіцину в крові, відносно хворих з «диким» алелем *A. Водночас саме у осіб з мутованим алелем *G був нижчий ризик розвитку гепатотоксичності під час протитуберкульозної терапії.

6.2. Вплив поліморфізму *CYP3A4*1G* на ефективність протитуберкульозної хіміотерапії

Поширеність дикого алелю **1* гену *CYP3A4*1G*, так само як алелю **A* гену *CYP3A4*1B*, в Україні була близькою до результатів досліджень в країнах Європи (88,8% проти 91,8% в середньому). Аналогічно до *CYP3A4*1B* відзначається тенденція до збільшення частки носіїв генотипу, що містять мутантний алель *CYP3A4*1G* зі збільшенням віку добровольців – від 9,1% і 18,9% у віковій групі до 20 років і 21-30 років відповідно до 23,2% і 25,0% - у вікових групах 41-50 і понад 50 років відповідно ($p > 0,05$). Водночас серед хворих на туберкульоз частіше зустрічались носії генотипу **1/*1*, ніж серед здорових добровольців (91,4% проти 81,6%; $p < 0,05$). Водночас згідно літературних даних саме мутантний алель **1G* частіше зустрічався при деяких захворюваннях. Так, пацієнти народності Хан в Китаї з генотипом *CYP3A4*1G/*1G* мали більший шанс розвитку ішемічної хвороби серця (з ймовірністю 3.84, $p = 0.025$), ніж носії інших генотипів; при цьому жінки частіше зустрічались серед хворих на ішемічну хворобу серця, ніж в контрольній групі ($p = 0.034$) [108]. Генотип **1G/*1G CYP3A4* асоціюється з гіршим річним прогнозом виживання пацієнтів народності Хан в Китаї після гострого ішемічного інсульту [109]. Прогнозується, що визначення поліморфізму *CYP3A4*1G* може поліпшити ефективність лікування цукрового діабету 2 [110].

Отримані дані засвідчили, що як на початку, так і під час закінчення інтенсивної фази лікування у хворих на ВДТБ з різним генотипом *CYP3A4*1G* істотних відмінностей не спостерігалось. На початку лікування серед носіїв генотипу **1/*1* процеси розпаду і обсіменіння мали місце у 47,9%; в той же час серед хворих з мутантним алелем **G* (генотипи **1/*1G* + **1G/*1G*) вказані процеси спостерігались у 66,7%. Згідно лабораторних даних, на початку інтенсивної фази лікування лабораторні показники хворих з генотипом **1/*1* свідчили про більш важкий перебіг захворювання, ніж у

носіїв генотипу **1G/*1G* і **1/*1G*, що зайшло своє відображення у меншій кількості еритроцитів, дещо більшій ШОЕ і кількості лейкоцитів в першій групі. Водночас процеси туберкульозної інфільтрації на момент завершення інтенсивної фази лікування зустрічались у носіїв генотипу **1/*1* в 7,9 разів рідше, ніж у носіїв генотипу **1G/*1G* ($p < 0,05$), і в 5,3 рази рідше, ніж у хворих з мутантним алелем **G* (генотипи **1/*1G+*1G/*1G*) ($p < 0,05$). В результаті інтенсивної фази лікування у носіїв генотипу **1/*1* спостерігались вірогідні процеси нормалізації – зменшення ШОЕ, кількості лейкоцитів, зростання кількості еритроцитів. Аналогічна тенденція спостерігалась у носіїв інших генотипів, але мала не вірогідний характер ($p > 0,05$) у зв'язку з невеликою кількістю спостережень в групі і значною похибкою порівняно з іншими групами. В той же час, наприкінці інтенсивної фази лікування понад 40% хворих з генотипом **1/*1* мали підвищений рівень ШОЕ, водночас серед носіїв генотипу **1G/*1G* – такі хворі були відсутні. Отже, важко оцінити вплив поліморфізму *CYP3A4*1G* на перебіг інтенсивної фази лікування туберкульозу – клінічні дані свідчать про більш сприятливий перебіг лікування у носіїв генотипу **1/*1*, в той час як дослідження периферичної крові свідча про протилежне.

На жаль, в межах даної роботи не вдалось дослідити вплив поліморфізму *CYP3A4*1G* на концентрацію рифампіцину та ізоніазиду в крові у зв'язку з невеликою кількістю пацієнтів з мутованим алелем. Згідно літературних джерел відомо, що обидва алелі - **G* (дикий) і **A* (мутований) локусу *CYP3A4*1G* збільшують експресії промотора *CYP3A4* при цьому ефект алелю **G* залежить від розташування і орієнтації алелю; алелю **A* – не залежить; крім того промоторний ефект у алелю **A* дещо потужніший, ніж у алелю **G* [111]. Наявність алелю **A* (мутованого) супроводжувалась вищою транскрипційною активністю, ніж за наявності алелю **G* [108]. Фармакокінетичні дослідження виявили, що *CYP3A4*1G* асоціюється з підвищенням транскрипції mRNA і підвищенням каталітичної активності ферменту [109]. Доведено, що *CYP3A4*1G* (rs2242480) асоціюється зі

збільшенням в 1,26 рази експресії AC069294.1 ($p < 0.0001$) і зниженням експресії *CYP3A4* на 31% ($P = 0.008$) і *CYP3A5* на 39% ($p = 0.004$) [112].

В літературі існують певні протиріччя щодо впливу дослідженого поліморфізму на метаболічну активність – згідно одних даних наявність варіантної алелі **1G* асоціюється зі зниженням ферментної активності і підвищенням вмісту лікарських препаратів (фентанілу, аторвастатину і амлодипіну) [79,113,114], згідно інших - навпаки, з підвищенням ферментної активності і зниженням вмісту лікарських препаратів таких, як циклоспорин, такролімус [115,116]. Наприклад, місячний курс аторвастатином в дозі 20 мг на добу спричинив зниження вмісту тригліцеридів в крові, при чому найбільш істотне зниження було у носіїв генотипу **1G/*1G* ($20.9 \pm 5.0\%$), дещо менше зниження мало місце у носіїв генотипу **1/*1G* ($17.8 \pm 3.8\%$) і **1/*1* ($16.8 \pm 3.3\%$) [117]. Активність ферменту *CYP3A4* у носіїв генотипу **1G/*1G* була нижча, ніж у носіїв генотипу **1/*1* і **1/*1G*. Пацієнти з генотипом **1G/*1G* (227.8 ± 55.2 мкг) потребували меншу дозу фентанілу для досягнення контролю над болем протягом першої післяопераційної доби, ніж носії генотипу **1/*1* (381.6 ± 163.6 мкг) і **1/*1G* (371.9 ± 180.1 мкг) ($p < 0.05$) [118]. Пацієнти з генотипом **1/*1* мали вірогідно нижчий анальгетичний ефект під час гістероскопії і загальної анестезії з використанням фентанілу, ніж пацієнти з генотипом **1/*1G* або **1G/*1G* [119]. Гіпотензивний ефект амлодипіну був більш виразним при його застосуванні у носіїв генотипу **1G/*1G*, ніж у носіїв з генотипами **1/*1G* або **1/*1* [113]. Уявний кліренс імуносупресанту такролімусу був в два рази більшим у хворих з пересаженою ниркою і більшою ферментною активністю *CYP3A5*1* і *CYP3A4*1G* (с генотипами *CYP3A5*1/*1* або **1/*3*; і *CYP3A4*1/*1G* або *CYP3A4*1G/*1G*) порівняно з особами з меншою ферментною активністю (*CYP3A5*3/*3* і *CYP3A4*1/*1*) [116]. Ймовірно, що це пов'язано з тим, що *CYP3A4*1G* вірогідно впливає на експресію *CYP3A5* в більшому ступені, ніж на експресію *CYP3A4* [120].

