

Перспективы фармакогенетического тестирования для разработки алгоритмов персонализированного лечения туберкулёза органов дыхания в Астраханском регионе

Б. И. КАНТЕМИРОВА, Х. М. ГАЛИМЗЯНОВ, Н. А. СТЕПАНОВА, А. Х. ЧЕРНЫШЕВА, З. А. АЛИЕВА

Астраханский государственный медицинский университет Минздрава России, Астрахань

Prospects of Pharmacogenetic Testing for Design of Algorithms for Personalized Treatment of Tuberculosis of Respiratory Organs in the Astrakhan Region

B. I. KANTEMIROVA, KH. M. GALIMZYANOV, N. A. STEPANOVA, A. KH. CHERNYSHEVA, Z. A. ALIEVA

Astrakhan State Medical University, Ministry of Public Health of the Russian Federation, Astrakhan

Несмотря на наличие большого количества противотуберкулёзных препаратов, туберкулёза в Российской Федерации и за рубежом не становится меньше, а фтизиатры, нередко сталкиваются с проблемой адаптации разработанных схем противотуберкулёзной терапии под каждого конкретного больного. Связано это с часто возникающими побочными эффектами, что нередко служит поводом для отмены специфической химиотерапии. В работе показана роль полиморфизма генов детоксикации как предикторов ответа на лекарственную терапию. Полученные данные позволят обосновать персонализированные подходы к проведению химиотерапии у больных туберкулёзом, повысить её эффективность и безопасность.

Ключевые слова: туберкулёз, гены метаболизма, полиморфизм, побочные эффекты, противотуберкулёзные препараты.

In spite of the availability of many antituberculosis drugs all over the world the morbidity of tuberculosis does not lower. Often the tuberculosis therapy schemes are adapted to every particular patient which is mainly due to the therapy unfavourable effects requiring discontinuation of the drugs used. Polymorphism of the detoxication genes, as predictors of the response to the drug therapy, was shown to be of certain significance. The experimental data would allow to substantiate personalized management of tuberculosis patients and to increase its efficacy and safety.

Key words: tuberculosis, metabolism genes, polymorphism, infavourable effects, antituberculosis drugs.

Введение

По данным ВОЗ, ежегодно в мире заболевают туберкулёзом 9,4 млн человек. Более 1,3 млн больных умирают. Заболеваемость туберкулёзом в Российской Федерации в 2013 году составила 67,7 на 100000 населения, в г. Астрахани — 78,8 [1—6].

Во всём мире неблагоприятное эпидемиологическое положение по туберкулёзу определяется в основном двумя факторами: числом не выявленных и числом неизлеченных больных туберкулёзом, которые являются распространителями инфекции. Ежегодно остаются неизлеченными свыше 60% больных [5, 7—11].

Среди причин низкой эффективности лечебных мероприятий, наряду с лекарственной устойчивостью, достигающей 30% у больных с впервые выявленным туберкулёзом легких и 60% у больных с рецидивами и рядом социальных факторов, сле-

дует отметить частое формирование нежелательных побочных эффектов противотуберкулёзных препаратов (ПТП) [9—15]. Непереносимость ПТП заставляет лечащих врачей пересматривать схемы лечения, что нередко влияет на качество этиотропной терапии, удлиняет процесс медикаментозного воздействия, способствует распространению туберкулёза и несёт дополнительные экономические затраты, связанные с поиском новых, более безопасных и эффективных, режимов терапии.

Формирование непереносимости противотуберкулёзных средств напрямую зависит от особенностей метаболизма молекул ПТП, имеющих широкую межиндивидуальную вариабельность и этническую специфичность [16—20].

При рассмотрении вопросов метаболизма противотуберкулёзных препаратов большое значение уделяется изучению полиморфизма генов N-ацетилтрансферазы второго типа (NAT2) и изоферментов цитохрома P 450: CYP2E1 и CYP2C9. Окислением при участии CYP2E1 и CYP2C9 метаболизируется 70—90% изониазида, в результате чего образуется нетоксичная изоникотиновая

© Коллектив авторов, 2015

Адрес для корреспонденции: 414000 Астрахань, ул. Бакинская, д. 121. Астраханский ГМУ

кислота [1, 21]. Около 10—30% препарата метаболизируется ацетилизацией при участии NAT2. Конечным продуктом ацетилирования является ацетилгидразин, обладающий выраженной гепатотоксичностью. В отечественных и зарубежных литературных источниках обсуждение данного вопроса вызывает оживленную дискуссию. Одни исследователи сходятся во мнении, что пациенты с генотипом медленного ацетилирования более предрасположены к развитию нежелательных побочных эффектов, в частности полинейропатии, по сравнению с быстрыми ацетиляторами [16, 22, 23]. Другие считают, что фенотипически быстрые ацетиляторы составляют основную группу риска развития гепатотоксичности при лечении туберкулеза [15, 24—26]. Авторы объясняют данный механизм накоплением в течение короткого времени высокотоксичного ацетилгидразина.