Відомо, що рівень білірубіну і тимолової проби в крові характеризує детоксуючу функцію печінки. Отже, на початок лікування найвищий вміст білірубіну спостерігався у носіїв генотипу $*I/*I$, найменший – у носіїв генотипу $*IG/*IG$. Після проведення інтенсивної фази протитуберкульозної терапії вміст білірубіну знизився на 10,4% в групі осіб з генотипом $*I/*I$ ($p=0,023$) і в деякій мірі – у «помірних метаболізаторів». Можливо це пов'язане зі здатністю деяких протитуберкульозних препаратів, зокрема рифампіцину індукувати ферментативну функцію печінки з поступовим зниженням вмісту рифампіцину і кількості хворих з гіпербілірубінемією [121]. Водночас лише у носіїв генотипу повільних метаболізаторів вміст білірубіну зріс в 1,5 рази ($p<0,001$), що ймовірно пов'язано з меншою здатністю рифампіцину індукувати ферменти печінки і з погіршенням детоксуючої функції печінки у цієї групи хворих. На початок лікування активність маркерів цитолізу АлТ і АсТ вірогідно не відрізнялись між групами, однак спостерігалась певна тенденція до більш високої активності АсТ у носіїв генотипу $*I/*I$, ніж у осіб з генотипом $*I/*IG$ і $*IG/*IG$ – у останніх спостерігалась найнижча активність АсТ. Проведення інтенсивної фази лікування супроводжувалось незначним зростанням активності маркерів цитолізу у носіїв генотипу $*I/*I$ і істотним збільшенням як середніх показників активності, так збільшенням кількості хворих з гіперферментемією серед носіїв поліморфних алелів ($*I/*IG$ і $*IG/*IG$). Наприклад, у носіїв генотипу $*IG/*IG$ активність АлТ і АсТ зросла на 72,7% ($p=0,033$) і на 115,8% ($p=0,049$) відповідно. На початок лікування найвищий рівень ГТФ в плазмі крові, що розглядається як маркер холестазу, спостерігався у носіїв генотипу $*I/*IG$, дещо нижчий – у носіїв генотипу $*I/*I$ і $*IG/*IG$. Під час стаціонарного лікування активність ГТФ у носіїв генотипу $*I/*I$ практично не змінилась, водночас кількість хворих з гіперферментемією навіть зменшилась відносно вихідного рівня. Серед носіїв генотипу $*IG/*IG$ і особливо $*I/*IG$ спостерігалось зростання активності ГТФ, а також зростання кількості хворих з гіперферментемією.

Наведені дані свідчать про те, що на початок лікування істотних відмінностей у функції печінки у носіїв різного генотипу *CYP3A4*1G* не спостерігалось, хоча у носіїв генотипу **1/*1* були найвищі показники маркерів цитолізу, більш високий вміст білірубіну; у носіїв генотипу **1G/*1G* – навпаки, вказані показники були найнижчими. Після проведення інтенсивної фази лікування у носіїв генотипу «швидких метаболізаторів» вміст білірубіну знизився, що ймовірно пов'язано з індукцією ферментативних систем печінки під дією рифампіцину, показники цитолізу і холестази істотно не змінились. Наявність поліморфного алелю **G* асоціювалась зі значним зростанням активності маркерів цитолізу АлТ і АсТ, особливо при гомозиготному стані поліморфного алелю (**1G/*1G*); зростання активності маркеру холестази ГТФ (найбільше при гетерозиготному стані алелю – «помірні метаболізатори»). Згідно наших даних наявність варіантної алелі супроводжувалась уповільненням біосинтетичної (другої) фази біотрансформації в печінці, а також інтенсивним цитолізом, в тому числі в печінці, що ймовірно пов'язано з уповільненням біотрансформації протитуберкульозних препаратів і накопиченням токсичних сполук.

Отже, поліморфізм *CYP3A4*1G* має контраверсійне значення для перебігу протитуберкульозного лікування, так само як і для вихідного функціонального стану печінки у хворих на туберкульоз. Наявність генотипу **1G/*1G* є несприятливим фактором щодо ймовірності виникнення ураження печінки, погіршення детоксикуючої функції печінки під час протитуберкульозної терапії. Визначення генотипу *CYP3A4*1G* у хворих на туберкульоз легень дозволить виділити групи ризику щодо ураження печінки, що дозволить проводити своєчасну корекцію фармакотерапії.

6.3. Комбінований поліморфізм *CYP3A4*1B* і *CYP3A4*1G* та його значення при проведенні хіміотерапії хворих на вперше діагностований туберкульоз легень

Активність ферменту *CYP3A4* залежить від багатьох локусів гену *CYP3A4*, в тому числі промоутерного регіону *CYP3A4*1B* та інтрону *CYP3A4*1G* та низки інших. При цьому значення різних локусів гену *CYP3A4* для активності ферментів відрізняється, що обумовлює і різницю біологічних ефектів поліморфізму локусів. Значення поліморфізму локусів *CYP3A4*1B* і *CYP3A4*1G* для лікування туберкульозу було наведено вище. Зважаючи на складні зв'язки між різними локусами одного гену в межах цієї роботи був проведений аналіз комплексного впливу поліморфізму локусів *CYP3A4*1B* і *CYP3A4*1G*. Для дослідження значення поліморфізму гену *CYP3A4* одночасно було враховано генотип **1B* і **1G*. Особи, які не мали жодної мутації у досліджених локусах (носії генотипів **AA* і **I/I* відповідно), було віднесено до носіїв генотипу «швидких метаболізаторів» (*RM*, “*rapid metabolizers*”). Особи, які мали лише одну мутацію у двох досліджених локусах (носії генотипу **AG* + **I/I*; **AA* + **I/IG* відповідно) було віднесено до носіїв генотипу «помірних метаболізаторів» (*IA*, “*intermediate metabolizers*”). Особи, які мали дві мутації у досліджених локусах (генотипи **AA* + **IG/IG*; **AG* + **I/IG* відповідно), було віднесено до носіїв генотипу «повільних метаболізаторів» (*SM*, “*slow metabolizers*”).

Відповідно до комбінованого поліморфізму *CYP3A4*1B* і **1G* наявність мутантних алелів супроводжувалась дещо гіршими результатами лікування – більшим поширенням інфільтративної форми ураження легень у носіїв генотипу **IM*, ніж в групі **RM* (84,6% проти 55,9%, $P < 0,05$), і довшим припиненням процесів деструкції легень, ніж в групі **RM* (80,0 проти 55,8 днів, $P < 0,001$). Водночас серед носіїв генотипу **SM* частіше зберігались явища інфільтрації легеневої тканини, ніж у хворих з генотипом **RM* (33,3% проти 8,3%, $P < 0,05$). В результаті проведення інтенсивної фази

лікування найбільш інтенсивно показники периферичної крові нормалізувались у носіїв генотипу **RM*, які у великій мірі наблизились до аналогічних показників **SM* (кількість лейкоцитів, середній рівень ШОЕ, відносна кількість лімфоцитів тощо). Саме у хворих, які були носіями мутантного алелю **A* локусу *CYP3A4*1B* спостерігалась більша кількість випадків субефективної концентрації рифампіцину, а також спостерігалась тенденція до зниження концентрації ізоніазиду і рифампіцину в крові. Ймовірно, що саме зниження концентрації вмісту протитуберкульозних препаратів і обумовило зниження ефективності лікування туберкульозу у носіїв генотипу **SM*. І навпаки, у носіїв генотипу **AA* локусу *CYP3A4*1B* спостерігалась тенденція до більш високого вмісту ізоніазиду і рифампіцину у хворих на ВДТБ, що ймовірно сприяло кращій ефективності лікування в групі **RM*.

Згідно отриманих даних на початку інтенсивної лікування, найменший рівень білірубіну спостерігався у носіїв генотипу **SM* (8,72 ммоль/л проти 15,65 і 15,68 в групі **RM* і **IM* відповідно, $p < 0,05$), також в цій групі спостерігалась дещо нижча активність АлТ, АсТ і ГТФ, ніж у носіїв генотипу **RM* і **IM*. Аналогічно наявність мутантних алелів в локусах *CYP3A4*1B* або *CYP3A4*1G* асоціювалась з дещо нижчими показниками маркерів цитолізу (АлТ, АсТ) і нижчим вмістом білірубіну, ніж у носіїв відповідних «диких» алелів.

В результаті інтенсивної фази лікування у носіїв генотипу **RM* і **IM* спостерігалось деяке зниження вмісту білірубіну в крові – на 14,2% ($p < 0,05$) і на 27,1% ($p > 0,05$) відповідно, водночас в групі генотипу **SM* вміст білірубіну зріс на 42,9% ($p < 0,05$). Водночас активність маркерів цитолізу АлТ, АсТ і ГТФ мали тенденцію до зростання як в групі **RM*, так і особливо у носіїв генотипу **IM*. Однак найбільш інтенсивне зростання активності маркерів цитолізу спостерігалось в групі **SM*, зокрема активність АсТ і АлТ зросла на 98,9% ($p = 0,034$) і на 76,1% ($p > 0,05$). При цьому серед мutowаних алелів, що досліджувались, саме алель **1G* локусу *CYP3A4*1G* стали

визначальною для значного зростання показників цитолізу (АлТ і АсТ) і зростання вмісту білірубіну, оскільки ізольоване дослідження локусу *CYP3A4*1B* виявило відсутність такої закономірності для мутованого алелю **G*. Отже, визначення поліморфізму локусу *CYP3A4*1B* є прогностичним критерієм ефективності лікування і вмісту протитуберкульозних препаратів (ізоніазиду, рифампіцину) в крові, водночас поліморфізм локусу *CYP3A4*1G* може допомогти у прогнозуванні ризику виникнення ураження печінки під час протитуберкульозної хіміотерапії.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено нове вирішення актуального наукового завдання клінічної фармакології та фтизіатрії – підвищення ефективності і безпечності фармакотерапії у хворих на вперше діагностований туберкульоз легень шляхом дослідження клініко-фармакологічного значення цитохрому-Р4503А4 у хворих, що дозволяє персоніфікувати та оптимізувати фармакотерапію хворих на туберкульоз легень.

1. Поширеність «дикого» алелю *А локусу *CYP3A4*1B* і «дикого» алелю *1 локусу *CYP3A4*1G* на південному заході України становили 97,6% і 88,8% відповідно і була близькою до результатів досліджень в країнах Європи 95-96% і 91,8% відповідно. Стосовно обох локусів спостерігалась тенденція до зростання поширеності мутантних алелів зі збільшенням віку досліджених добровольців. Відповідно до поліморфізму локусу *CYP3A4*1G* серед хворих на туберкульоз частіше зустрічались носії генотипу *1/*1, ніж серед здорових добровольців (91,4% проти 81,6%; $p < 0,05$), водночас згідно поліморфізму локусу *CYP3A4*1B* серед хворих на туберкульоз легень дещо частіше спостерігалась носії генотипу *AG, ніж в контрольній групі (8,6% проти 6,3%, $p > 0,05$).

2. З високим ступенем ймовірності згідно розрахунків PASS прогнозується участь ферменту *CYP3A4* у метаболізмі рифампіцину (0,891). Хворі з генотипом *AG локусу *CYP3A4*1B* через 2 год. після введення рифампіцину в 5 разів частіше мали субтерапевтичну концентрацію рифампіцину, ніж носії генотипу *AA ($p < 0,05$); через 4 год. - на 20% частіше ($p < 0,05$); через 6 год. – майже в 10 разів частіше ($p < 0,05$). У носіїв генотипу *AA спостерігалась дещо вища концентрація ізоніазиду в крові і рідше зустрічались випадки субтерапевтичної концентрації ізоніазиду, ніж у носіїв генотипу *AG ($p > 0,05$).

3. На початок лікування носії генотипу *AG локусу *CYP3A4*1B* мали дещо нижчу активність маркерів цитолізу АлТ, АсТ і маркеру холестазу ГГТ,

ніж носії генотипу **AA*. Після проведення інтенсивної фази лікування активність маркерів цитолізу АлТ і АсТ, та маркеру холестазу ГГТ у хворих на туберкульоз з генотипом **AA* недостовірно зросла – на 7,0%, на 9,3% і на 4,5% відповідно ($p>0,05$); у хворих з генотипом **AG* активність АлТ, АсТ і ГГТ навпаки мала тенденцію до зниження – на 18,7%, на 3,0% і на 9,0% відповідно ($p>0,05$). Наприкінці інтенсивної фази лікування середня активність АлТ у носіїв генотипу **AA* була в 1,8 разів вища, ніж у носіїв генотипу **AG*.

4. Під час закінчення інтенсивної фази лікування у хворих з різним генотипом *CYP3A4*1G* істотних відмінностей у перебігу туберкульозного процесу не спостерігалось. Після проведення інтенсивної фази лікування у носіїв генотипу **1/*1* спостерігалось зниження вмісту загального білірубіну в крові на 10,4% відносно початкового рівня ($p=0,023$), водночас у носіїв генотипу **1G/1G* середній рівень загального білірубіну навпаки збільшився в 1,5 рази ($p<0,001$). Після проведення інтенсивної фази лікування активність маркерів цитолізу АлТ і АсТ у хворих на туберкульоз з генотипом **1/*1* недостовірно зросла – на 6,0% і на 2,2% ($p>0,05$), водночас у носіїв генотипу **1G/1G* активність АлТ і АсТ зросла на 72,7% ($p=0,033$) і на 115,8% ($p=0,049$) відповідно.

5. В результаті інтенсивної фази лікування у носіїв генотипу **RM* і **IM* спостерігалось деяке зниження вмісту білірубіну в крові – на 14,2% ($p<0,05$) і на 27,1% ($p>0,05$) відповідно, водночас в групі генотипу **SM* вміст білірубіну зріс на 42,9% ($p<0,05$). При цьому активність маркерів цитолізу АлТ, АсТ і ГТФ мали тенденцію до зростання як в групі **RM*, так і особливо у носіїв генотипу **IM*. Однак найбільш інтенсивне зростання активності маркерів цитолізу спостерігалось в групі **SM*, зокрема активність АсТ і АлТ зросла на 98,9% ($p=0,034$) і на 76,1% ($p>0,05$).

6. При завершенні інтенсивної фази лікування процес туберкульозного обмінення легеневої тканини спостерігався майже втричі частіше у носіїв генотипу **AG* локусу *CYP3A4*1B*, ніж при генотипі **AA* ($P<0,05$). Згідно

даних культурального методу наприкінці інтенсивної фази лікування бактеріовиділення спостерігалось приблизно у 37,5 % носіїв генотипів *AA і 77,8% носіїв генотипу *AG, тобто хворі з генотипом *AG в 2,1 рази частіше були бактеріовиділювачами на момент завершення інтенсивної фази лікування, ніж носії генотипу *AA ($p < 0,05$).

7. Відповідно до результатів визначення поліморфізму *CYP3A4*1B* і *CYP3A4*1G* наявність мутантних алелів супроводжувалась дещо гіршими результатами лікування – більшим поширенням інфільтративної форми ураження легень у носіїв генотипу *IM, ніж в групі *RM (84,6% проти 55,9%, $p < 0,05$), і довшим припиненням процесів деструкції легень, ніж в групі *RM (80,0 проти 55,8 днів, $p < 0,001$). Водночас серед носіїв генотипу генотипу *SM частіше зберігались явища інфільтрації легеневої тканини, ніж у хворих з генотипом *RM (33,3% проти 8,3%, $p < 0,05$).

8. Встановлено, що визначення поліморфізму *CYP3A4*1B* є важливим прогностичним фактором ризику розвитку субтерапевтичної концентрації рифампіцину і відповідно низької ефективності протитуберкульозної терапії, а визначення генотипу *CYP3A4*1G* у хворих на туберкульоз дозволяє виявити групу ризику хворих щодо можливого токсичного ураження гепатобіліарної системи і, таким чином, підвищити безпечність лікування.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

На основі встановлених у дослідженні фактів пропонується для впровадження в практику протитуберкульозних закладів, науково-дослідних інститутів наступне:

1. На початок протитуберкульозної хіміотерапії доцільно визначати у хворих на вперше діагностований туберкульоз легень генотип *CYP3A4*1B*. Це дозволяє визначити групи пацієнтів з генотипом **AG*, яка характеризується більшим ризиком розвитку субтерапевтичної концентрації рифампіцину в крові хворих під час лікування і обумовлює необхідність індивідуального підбору дози рифампіцину згідно генотипу *CYP3A4*1B*.

2. Доцільно на початку протитуберкульозної хіміотерапії визначати серед хворих на вперше діагностований туберкульоз легень осіб з генотипом **1G/1G* локусу *CYP3A4*1G*, що дозволить виділити групу пацієнтів з високим ризиком розвитку небажаних реакцій, зокрема гепатотоксичості, які вимагають ретельного моніторингу функції печінки та відповідної фармакологічної корекції.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Сучасні тенденції вивчення проблем туберкульозу / Ю.І.Фещенко // Український пульмонологічний журнал. – 2019. - №1. – С. 8-24.
2. Перспективи поліпшення епідеміологічної ситуації з туберкульозу в Україні / В.М. Мельник, В.Г. Матусевич, І.О. Новожилова, Л.В. Веселовський та ін. // Український пульмонологічний журнал. – 2018 (додаток). – №1. – С. 47.
3. Оцінка результатів лікування хворих на туберкульоз / В.М. Мельник, І.О. Новожилова, В.Г. Матусевич // Український пульмонологічний журнал. – 2018. - №4. – С. 35-41.
4. Ситуація щодо рецидивів туберкульозу в різних країнах світу / В.М. Мельник, В.Г. Матусевич, І.О. Новожилова, Л.В. Веселовський та ін. // Український пульмонологічний журнал. – 2021. – №2. – С. 5-10.
5. WHO. Global Tuberculosis Report 2021. Geneva: WHO. 2021, 43 p. Available at: <https://apps.who.int/iris/rest/bitstreams/1379788/retrieve>
6. Статистика з туберкульозу / Центр громадського здоров'я МОЗ України; доступ: <https://phc.org.ua/kontrol-zakhvoryuvan/tuberkuloz/statistika-z-tb> (на 02.10.2022).
7. Туберкульоз в Україні: аналітично-статистичний довідник за 2021 р. / ДЗ «Центр медичної статистики Міністерства охорони здоров'я України». - Київ, 2022. – 89 с.
8. Ситуація з туберкульозу серед медичних працівників Вінницької області / С.В. Зайков, О.П. Литвинюк // Український пульмонологічний журнал. – 2018. – №1 (додаток). – С. 21-22.
9. Аналіз клінічного перебігу та медикаментозної чутливості мікобактерій туберкульозу до антимикобактеріальних препаратів у дітей з вперше діагностованим туберкульозом / О. І.Білогорцева, А. І.Барбова, С. В.Миронченко, І. Є.Шехтер та ін. // Український пульмонологічний журнал. – 2018. – №1 (додаток). – С. 12-13.