В литературе имеется множество сведений о роли полиморфных генов системы биотрансформации в формировании предрасположенности к туберкулёзу [2, 15, 27—35]. Нам представилось важным с практической точки зрения, оценить предикторную ценность полиморфных вариантов гена N-ацетилтрансферазы в возникновении определённых видов побочных эффектов, что позволит индивидуализировать схемы специфической терапии, повысить её эффективность и безопасность.

Цель исследования — изучить характер и частоту развития нежелательных побочных эффектов противотуберкулёзных препаратов в зависимости от полиморфизма гена N-ацетилтрансферазы у больных туберкулёзом органов дыхания.

Материал и методы

Изучена медицинская документация впервые выявленных пациентов с туберкулёзом лёгких, получавших лечение в ГБУЗ АО «Областной клинический противотуберкулёзный диспансер», стационар № 1, в 2014–2015 гг. В исследование вошли 100 пациентов: 66 (66%) мужчин, 48 (48%) женщин в возрасте 20—52 лет с впервые выявленным туберкулёзом, у которых на фоне специфического лечения (согласно приказу МЗ РФ № 109 от 21.03.2003 г. «О совершенствовании противотуберкулёзных мероприятий в РФ») по I режиму химиотерапии возникли нежелательные побочные реакции на противотуберкулёзные препараты. Суточные дозы всех препаратов рассчитывались согласно концепции химиотерапии [8, 11, 36] и вводились однократно, что создавало высокий пик концентрации препаратов в сыворотке крови. Средняя длительность пребывания пациентов на стационарном лечении составила $5,14 \pm 1,9$ мес.

Полученные результаты обрабатывали с помощью пакета статистических программ для Windows 7. Уровень достоверности статистических гипотез составил 0,05 ($p < 0,05$) по критерию Стьюдента.

Полиморфизм гена NAT2 определяли методом полимеразной цепной реакции, предварительно выделив ДНК из образцов крови. При анализе полученных генотипов гомозиготы S2/S2, S3/S3 и гетерозиготы S2/S3, S1/S2, S3/n, S2/n, S1/S3 интерпретировались нами как генотипы с наследственно обусловленным замедлением скорости ацетилирования. Ге-

нотипы — гомозиготы n/n и S1/S1 расценивались нами как генотипы с быстрой скоростью метаболических реакций.

Результаты и обсуждение

Анализ материалов медицинской документации позволил сделать следующие выводы. Нежелательные побочные реакции (НПР) регистрировались в 67% случаев (67 пациентов). Лекарственно-индуцированное поражение печени (ЛИПП) было выявлено у 44 (65,6%) больных, из них — подтверждённое только повышением уровня трансаминаз в крови — у 38 (86,36%) и у 6 (13,6%) пациентов синдром цитолиза сопровождался клиническими проявлениями (повышением фракций прямого билирубина, желтуха, тошнота, рвота). Полиморфные генотипы NAT2 встречались со следующей частотой: S1/S1 — у 47,74%, n/n — 40,9% и S2/S2 — 11,36% больных.

Со стороны нервной системы НПР токсического характера регистрировались у 20 (29,8%) пациентов в виде головных болей (81,6%), у 14 (18,4%) — в виде расстройства сна. Определялись следующие полиморфные аллели NAT2: S2/S2 (25%), S1/S2 (10%), S3/n (20%), S1/S3 (30%), S3/S3 (35%).

Сердечно-сосудистая система на приём противотуберкулёзных препаратов реагировала следующим образом: повышение артериального давления отмечалось у 21 (31,3%) больного, боли в сердце — у 8 (11,9%), метаболические изменения на ЭКГ — у 7 (9,2%) пациентов. Полиморфные генотипы NAT2 были представлены следующими типами: S2/S2 (12%), S1/S2 (16%), S3/n (14%), S2/n (25%), S1/S3 (14%), S3/S3 (19%).

Со стороны опорно-двигательного аппарата НПР токсического характера в виде артралгий наблюдались у 17 (25,3%) больных, в виде ограничения движений в мелких суставах верхних и нижних конечностей — у 11 (14,5%) человек.