10. Хіміорезистентний туберкульоз та цукровий діабет: небезпека двох епідемій / Л.Д. Тодоріко, І.О. Сем'янів, Ж.В. Сулятицька // Український пульмонологічний журнал. – 2018. – №1 (додаток). – С. 70-71.

11. Определение профиля резистентности к противотуберкулезным препаратам у штаммов *M. tuberculosis*, выделенных в рамках проекта по распространению химиорезистентных микобактерий туберкулеза в Украине / Ю.И. Фещенко, А.А. Журило, А.И. Барбова, П.С. Трофимова, С.В. Миронченко // Український пульмонологічний журнал. – 2019. - №1. – С. 33-40.

12. Питома вага важких випадків хіміорезистентного туберкульозу у загальній структурі захворюваності / Л.Д. Тодоріко, М.І. Гуменюк, М.М. Кужко, О.С. Шевченко та ін. // Український пульмонологічний журнал. – 2018. – №1 (додаток). – С. 67-68.

13. Великі залишкові зміни в легенях як наслідок резистентності мікобактерії туберкульозу / М.М. Кужко, А.В. Тараненко // Український пульмонологічний журнал. – 2018. – №1 (додаток). – С. 25.

14. Зміни штамів МБТ у хворих на хіміорезистентний туберкульоз легень у процесі інтенсивної фази лікування / А.В. Рогожин, П.І. Потейко, О.С. Константиновська, М.М. Кочуєва, О.С. Солодянкін // Український пульмонологічний журнал. – 2018. – №1 (додаток). – С. 56.

15. Досвід застосування режиму антимікобактеріальної терапії із включенням бедаквіліну для раніше неефективно лікованого випадку із розширено резистентним туберкульозом / Н.А. Литвиненко, Г.О. Варицька, М.В. Погребна, Ю.О. Сенько та ін. // Український пульмонологічний журнал. – 2018. – №1 (додаток). – С. 36-37.

16. Особливості клінічного перебігу та ефективність лікування хворих на мультирезистентний туберкульоз на стаціонарному етапі / О.А. Ткач, К.Д. Мажак, І.Л. Платонова, Н.Є Лаповець, Є.І. Писаренко // Український пульмонологічний журнал. – 2018. – №1 (додаток). – С. 66.

17. Ставлення хворих на туберкульоз до захворювання та лікування / І.О. Новожилова, М.І. Линник, О.Р. Тарасенко, А.М. Приходько та ін. // Український пульмонологічний журнал. – 2021. – №2. – С. 11-15.

18. Безпечність та ефективність 12-місячного режиму антимікобактеріальної терапії у хворих на мультирезистентний туберкульоз з урахуванням віддаленого періоду / Н.А. Литвиненко, Г.О. Варицька, М.В. Погребна, Ю.О. Сенько та ін. // Український пульмонологічний журнал. – 2018. – №1 (додаток). – С. 32-35.

19. Nasiri MJ, Zangiabadian M, Arabpour E, et al. Delamanid-containing regimens and multidrugresistant tuberculosis: A systematic review and meta-analysis. *International Journal of Infectious Diseases*. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2022.02.043>.

20. Оптимальна тривалість індивідуалізованих режимів антимікобактеріальної терапії для хворих на лікарсько-стійкий туберкульоз із включенням бедаквіліну та перепрофільованих ліків / Ю.І. Фещенко, Н.А. Литвиненко, Н.В. Гранкіна, М.В. Погребна та ін. // Український пульмонологічний журнал. – 2022. – №2–3. – С. 5-11.

21. Hatami H, Sotgiu G, Bostanghadiri N, et al. Bedaquiline-containing regimens and multidrugresistant tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. *J. Bras. Pneumol.* 2022;48(2):e202103844. doi: 10.36416/1806-3756/e20210384.

22. Stancil S, Mirzayev F, Abdel-Rahman S. Profiling Pretomanid as a Therapeutic Option for TB Infection: Evidence to Date. *Drug Des Devel. Ther.* 2021;15:2815–2830. doi: 10.2147/DDDT.S281639.

23. Chemical Classes Presenting Novel Antituberculosis Agents Currently in Different Phases of Drug Development: A 2010–2020 Review / Klaudia T. Angula, Lesetja J. Legoabe, Richard M. Beteck // *Pharmaceuticals (Basel)*. – 2021. – Vol. 14(5). – Art. 461.

24. Клінічна оцінка ефективності препарату мурамілпептидного ряду у хворих на мультирезистентний туберкульоз / М.І. Сахелашвілі, І.Л.

Платонова, О.П. Костик, А.Д. Штибель та ін. // Український пульмонологічний журнал. – 2018. – №2. – С. 36-38.

25. Novel isoniazid derivative as promising antituberculosis agent / Galyna P. Volynets, Michail A. Tukalo, Volodymyr G. Bdzhola, Nataliia M. Derkach, et al. // Future Microbiology. – 2020. – Vol.15(10). – P. 869-879.

26. Пошук нових рішень в лікуванні хіміорезистентного туберкульозу / Н.А. Литвиненко, Г.О. Варицька, М.В. Погребна, Ю.О. Сенько та ін. // Український пульмонологічний журнал. – 2018. – №1 (додаток). – С. 46.

27. Причини неефективного лікування хворих на туберкульоз легень / В.М. Мельник, І.О. Новожилова, В.Г. Матусевич / Український пульмонологічний журнал. – 2020. - №1. – С. 5-9.

28. Порівняльна оцінка ефективності лікування хворих на хіміорезистентний туберкульоз легень, при різних термінах його діагностики / О.В. Філатова // Український пульмонологічний журнал. – 2018. – №1 (додаток). – С. 79.

29. Нові фено-генотипічні технології в діагностиці туберкульозу / Журило О.А., Барбова А.І., Сладкова Л.М. // Український пульмонологічний журнал. – 2022. – №1. – С. 35-46.

30. Новые подходы к организации и проведению лабораторной диагностики туберкулеза в соответствии с новым диагностическим алгоритмом ВОЗ 2017 «Алгоритм лабораторной диагностики туберкулеза и мониторинга лечения легочного туберкулеза и лекарственно-устойчивого туберкулеза, с учетом быстрых молекулярных тестов» / А.И. Барбова // Український пульмонологічний журнал. – 2018. – №1 (додаток). – С. 9-11.

31. Порівняльні результати визначення медикаментозної резистентності молекулярно-генетичними та фенотипічними методами дослідження / А.І. Барбова, О.А. Журило, П.С. Трофімова, С.В. Миронченко // Український пульмонологічний журнал. – 2018. – №1 (додаток). – С. 6-8.

32. Кресюн В.И. Фармакогенетические основы взаимодействия организма и лекарств / В.И. Кресюн, Ю.И. Бажора. – Одесса : Одес. гос. мед. ун-т, 2007. – 164 с.
33. Pharmacogenomics: Challenges and Opportunities in Therapeutic Implementation / Yui-Wing Francis Lam, Stuart R. Scott. - Academic Press, 2018. - 442 p.
34. Фармакокінетика ізоніазиду у хворих на туберкульоз з різним генотипом ацетилювання / В.Й. Кресюн, В.В. Філюк, П.Б. Антоненко, К.К. Рогач, Ю.М. Даниленко, Г.В. Мозолевич // Український пульмонологічний журнал. – 2013. – № 3. – С. 24–27.
35. Heller F. Genetics/genomics and drug effects / F. Heller // Acta Clin. Belg. – 2013. – Vol. 68, N 2. – P. 77-80.
36. Shin J. Clinical pharmacogenomics of warfarin and clopidogrel / J. Shin // J. Pharm. Pract. – 2012. – Vol. 25, N 4. – P. 428-438.
37. Betram G Katzung Basic and Clinical Pharmacology, 14th Edition. - McGraw-Hill Medical, 2018.- 1235 p.
38. <https://compendium.com.ua/dec/268200/76958/>
39. Пат. 54214 Україна, МПК (2006) А61В 10/00 Спосіб визначення схильності до пародонтиту в експерименті / Шнайдер С.А., Ульянов В.О. (Україна). ; заявник і патентовласник Одес. держ. мед. ун-т. - № u201007715 ; заявл. 21.06.2010 ; опубл. 25.10.2010, Бюл. №20. – 4 с.
40. Effect of NAT2 gene polymorphism on bladder cancer risk in Slovak population / L. Klimčáková, V. Habalová, M. Sivoňová, V. Nagy [et al.] // Mol. Biol. Rep. – 2011. – Vol. 38, N 2. – P. 1287-1293.
41. Антоненко П. Б. Поліморфізм генотипу N-ацетилтрансферази 2 серед хворих на туберкульоз / П. Б. Антоненко, В. Й. Кресюн // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2013. – Т. 17, № 1. – С. 51–55.

42. Антоненко П. Б. Особливості перебігу туберкульозу легень залежно від генотипу NAT2 / П. Б. Антоненко // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – 2014. – № 1 (16). – С. 40–44.

43. Антоненко П.Б. Вплив поліморфізму процесів біотрансформації ліків на ефективність протитуберкульозної хіміотерапії у людини : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня доктора мед. наук : спец. 14.01.28 „Клінічна фармакологія” / П. Б. Антоненко. — Одеса, 2015. — 38 с.

44. Ramachandran Geetha Role of pharmacogenomics in the treatment of tuberculosis: a review / Geetha Ramachandran, Soumya Swaminathan // Pharmacogenomics and Personalized Medicine. – 2012. - № 5. – P. 89–98.

45. PBPK Analysis to Study the Impact of Genetic Polymorphism of NAT2 on Drug-Drug Interaction Potential of Isoniazid / Ankit Balhara, Saranjit Singh // Pharmaceutical Research. – 2021. – Vol.38(9). – P. 1485-1496.

46. Шаяхметова Г.М. Особливості реалізації побічної дії протитуберкульозних засобів на чоловічу репродуктивну функцію та обґрунтування підходів до її фармакологічної корекції (експериментальне дослідження) : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня доктора біологічних наук : спец. 14.03.05 „Фармакологія” / Г. М. Шаяхметова. — Київ, 2018. — 43 с.

47. Boelsterli U.A.. Mechanisms of isoniazid-induced idiosyncratic liver injury: Emerging role of mitochondrial stress / U.A. Boelsterli, K.K. Lee // J. Gastroenterol. Hepatol. – 2014. – Vol. 29. – P. 678–687.

48. Roy P.D. Pharmacogenomics of anti-TB drug-related hepatotoxicity / P.D. Roy, M. Majumder, B. Roy // Pharmacogenomics. – 2008. – Vol. 9, N 3. – P. 311–321.

49. Pharmacometabonomic characterization of xenobiotic and endogenous metabolic phenotypes that account for inter-individual variation in isoniazid-induced toxicological response / K. Cunningham, S. P. Claus, J. C. Lindon [et al.] // J. Proteome Res. – 2012. – Vol. 9, N 11. – P. 4630-4642.

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

51. Остапчук К. В. Оптимізація ефективності лікування та якості життя хворих на вірусний гепатит С на підставі оцінки поліморфізму генів детоксикації ксенобіотиків : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.28 / К. В. Остапчук ; Одес. нац. мед. ун-т. - О., 2015. - 23 с.

52. Antonenko P.V. Polymorphism of the biotransformation gene cytochrome P-450 2C9 in patients with tuberculosis / P.V. Antonenko, V.I. Kresyun // Molecular genetics, microbiology and virology. – 2014. – Vol. 29, N 3. – P. 110–114.

53. Прикладне значення генотипування / Ю.С. Рудик, С.М. Пивовар, А.С. Попович, В.В. Ніколаєва // Клінічна фармація. — 2012. — Т. 16, №4. – С. 4-10.

54. Антоненко П. Б. Поліморфізм генотипу цитохрому-450 2E1 у хворих на туберкульоз / В.Й. Кресюн, В.В. Філюк, П.Б. Антоненко, Ю.М. Даниленко, Г.В. Мозолевич // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2014. – № 3. – С. 77–81.

55. The association between cytochrome P450 polymorphisms and anti-tuberculosis drug-induced liver injury: A systematic review and meta-analysis / Xingrena Liu, Song Ren, Jingweic Zhang, Dalind Xu et al. // Annals of Palliative Medicine. – 2021. – Vol.10(6). – P. 6518-6534.

56. *NAT2* and *CYP2E1* polymorphisms and antituberculosis drug-induced hepatotoxicity in Peruvian patients / Luis Jaramillo-Valverde, Kelly S. Levano, David D. Tarazona, Silvia Capristano et al. // Molecular Genetics and Genomic Medicine. – 2022. – Vol.10 (8). – Art. e1987.

57. Relationship of anti-tuberculosis drug-induced liver injury and genetic polymorphisms in *CYP2E1* and *GST* / Eliana Abreu Santos, José Carlos Saraiva

Gonçalves, Marcos K. Fleury, Afrânio L. Kritski, et al. // *Brazilian Journal of Infectious Diseases*. – 2019. – Vol.23(6). – P. 381-387.

58. Association of genetic polymorphisms of CYP2E1, NAT2, GST and SLCO1B1 with the risk of anti-tuberculosis drug-induced liver injury: A systematic review and meta-analysis / Yang Seungwona, Hwang Se Jung, Park Jung Yun, Chung Eun Kyoung et al. // *BMJ Open*. – 2019. – Vol.9(8). – Art.e027940.

59. Association of drug metabolic enzyme genetic polymorphisms and adverse drug reactions in patients receiving rifapentine and isoniazid therapy for latent tuberculosis / Yu Ya-Yena, Tsao Shih-Mingc, Yang Wen-Tae, Huang Wei-Chang et al. // *International Journal of Environmental Research and Public Health*. – 2020. – Vol.17(1). – Art. 210.

60. Pharmacogenetics of Between-Individual Variability in Plasma Clearance of Bedaquiline and Clofazimine in South Africa / David W. Haas, Mahmoud Tareq Abdelwahab, Stijn W. van Beek, Paxton Baker et al. // *The Journal of infectious diseases*. – 2022. – Vol. 226(1). – P. 147-156.

61. Hepatocytic transcriptional signatures predict comparative drug interaction potential of rifamycin antibiotics / Shetty Ravi Dyavar, Timothy M. Mykris, Lee C. Winchester, Kimberly K. Scarsi et al. // *Scientific Reports*. – 2020. – Vol.10(1). – Art. 12565.

62. Population pharmacokinetics and pharmacogenetics of ethambutol in adult patients coinfecting with tuberculosis and HIV / Jespera Sundell, Emileb Bienvenu, Sofiaa Birgersson, Angelaa Abelo et al. // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2020. – Vol.64(2). – Art. e01583.

63. Association of POR and PPAR α polymorphisms with risk of anti-tuberculosis drug-induced liver injury in Western Chinese Han population / Chunying Zhang, Lin Jiao, Hao Bai, Zhenzhen Zhao et al. // *Infection, Genetics and Evolution*. – 2020. – Vol.79. – Art. 104147.

64. Huang YS. Recent progress in genetic variation and risk of antituberculosis drug-induced liver injury. *J Chin Med Assoc.* 2014 Apr;77(4):169-73.

65. Effects of tuberculosis, race, and human gene SLCO1B1 polymorphisms on rifampin concentrations / Marc Weiner, Charles Peloquin, William Burman, Chi-Cheng Luo [et al.] // *Antimicrobial agents and chemotherapy.* – 2010. – Vol. 54, N 10. – P. 4192–4200.

66. Implementation of a next-generation sequencing-based targeted approach for full-length CYP3A4 gene sequencing / Agnijaa Kivrane, Viktorijaa Igumnova, Janisa Kimsis, Laumaa Freimane et al. // *Pharmacogenomics.* – 2021. – Vol. 22(9). – P. 519-527.

67. The Making of a CYP3A Biomarker Panel for Guiding Drug Therapy / Danxin Wang, Wolfgang Sadee // *J. Pers. Med.* – 2012. - N2. – P. 175-191. doi:10.3390/jpm2040175

68. Influence of UGT2B7, CYP3A4, and OPRM1 Gene Polymorphisms on Transdermal Buprenorphine Pain Control in Patients with Critical Lower Limb Ischemia Awaiting Revascularization / F. Blanco, C. Muriel, J. Labrador, JR. Gonzalez-Porras et al. // *Pain Pract.* – 2015. – Sep 26. doi: 10.1111/papr.12343.