У большинства пациентов отмечалось токсическое поражение одновременно нескольких систем. НПР токсического характера, в частности лекарственно-индуцированное поражение печени (65,6%) превалировало ($r=0,8$; $p < 0,05$).

НПР токсико-аллергического характера зарегистрированы в 27% случаев (27 пациентов). У 17 (62,9%) пациентов это проявлялось зудом и экте-ричностью кожных покровов, тошнотой и рвотой; у 7 (25,9%) больных — зудом, мелкоочечной сыпью, тошнотой, повышением артериального давления, болями в эпигастрии; у 3 (11,2%) больных — сыпью, болями в сердце и суставах, повышением уровня трансаминаз. Анализ полиморфных аллелей гена NAT2 позволил определить преобладание следующих генотипов: S3/n (38%), S2/n (29%), S1/S2 (24%), S2/S3 (9%) (таблица).

Временная отмена ПТП была произведена в 78,9% случаев. Возобновление специфической

Характер нежелательных побочных эффектов противотуберкулёзных препаратов I ряда в зависимости от полиморфных генотипов N-ацетилтрансферазы второго типа (NAT2)

Клинические проявления	Частота возникновения	Полиморфные генотипы NAT2 (частота встречаемости)
Нежелательные побочные эффекты токсического характера — 67 пациентов (67%)		
Лекарственно-индуцированное поражение печени	44 (65,6%)	S1/S1 (47,74 %), n/n (40,9%) и S2/S2 (11,36 %)
Токсическое поражение нервной системы	20 (29,8%)	S2/S2 (25%), S1/S2 (10%), S3/n (20%), S1/S3 (30%), S3/S3 (35%)
Токсическое поражение сердечно-сосудистой системы	21 (31,3%)	S2/S2 (17%), S1/S2 (11%), S3/n (24%), S2/n (15%), S1/S3 (17%), S3/S3 (16%)
Токсическое поражение опорно-двигательного аппарата	17 (25,3%)	S2/S2 (19%), S1/S2 (13%), S3/n (18%), S2/n (27%), S1/S3 (11%), S3/S3 (12%)
Нежелательные побочные эффекты токсико-аллергического характера — 33 пациента (33%)		
Высыпания на коже, зуд и экзержичность кожных покровов, тошнота, рвота, повышение артериального давления	33 (33%)	S3/n (38%), S2/n(29%), S1/S2 (24%), S2/S3 (9%)

химиотерапии, после купирования нежелательных побочных реакций, осуществлено в 100% случаев. Возобновление НПР было у 30 (26,3%) пациентов, что потребовало замены ПТП. Отмена ПТП, проведение дезинтоксикационной, антигистаминной, гепато-, кардио-, нейропротективной терапии значительно удлиняло сроки пребывания пациентов в стационаре — в среднем на 38 ± 11 койко-дней ($r=0,7$; $p<0,05$).

Выводы

1. У больных туберкулёзом с клиническими проявлениями лекарственно-индуцированного поражения печени среди полиморфных генотипов NAT2 преобладали генотипы, ассоциированные с быстрой скоростью ацетилирования, что, по-видимому, связано с повреждающим действием ацетилгидразина, интенсивно нарастающим в течение короткого времени.

2. У пациентов с токсическим поражением опорно-двигательной и нервной, сердечно-сосудистой систем наиболее часто встречались генотипы, ассоциированные с медленной скоростью

ацетилирования. В данном случае не исключается роль полиморфизма генов других ферментов в метаболизме противотуберкулёзных препаратов, что требует более глубокого изучения данного вопроса.

3. Генотипирование пациентов, получающих противотуберкулёзные препараты, является информативным, диагностически ценным и перспективным методом для разработки стратегии персонализированной фармакотерапии туберкулёзной инфекции с целью предупреждения большого количества нежелательных побочных эффектов и повышения клинической эффективности лечения.

Научное исследование выполнено в рамках реализации гранта Президента Российской Федерации по государственной поддержке молодых ученых докторов наук «Разработка алгоритмов персонализированного лечения и профилактики осложнений туберкулёза органов дыхания в Астраханском регионе» МД-6325.2015.7 (2015-2016 гг.).