69. The Impact of Genetic Variation on Sensitivity to Opioid Analgesics in Patients with Postoperative Pain: A Systematic Review and Meta-Analysis / Zhen-Yu Ren, Xiao-Qing Xu, Yan-Ping Bao, Jia He et al. // *Pain Physician.* – 2015. – Vol. 18. – P. 131-152.

70. CYP3A4*1G Genetic Polymorphism Influences Metabolism of Fentanyl in Human Liver Microsomes in Chinese Patients / J.J. Yuan, J.K. Hou, W. Zhang, Y.Z. Chang et al. // *Pharmacology.* – 2015. – Vol.96 (1-2). – P. 55-60. doi: 10.1159/000433441

71. The CYP3A4*22 C>T single nucleotide polymorphism is associated with reduced midazolam and tacrolimus clearance in stable renal allograft recipients / de Jonge, L. Elens, H. de Loor, R.H. van Schaik // *Pharmacogenomics J.* – 2015. – Vol.15(2). – P. 144-152. doi: 10.1038/tpj.2014.49.

72. Effect of CYP3A4*1G, CYP3A5*3, POR*28, and ABCB1 C3435T on the pharmacokinetics of nifedipine in healthy Chinese volunteers / X.F. Wang, L. Yan, H.M. Cao, L.M. Wei et al. // *Int J Clin Pharmacol Ther.* – 2015. – Vol.53(9). – P.737-745. doi: 10.5414/CP202211.

73. Fatal Methadone Toxicity: Potential Role of CYP3A4 Genetic Polymorphism / Lauren L. Richards-Waugh, Donald A. Primerano, Yulia Dementieva, James C. Kraner, Gary O. Rankin // *Journal of Analytical Toxicology.* – 2014. – Vol.38. – P. 541–547.

74. Асоціація між генами протизапальних цитокінів та хворими на мультирезистентний туберкульоз легень / Д.О. Бутов, М.М. Кужко, Г.Л. Степаненко, Т.С. Бутова // *Український пульмонологічний журнал.* – 2018. – №1 (додаток). – С. 14-15.

75. Наказ МОЗ України №318 від 24.05.2006 «Про затвердження Проколу по впровадженню ДОТС-стратегії в Україні»: зб. нормат. док. з охорони здоров'я. / складена Ю. І. Фещенко, С. О. Черенько, В. М. Мельник // Київ, 2006. – 49 с. (Нормативні директивні правові документи).

76. Флетчер Р. Клиническая эпидемиология. Основы доказательной медицины / Флетчер Р., Флетчер С., Вагнер Э.; пер. с англ. – Медиа Сфера, 1998. – 352 с.

77. Filimonov, D. A., Poroikov, V.V. PASS: Computerized prediction of biological activity spectra for chemical substances. In: *Bioactive Compound Design: Possibilities for Industrial Use*, Oxford: BIOS Scientific Publishers 1996, 47-56.

78. Loiïc Le Marchand. Estrogen Metabolism–Related Genes and Breast Cancer Risk: The Multiethnic Cohort Study / Loiïc Le Marchand, Timothy Donlon, Laurence N. Kolonel, Brian E. Henderson, et al. // *Estrogen Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* – 2005. – Vol. 14(8). – P. 1998-2003. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-05-0076.

79. Yuan Gao, Li-rong Zhang, Qiang Fu CYP3A4*1G polymorphism is associated with lipid-lowering efficacy of atorvastatin but not of simvastatin. *Eur J*

Clin Pharmacol. 2008 Sep;64(9):877-82. Available from: doi: 10.1007/s00228-008-0502-x.

80. Goldstein J. A. Genetic tests which identify the principal defects in CYP2C19 responsible for the polymorphism in mephenytoin metabolism / J. A. Goldstein, J. Blaisdell // *Methods Enzymol.* – 1996. – Vol. 272. – P. 210-218.

81. Sullivan-Klose T. H., Ghanayem B. I., Bell D. A. [et al.] The role of the CYP2C9-Leu359 allelic variant in the tolbutamide polymorphism // *Pharmacogenetics.* – 1996. – Vol. 6, N 4. – P. 341-349.

82. Шендерова, Р. И. Определение активного тубазида в сыворотке крови методом Вилленберга / Р. И. Шендерова // *Лабораторное дело.* – 1975. - №2. – С. 114-116.

83. Пат. 88002 Україна, МПК (2014.01) А61К31/00, С12Q, 1/68 (2006.01), С12R 1/32 (2006/01) Спосіб визначення вмісту препарату рифампіцину у сироватці крові під час хіміотерапії туберкульозу / Антоненко П. Б., Кресюн В. Й., Годован В. В., Антоненко К. О., Анісімов В. Ю., Щербаков С. В. ; заявник і патентовласник Одес. нац. мед. ун-т. – № u201311707 ; заявл. 04.10.2013 ; опубл. 25.02.2014, Бюл. № 4/2014. – 4 с.

84. Takahashi M, Taniguchi N. Maillard reaction in vivo and its relevance to diseases: editorial and dedication. *Glycoconj J.* 2021 Jun;38(3):277-281. doi: 10.1007/s10719-021-09996-6.

85. Shen CY, Lu CH, Wu CH, Li KJ, Kuo YM, Hsieh SC, Yu CL. The Development of Maillard Reaction, and Advanced Glycation End Product (AGE)-Receptor for AGE (RAGE) Signaling Inhibitors as Novel Therapeutic Strategies for Patients with AGE-Related Diseases. *Molecules.* 2020 Nov 27;25(23):5591. doi: 10.3390/molecules25235591.

86. Vlasova II. Peroxidase Activity of Human Hemoproteins: Keeping the Fire under Control. *Molecules.* 2018 Oct 8;23(10):2561. doi: 10.3390/molecules23102561.

87. Sies H. Oxidative stress: A concept in redox biology and medicine. *Redox Biol.* 2015;4:180–183. doi: 10.1016/j.redox.2015.01.002

88. Shastri MD, Shukla SD, Chong WC, Dua K, Peterson GM, Patel RP, Hansbro PM, Eri R, O'Toole RF. Role of Oxidative Stress in the Pathology and Management of Human Tuberculosis. *Oxid Med Cell Longev*. 2018 Oct 11;2018:7695364. doi: 10.1155/2018/7695364.

89. Hu X, Li J, Fu M, Zhao X, Wang W. The JAK/STAT signaling pathway: from bench to clinic. *Signal Transduct Target Ther*. 2021 Nov 26;6(1):402. doi: 10.1038/s41392-021-00791-1.

90. Fohner AE, Dalton R, Skagen K, Jackson K, Claw KG, Hopkins SE, Robinson R, Khan BA, Prasad B, Schuetz EG, Nickerson DA, Thornton TA, Dillard DA, Boyer BB, Thummel KE, Woodahl EL. Characterization of CYP3A pharmacogenetic variation in American Indian and Alaska Native communities, targeting CYP3A4*1G allele function. *Clin Transl Sci*. 2021 Jul;14(4):1292-1302. doi: 10.1111/cts.12970.

91. Fernández-Santander A, Novillo A, Gaibar M, Romero-Lorca A, Moral P, Sánchez-Cuenca D, Amir N, Chaabani H, Harich N, Esteban ME. Cytochrome and sulfotransferase gene variation in north African populations. *Pharmacogenomics*. 2016; Aug;17(13): 1415-23.

92. Octavio D, Reyes-Hernández, Ismael Lares-Asseff, Martha Sosa-Macias, Libia Vega, Arnulfo Albores, Guillermo Elizondo. A comparative study of CYP3A4 polymorphisms in Mexican Amerindian and Mestizo populations. *Pharmacology* 2008; 81: 97–103.

93. Gervasini G, Vizcaino S, Gasiba C. Differences in CYP3A5 *3 genotype distribution and combinations with other polymorphisms between Spaniards and other Caucasian populations. *Ther Drug Monit* 2005; 27: 819–821.

94. Sata F, Sapone A, Elizondo G, et al: CYP3A4 allelic variants with amino acid substitutions in exons 7 and 12: Evidence for an allelic variant with altered catalytic activity. *Clin Pharmacol Ther* 2000; 67: 48–56.

95. <https://compendium.com.ua/info/61158/rifampitsin/#toc-0>

96. Plasma drug activity assay for treatment optimization in tuberculosis patients / Scott K. Heysell [et al.] // Antimicrobial agents and chemotherapy. – 2011. - Vol. 55, No. 12. - P. 5819–5825.

97. Serin I, Pehlivan S, Gundes I, Fidan Oyaci Y, Pehlivan M. A new parameter in multiple myeloma: *CYP3A4*1B* single nucleotide polymorphism. Ann Hematol. 2021 Feb;100(2):421-427. doi: 10.1007/s00277-020-04339-1.

98. Jeovanio-Silva AL, Monteiro TP, El-Jaick KB, do Brasil PE, Rolla VC, de Castro L. Unique CYP3A4 genetic variant in Brazilian tuberculosis patients with/without HIV. Mol Med Rep. 2012 Jan;5(1):153-61. doi: 10.3892/mmr.2011.602.

99. Lolodi O, Wang YM, Wright WC, Chen T. Differential regulation of CYP3A4 and CYP3A5 and its implication in drug discovery. Curr Drug Metab. 2017;18(12):1095–1105. doi: 10.2174/1389200218666170531112038

100. Zhou LP, Yao F, Luan H, Wang YL, Dong XH, Zhou WW, Wang QH. CYP3A4*1B polymorphism and cancer risk: a HuGE review and meta-analysis. Tumour Biol. 2013 Apr;34(2):649-60. doi: 10.1007/s13277-012-0592-z.

101. Dally H, Edler L, Jäger B, Schmezer P, Spiegelhalder B, Dienemann H, Drings P, Schulz V, Kayser K, Bartsch H, Risch A. The CYP3A4*1B allele increases risk for small cell lung cancer: effect of gender and smoking dose. Pharmacogenetics. 2003 Oct;13(10):607-18. doi: 10.1097/00008571-200310000-00004.

102. Świechowski R, Jeleń A, Mirowski M, Talarowska M, Gałecki P, Pietrzak J, Wodziński D, Balcerczak E. Estimation of CYP3A4*1B single nucleotide polymorphism in patients with recurrent Major Depressive Disorder. Mol Genet Genomic Med. 2019 Jun;7(6):e669. doi: 10.1002/mgg3.669.

103. Maruf AA, Ahmed MU, Azad MA, Ahmed M, Hasnat A. CYP3A genotypes in Bangladeshi tuberculosis patients. Bangladesh Med Res Counc Bull. 2012 Apr;38(1):1-5. doi: 10.3329/bmrbc.v38i1.6978.

104. Hannachi I, Ben Fredj N, Chadli Z, Ben Fadhel N, Ben Romdhane H, Touitou Y, Boughattas NA, Chaabane A, Aouam K. Effect of CYP3A4*22 and

CYP3A4*1B but not CYP3A5*3 polymorphisms on tacrolimus pharmacokinetic model in Tunisian kidney transplant. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2020 Jun 1;396:115000. doi: 10.1016/j.taap.2020.115000.

105. Shi WL, Tang HL, Zhai SD. Effects of the CYP3A4*1B Genetic Polymorphism on the Pharmacokinetics of Tacrolimus in Adult Renal Transplant Recipients: A Meta-Analysis. *PLoS One.* 2015 Jun 3;10(6):e0127995. doi: 10.1371/journal.pone.0127995.

106. Wang CE, Lu KP, Chang Z, Guo ML, Qiao HL. Association of CYP3A4*1B genotype with Cyclosporin A pharmacokinetics in renal transplant recipients: A meta-analysis. *Gene.* 2018 Jul 20;664:44-49. doi: 10.1016/j.gene.2018.04.043.

107. Amirimani B, Ning B, Deitz AC, Weber BL, Kadlubar FF, Rebbeck TR. Increased transcriptional activity of the CYP3A4*1B promoter variant. *Environ Mol Mutagen.* 2003;42(4):299-305. doi: 10.1002/em.10199.

108. He BX, Shi L, Qiu J, Tao L, Li R, Yang L, Zhao SJ. A functional polymorphism in the CYP3A4 gene is associated with increased risk of coronary heart disease in the Chinese Han population. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2011 Mar;108(3):208-13. doi: 10.1111/j.1742-7843.2010.00657.x.

109. Li S, Shi CH, Liu XJ, Li YS, Li SH, Song B, Xu YM. Association of CYP3A4*1G and CYP3A5*3 With the 1-year Outcome of Acute Ischemic Stroke in the Han Chinese Population. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2019 Jul;28(7):1860-1865. doi: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2019.04.013.

110. Yang Y, Hou XY, Ge W, Wang X, Xu Y, Chen W, Tian Y, Gao H, Chen Q. Machine-learning models utilizing CYP3A4*1G show improved prediction of hypoglycemic medication in Type 2 diabetes. *Per Med.* 2022 Nov 16. doi: 10.2217/pme-2022-0059.

111. Yang W, Zhao D, Han S, Tian Z, Yan L, Zhao G, Kan Q, Zhang W, Zhang L. CYP3A4*1G regulates CYP3A4 intron 10 enhancer and promoter activity in an allelic-dependent manner. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 2015 Aug;53(8):647-57. doi: 10.5414/CP202272.

112. Collins JM, Wang D. Regulation of CYP3A4 and CYP3A5 by a lncRNA: a potential underlying mechanism explaining the association between CYP3A4*1G and CYP3A metabolism. *Pharmacogenet Genomics*. 2022 Jan 1;32(1):16-23. doi: 10.1097/FPC.0000000000000447.

113. Huang Y, Wen G, Lu Y, Wen J, Ji Y, Xing X, Li Y, Wen J, Yuan H. CYP3A4*1G and CYP3A5*3 genetic polymorphisms alter the antihypertensive efficacy of amlodipine in patients with hypertension following renal transplantation^[SEP]. *Int J Clin Pharmacol Ther*. 2017 Feb;55(2):109-118. doi: 10.5414/CP202559.

114. Saiz-Rodríguez M, Ochoa D, Herrador C, Belmonte C, Román M, Alday E, Koller D, Zubiaur P, Mejía G, Hernández-Martínez M, Abad-Santos F. Polymorphisms associated with fentanyl pharmacokinetics, pharmacodynamics and adverse effects. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2019 Mar;124(3):321-329. doi: 10.1111/bcpt.13141.

115. Adeloye T, Sahgal O, Puri A, Warrington S, Endo T, Dennison J, Johnston A. Amenamevir: Studies of Potential CYP3A-Mediated Pharmacokinetic Interactions With Midazolam, Cyclosporine, and Ritonavir in Healthy Volunteers. *Clin Pharmacol Drug Dev*. 2018 Nov;7(8):844-859. doi: 10.1002/cpdd.586.

116. Zuo XC, Ng CM, Barrett JS, Luo AJ, Zhang BK, Deng CH, Xi LY, Cheng K, Ming YZ, Yang GP, Pei Q, Zhu LJ, Yuan H, Liao HQ, Ding JJ, Wu D, Zhou YN, Jing NN, Huang ZJ. Effects of CYP3A4 and CYP3A5 polymorphisms on tacrolimus pharmacokinetics in Chinese adult renal transplant recipients: a population pharmacokinetic analysis. *Pharmacogenet Genomics*. 2013 May;23(5):251-61. doi: 10.1097/FPC.0b013e32835fcbb6.

117. Gao Y, Zhang LR, Fu Q. CYP3A4*1G polymorphism is associated with lipid-lowering efficacy of atorvastatin but not of simvastatin. *Eur J Clin Pharmacol*. 2008 Sep;64(9):877-82. doi: 10.1007/s00228-008-0502-x.

118. Zhang W, Chang YZ, Kan QC, Zhang LR, Li ZS, Lu H, Wang ZY, Chu QJ, Zhang J. CYP3A4*1G genetic polymorphism influences CYP3A activity and

response to fentanyl in Chinese gynecologic patients. *Eur J Clin Pharmacol*. 2010 Jan;66(1):61-6. doi: 10.1007/s00228-009-0726-4.

119. Yan Q, Su Y, Gao L, Ding N, Zhang HY, E W, Wang Y, Feng Y, An HY. Impact of CYP3A4*1G Polymorphism on Fentanyl Analgesia Assessed by Analgesia Nociception Index in Chinese Patients Undergoing Hysteroscopy. *Chin Med J (Engl)*. 2018 Nov 20;131(22):2693-2698. doi: 10.4103/0366-6999.243934

120. Uesugi M, Hosokawa M, Shinke H, Hashimoto E, Takahashi T, Kawai T, Matsubara K, Ogawa K, Fujimoto Y, Okamoto S, Kaido T, Uemoto S, Masuda S. Influence of cytochrome P450 (CYP) 3A4*1G polymorphism on the pharmacokinetics of tacrolimus, probability of acute cellular rejection, and mRNA expression level of CYP3A5 rather than CYP3A4 in living-donor liver transplant patients. *Biol Pharm Bull*. 2013;36(11):1814-21. doi: 10.1248/bpb.b13-00509.