ЛИТЕРАТУРА

1. Кудряшов А.В. Полиморфизм ферментов метаболизма ксенобиотиков и антиоксидантной защиты и развитие гепатотоксических реакций у больных туберкулёзом лёгких: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Новосибирск: 2011; 24.
2. Макарова С. И., Сафронова О. Г., Вавалин В. А., Батычко О. А., Гавалов С. М. Показатели атопии у детей с бронхиальной астмой возрастают с накоплением нуль-аллелей глутатион-8-трансферазы M1. Бюллетень эксперимен. Биол и мед 2004; 13: 8: 11: 520—522.
3. Михайлова Ю.В., Сон И. М., Скачкова Е. И. Распространение туберкулёза среди детей и подростков в Российской Федерации (анализ данных официальной статистики). Проблемы туберкулёза и болезней лёгких: Научно-практ журн 2009; 1: 5—10.
4. Нечаева О.Б., Скачкова Е.И. Причины формирования множественной лекарственной устойчивости микобактерий туберкулёза в Свердловской области. Здравоохранение Рос Федерации 2003; 3: 33—35.
5. Никишина М.В. Исследование полиморфизма генов ариламинов N-ацетилтрансфераз и ассоциации полиморфных вариантов с раком лёгкого у европеоидов г. Новосибирска: Дисс. канд. биол. наук: Новосибирск, 2007; 125.
6. Филипов А.В., Борисов С.Е., Сон И.М., Матвеева М.В. Туберкулёз у детей по данным полицевых регистров системы мониторинга туберкулёза: Научные труды / Под ред. В.И. Литвинова. М.: МНПЦБТ. 2010; 177—183.
7. Мордык А.В., Антропова В.В. Влияние неблагоприятных побочных реакций химиотерапии на показатели качества жизни больных инфильтративным туберкулёзом лёгких. Проблемы туберкулёза и болезней лёгких. 2008; 9: 44—46.
8. Онищенко Г. Г. О заболеваемости туберкулёзом в Российской Федерации в 2012 году Информационное письмо № 01/8843-13-32 Дата принятия — 06.08.2013.
9. Сельковский П.П., Рыбка Л.И., Кочетова Е.Я., Горбунов А.В. Анализ особенностей эпидемической ситуации по туберкулёзу и системы защиты населения от туберкулёза в г. Москве. Туберкулёз и болезни лёгких. 2011; 6: 10—16.
10. Скакун Н. П., Шманько В. В. Эффективность антиоксидантов при поражении печени изониазидом. Фармакол токсикол 1986; 49: 4: 86—89.
11. Скачкова Е.И., Нечаева О.Б. О программе государственных гарантий оказания гражданам России бесплатной медицинской помощи в противотуберкулёзных учреждениях. Проблемы туберкулёза 2008; 8: 17.
12. Скакун Н. П., Табачук О. Е. Сравнительная гепатотоксичность изониазида, рифампицина и этамбутола. Проблемы туберкулёза. 1991; 10: 77—79.
13. Скачкова Е.И., Нечаева О.Б. Причины и факторы формирования лекарственной устойчивости при туберкулёзе лёгких. Проблемы туберкулёза 2003; 9: 6—9.