121. Gufford BT, Robarge JD, Eadon MT, Gao H, Lin H, Liu Y, Desta Z, Skaar TC. Rifampin modulation of xeno- and endobiotic conjugating enzyme mRNA expression and associated microRNAs in human hepatocytes. *Pharmacol Res Perspect*. 2018 Mar 26;6(2):e00386. doi: 10.1002/prp2.386.

ДОДАТОК

АКТИ ВПРОВАДЖЕННЯ



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор закладу вищої освіти
науково-педагогічної та лікувальної роботи
Вінницького національного
медичного університету ім. М.І. Пирогова

професор Василь ПОГОРІЛИЙ

« 17 » 04 2023 р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

результатів наукового дослідження до науково-педагогічного процесу на медичному, стоматологічному, фармацевтичному факультетів ВНМУ

1. Найменування пропозиції для впровадження: «Клініко-фармакологічні особливості цитохрому-P4503A4 при лікуванні хворих на вперше діагностований туберкульоз легень».

2. Установа-розробник: Одеський національний медичний університет, кафедра загальної фармації з курсом клінічної фармакології; кафедра фармакології та фармакогнозії, м. Одеса, пров. Валіховський 2, 65082, асист. Полуденко Г.О.

3. Джерело інформації:

1. Полуденко Г.О., Антоненко П.Б., Рожковський Я.В., Антоненко К.О., Лобашова К.Г. Ефективність лікування туберкульозу легень в залежності від генотипу СYP3A4. *Український пульмонологічний журнал*. 2022. Т.30, №1. С. 62-66.

2. Полуденко Г.О. Визначення генотипу СYP3A4 як імовірного маркера гепато-токсичності протитуберкульозної терапії. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2021. Т.15, № 4. С. 266-273.

4. Базова установа, яка проводить впровадження: ВНМУ МОЗ України, кафедра фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова

5. Термін впровадження: 2022/2023 навчальний рік

6. Форма впровадження: в науково-педагогічний процес при читанні лекцій та проведенні практичних занять зі студентами з тем «Загальна фармакологія. Фармакодинаміка» та «Протитуберкульозні, протипротозойні засоби».
Протокол засідання кафедри № 9 від 17.04. 2023 р.

Відповідальний за впровадження:

зав. кафедри фармакології,
Вінницького національного
медичного університету
д.мед.н., професор

Наталія ВОЛОЩУК



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор ЗВО з наукової роботи
Вінницького національного
медичного університету ім. М.І.Пирогова,
проф. О.В. Власенко
« 19 » 04 2023 р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

результатів наукового дослідження до навчального процесу на медичному, стоматологічному, фармацевтичному факультетів ВНМУ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** «Клініко-фармакологічні особливості цитохрому-Р4503А4 при лікуванні хворих на вперше діагностований туберкульоз легень».
2. **Установа-розробник:** Одеський національний медичний університет, кафедра загальної фармації з курсом клінічної фармакології; кафедра фармакології та фармакогнозії, м. Одеса, пров. Валіховський 2, 65082, асист. Полуденко Г.О.
3. **Джерело інформації:** 1. Полуденко Г.О. Визначення генотипу СYP3A4 як імовірного маркера гепато-токсичності протитуберкульозної терапії. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2021. Т.15, № 4. С. 266-273.
2. Полуденко Г.О., Антоненко П.Б., Антоненко К.О., Макаренко О.В. Поліморфізм гена СYP3A4*1G як предиктор гепатотоксичності протитуберкульозної терапії. *Медичні перспективи*. 2022. Т.27, №1. С. 97-103.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** ВНМУ ім. М.І. Пирогова, кафедра клінічної фармації та клінічної фармакології.
5. **Термін впровадження:** 2022/2023 навчальний рік
6. **Форма впровадження:** в навчальний процес при читанні лекцій та проведенні практичних занять зі студентами з теми «Клінічна фармакологія антимікробних засобів».
7. **Зауваження та пропозиції:** не вносилися

Протокол засідання кафедри № 16 від 18.04 2023 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри клінічної фармації та
клінічної фармакології,
Вінницького національного
медичного університету
к.мед.н., доцент

С.І. Семененко



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

професор з науково-педагогічної роботи
Дніпровського державного
медичного університету
доцент Сергій ЗАХАРОВ
«_____» _____ 2023 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів наукової-дослідної роботи до навчального процесу

1. **Найменування пропозиції:** «Клініко-фармакологічні особливості цитохрому-Р4503А4 при лікуванні хворих на вперше діагностований туберкульоз легень».
2. **Ким і коли запропонований:** Одеський національний медичний університет, кафедра загальної фармації з курсом клінічної фармакології; кафедра фармакології та фармакогнозії, м. Одеса, пров. Валіховський 2, 65082, асист. Полуденко Г.О.
3. **Джерело інформації:** 1) Полуденко Г.О., Антоненко П.Б. Значення поліморфізму СYP3A4*1В для метаболізму рифампіцину. *Journal of Health Sciences*. 2017. Vol. 7, N8. P. 1082-1090.
2) Полуденко Г.О., Антоненко П.Б., Антоненко К.О., Макаренко О.В. Поліморфізм гена *CYP3A4*1G* як предиктор гепатоксичності протитуберкульозної терапії. *Медичні перспективи*. 2022. Т.27, №1. С. 97-103.
4. **Де і коли впроваджено:** На кафедрі фармакології ДДМУ при проведенні лекційного курсу та практичних занять за темами «Загальна фармакологія. Фармакодинаміка» та «Протитуберкульозні, протипротозойні засоби».
5. **Результати застосування методу** за період з 2022 по 2023 рр.
6. **Ефективність впровадження за критеріями**, висловленими в джерелах інформації (п.3).
Поліпшення знань студентів щодо сучасних підходів до лікування туберкульозу, а також основ фармакогенетики.
7. **Зауваження, пропозиції:** немає.
8. **Ефективність пропозиції:** підвищення ефективності, безпечності лікування соціально небезпечних захворювань та якості життя пацієнтів.
Обговорено та затверджено на засіданні кафедри, протокол №9 від 07.04.2023 р.

Відповідальний за впровадження:

В.о. завідувача кафедри фармакології
к.фарм.н., доцент

Антон ЛСВИХ

«ЗАТВЕРЖДУЮ»

Г.в.о. генерального директора
КНП «Одеський обласний центр
соціально значущих хвороб ООР»
О.В. Конопко

« 28 / 2023 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ
матеріалів наукових досліджень Полуденко Г. О.
в практичну діяльність

1. **Назва впровадження:** «Клініко-фармакологічні особливості цитохрому-Р4503А4 при лікуванні хворих на вперше діагностований туберкульоз легень»
2. **Установа-розробник, автор:** Одеський національний медичний університет, кафедра фармакології та фармакогнозії; кафедра загальної фармації з циклом клінічної фармакології, м. Одеса, пров. Валіховський 2, 65082, Полуденко Г.О.
3. **Джерело інформації:** 1) Полуденко Г.О., Антоненко П.Б., Антоненко К.О., Макаренко О.В. Поліморфізм гена *CYP3A4*1G* як предиктор гепатотоксичності протитуберкульозної терапії. *Медичні перспективи*. 2022. Т.27, №1. С. 97-103; 2) Полуденко Г.О., Антоненко П.Б., Рожковський Я.В., Антоненко К.О., Лобашова К.Г. Ефективність лікування туберкульозу легень в залежності від генотипу *CYP3A4*. *Український пульмонологічний журнал*. 2022. Т.30, №1. С. 62-66; 3) Полуденко Г.О. Визначення генотипу *CYP3A4* як імовірного маркера гепато-токсичності протитуберкульозної терапії. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2021. Т.15, № 4. С. 266-273.
4. **Де впроваджено:** амбулаторно-поліклінічне відділення КНП «Одеський обласний центр соціально значущих хвороб ООР».
5. **Терміни впровадження:** 2022-2023 навч. рік
6. **Результати впровадження:** Використання результатів наукових досліджень Г.О. Полуденко в практичній діяльності сприяє покращенню лікування хворих на вперше діагностований туберкульоз легень.
7. **Зауваження та пропозиції:** немає.

Відповідальний за впровадження:

Медичний директор з надання амбулаторної
допомоги хворим на туберкульоз
та ко-інфекцію ТБ/ВІЛ
КНП «Одеський обласний центр
соціально значущих хвороб ООР»



Л.І. Ковтунович