14. Скачкова Е.И. Причины, факторы и группы риска формирования лекарственной устойчивости микобактерий туберкулёза. *Здравоохранение Урала* 2003; 2: 20: 22—25.
15. Ткаченко П.Е., Маевская М.В., Ивашкин В.Т. Полиморфизм генов и лекарственное поражение печени. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2013; 23: 4: 22—29.
16. Гурова Я.В., Мордык А.В., Пузырева Л.В. Проблема фармакологической непереносимости противотуберкулёзной терапии. *Иммунопатол аллергол инфектол* 2015; 1: 52—58.
17. Кантемирова Б.И., Тимофеева М.В., Григанов В.И., Шилова А.А. Изоферменты цитохрома P 450. *Астрахан мед журн* 2011; 6: 3: 15—18.
18. Кантемирова Б.И., Тимофеева М.В., Григанов В.И., Шилова А.А. Проблема нежелательных побочных реакций лекарственных средств. *Астрахан мед журн* 2011; 6: 4: 8—12.
19. Кантемирова Б.И., Григанов В.И., Алиева З.Г. Этнический полиморфизм цитохрома P450 у детей, проживающих в Астраханском регионе. *Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки*. 2013; 1: 9—16.
20. Фисенко В. Противотуберкулёзные средства: принципы действия, побочные эффекты и перспективы создания новых лекарственных препаратов. *Врач* 2006; 12: 30—34.
21. Косарев В.В. Осложнения фармакотерапии. Самара: 1994; 201.
22. Huang Y.S., Chern H.D., Su W.J., Wu J.C., Chang S.C., Chiang C.H., Chang F.Y., Lee S.D. Cytochrome P450 2E1 genotype and the susceptibility to antituberculosis drug-induced hepatitis. *Hepatology*. 2003; 37: 4: 924—930.
23. Huang Y.S. Genetic polymorphisms of drug-metabolizing enzymes and the susceptibility to antituberculosis drug-induced liver injury. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2007; 3: 1: 1—8.
24. Сычев Д.А., Игнатев И.В., Гасанов Н.А., Кукес В.Г. Клиническая фармакогенетика системы биотрансформации и транспортёров лекарственных средств: дань моде или прикладное направление. *Тихоокеанский мед журн* 2006; 4: 21—26.
25. Garcia-Martín E. Interethnic and intraethnic variability of NAT2 single nucleotide polymorphisms. *Curr Drug Metab* 2008; 9: 6: 487—497.
26. Guengerich F.P. Cytochromes P450, drugs, and diseases. *Mol Interv* 2003; 3: 4: 194—204.
27. Брагина Е.Ю. Сравнительный анализ структуры наследственной компоненты подверженности к бронхиальной астме и туберкулёзу по генам ферментов метаболизма ксенобиотиков: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Томск, 2005; 24.
28. Имангулова М.М. Анализ генов предрасположенности к туберкулёзу лёгких в Республике Башкортостан. Дис. ... канд. биол. наук. Уфа, 2005; 246.
29. Arisawa T., Tahara T., Shibata T., Nagasaka M., Nakamura M. et al. *Nrf2* gene promoter polymorphism and gastric carcinogenesis. *Hepatogastroenterology*. 2008 Mar-Apr; 55: 82—83: 750—754.
30. Tamaki Y., Arai T., Sugimura H., Sasaki T., Honda M., Muroi Y., Matsubara Y., Kanno S., Ishikawa M., Hirasawa N., Hiratsuka M. Association between cancer risk and drug-metabolizing enzyme gene (*CYP2A6*, *CYP2A13*, *CYP4B1*, *SULT1A1*, *GSTM1*, and *GSTT1*) polymorphisms in cases of lung cancer in Japan. *Drug Metab Pharmacokin* 2011; 26: 5: 516—522.
31. Kobayashi M., Otani T., Iwasaki M., Natsukawa S., Shaura K., Koizumi Y., Kasuga Y., Sakamoto H., Yoshida T., Tsugane S. Association between dietary heterocyclic amine levels, genetic polymorphisms of *NAT2*, *CYP1A1*, and *CYP1A2* and risk of colorectal cancer: a hospital-based case-control study in Japan. *Open Journal of Genetics* 2012; 2: 4: 221—235.
32. Su H.I., Sammel M.D., Velders L., Horn M., Stankiewicz C., Matro J., Gracia C.R., Green J., DeMichele A. Association of cyclophosphamide drug-metabolizing enzyme polymorphisms and chemotherapy-related ovarian failure in breast cancer survivors. *Fertil Steril*. 2010; 94: 2: 645—654.
33. Song D.K., Xing D.L., Zhang L.R., Li Z.X., Liu J., Qiao B.P. Association of *NAT2*, *GSTM1*, *GSTT1*, *CYP2A6*, and *CYP2A13* gene polymorphisms with susceptibility and clinicopathologic characteristics of bladder cancer in Central China. *Cancer Detect Prev*. 2009; 32: 416—423.
34. Du Toit L.C., Pillay V., Danckwerts M.P. Tuberculosis chemotherapy: current drug delivery approaches. *Respiratory Research* 2006; 7: 1: 118—136.
35. Forget E., Menzies D. Adverse reactions to first-line antituberculosis drugs. *Expert Opin Drug Saf* 2006; 5: 2: 231—249.
36. Степанова Н.А., Стрельцова Е.Н., Галимзянов Х.М., Кантемирова Б.И. Нежелательные побочные эффекты на противотуберкулёзные препараты у впервые выявленных больных туберкулёзом лёгких. *Астраханский мед журн* 2014; 4: 66—71.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Кантемирова Бэла Исмаиловна — д. м. н., директор научно-исследовательского института краевой инфекционной патологии Государственного бюджетного образовательного учреждения «Астраханский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Галимзянов Халил Мингалиевич — д. м. н., профессор, заведующий кафедрой инфекционных болезней, ректор Государственного бюджетного образовательного учреждения «Астраханский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Степанова Наталья Александровна — к. м. н., ассистент кафедры фтизиатрии Государственного бюджетного образовательного учреждения «Астраханский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Чернышева Алия Халиловна — к. б. н., ассистент кафедры фармакологии Государственного бюджетного образовательного учреждения «Астраханский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Алиева Зайнаб Гаджиевна — аспирант Государственного бюджетного образовательного учреждения «Астраханский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации