

Антоненко П.Б., Кресюн В.И.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА БИОТРАНСФОРМАЦИИ - ЦИТОХРОМА-450 2С9 У БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ

ОНМедУ (Одесский национальный медицинский университет) МОЗ Украины, пер. Валиховский, 2, Одесса, 65082, Украина

Целью данной работы было исследование полиморфизма генотипа цитохрома-450 (*CYP* 2С9 (*CYP2С9*)) у больных туберкулезом (на юге Украины) и его значение для возникновения, течения и исхода туберкулезного процесса, для фармакокинетики противотуберкулезного антибиотика рифампицина.

Среди больных туберкулезом – носителей генотипа $*1/*1$ было на 24,9% меньше, чем среди здоровых доноров, в то же время носителей генотипов $*1/*2$; $*1/*3$ было на 25% больше. У больных туберкулезом, являющихся носителями генотипов $*2/*3$, $*3/*3$, отмечалась наиболее высокая концентрация рифампицина в крови. У носителей генотипа $*1/*1$ на начало стационарной терапии почти в 2,5 раза чаще отмечались явления деструкции, чем у носителей генотипов $*1/*2$, $*1/*3$. Согласно данным культурального исследования, более частое прекращение бактериовыделения наблюдалось у носителей генотипов $*1/*1$, чем у генотипа $*1/*2$, $*1/*3$.

Ключевые слова: ген *CYP2С9*; полиморфизм; туберкулез; рифампицин.

Туберкулез является актуальной проблемой. Ежегодно в мире у 8 млн людей диагностируют активный туберкулез, а 2–3 млн умирают от этой болезни. К сожалению, 85% больных туберкулезом, зарегистрированных в Европе, приходится на постсоветские страны [1]. Понятно, что эффективность лечения, тяжесть течения и развитие осложнений туберкулеза в значительной мере зависят от индивидуальных особенностей человека, его генетических особенностей, в частности от полиморфизма генов биотрансформации ксенобиотиков [2].

Согласно современным данным, активность ферментов семейства цитохромов-450 (*CYP*) может изменяться под влиянием ряда препаратов, включая противотуберкулезные препараты (изониазид, рифампицин) [3, 4]. С другой стороны, выступая индуктором ферментов *CYP*-450, противотуберкулезный препарат рифампицин может являться субстратом для этих ферментов на том или ином этапе своей биотрансформации. Следовательно, полиморфизм генов *CYP*-450 может влиять на фармакокинетику противотуберкулезных препаратов, эффективность и безопасность химиотерапии. Ранее нами было установлено, что полиморфизм генотипа *CYP2С9* среди здоровых людей в Украине практически не отличается от данных аналогичных исследований в Европе и Российской Федерации [5–7]. В то же время исследования, посвященные особенностям полиморфизма *CYP*-450 у больных туберкулезом, практически не проводились. Поэтому целью данной работы было исследование значения полиморфизма гена *CYP2С9* у больных туберкулезом для фармакокинетики противотуберкулезного антибиотика рифампицина, а также эффективности химиотерапии туберкулеза.

Материалы и методы

Образцы крови были получены от 80 больных (37 (46,3%) женщин, 43 (53,7%) мужчины), которые впервые заболели туберкулезом легких, в Одесском областном противотуберкулезном диспансере в 2012 г. Возраст больных составлял от 19 до 73 лет (средний возраст 35,9 года). Для контроля использовали образцы крови, полученной от 181 здорового донора на Одесской

областной станции переливания крови в 2010–2011 гг., из которых 81 (44,8 %) составляли женщины, остальные 100 (55,2%) – мужчины. Возраст доноров составлял от 17 до 62 лет (средний возраст 33,8 года). ДНК- материал был экстрагирован из крови с использованием набора ДНК-сорбБ («АмплиСенс», Российская Федерация). Генотип *CYP450 2С9* определяли с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) и эндонуклеазного анализа методом Т.Н. Sullivan-Klose и соавт. [8]. Все больные туберкулезом в составе комплексной терапии получали рифампицин и изониазид внутрь из расчета 8–12 и 4–6 мг/кг массы тела в сутки (всего 450–600 и 300–400 мг) соответственно, согласно приказу МОЗ Украины № 384 от 09.06.2006 и рекомендованной Всемирной организацией здравоохранения ДОТС-стратегии. Забор венозной крови проводили у больных туберкулезом в первые 2 нед стационарного лечения через 2, 4, 6 и 24 ч после приема рифампицина и изониазида. Содержание рифампицина определяли по В.Т. Чубаряну [9]. Метод основывается на экстракции рифампицина из крови с помощью хлороформа и КОН, и дальнейшем измерении на спектрофотометре СФ-46 при длине волны 470 нм. Содержание изониазида определяли согласно методике Волленберга в модификации Р.И. Шендеровой [10]. Метод базируется на способности изониазида образовывать комплексное окрашенное соединение с ванадиевокислым аммонием в кислой среде; интенсивность окрашивания измеряли на спектрофотометре СФ-46 при длине волны 400 нм. Для изониазида рассчитывали $T_{1/2}$ (half-life – период полувыведения). При этом $T_{1/2} = 0,693/k_{el}$, где k_{el} (константа элиминации) рассчитывали как тангенс угла наклона полулогарифмической кривой, которая отражает фазу кинетики изониазида, относительно оси абсцисс. Статистический анализ был проведен с использованием Microsoft Excel и χ^2 -критерия.

Результаты и обсуждение

Согласно генотипу *CYP2С9* из 80 больных туберкулезом 57,5% индивидов были носителями гомозиготного дикого типа гена *CYP2С9*1/*1* (рис. 1). Также 27,5 и 7,5% больных были носителями гетерозиготных генов *CYP2С9*1/*2* и *CYP2С9*1/*3*. Носителями вариантных генотипов – гомозиготного *CYP2С9*3/*3* и гетерозиготного *CYP2С9*2/*3* – были 5 и 2,5% индивидов соответственно.

Среди здоровых доноров чаще встречались носители гомозиготного дикого типа гена *CYP2С9*1/*1* – 76,2% ($p < 0,05$; $\chi^2 = 9,37$, при критическом значении здесь и дальше 3,84) в то же время реже отмечались носители вариантов $*1/*2$, $*1/*3$ – 21% ($p < 0,05$; $\chi^2 = 5,67$), чем среди больных туберкулезом; носители вариантных генотипов – *CYP2С9*2/*2*, *CYP2С9*2/*3* или *CYP2С9*3/*3* – встречались лишь в 2,7% случаев (см. рис. 1). Также среди больных туберкулезом почти в 2,5 раза чаще встречались носители мутантной аллели $*2$, чем среди здоровых доноров ($p < 0,05$; $\chi^2 = 12,78$), и на 13,5% реже встречались носители дикой аллели $*1$ ($p < 0,05$; $\chi^2 = 10,91$). Для удобства и учитывая данные литературы относительно генотипа *CYP2С9*, в дальнейшем больные туберкулезом были разделены на «быстрых» (*CYP2С9*1/*1*), «умеренных» (*CYP2С9*1/*2*, $*1/*3$) и «медленных» метаболизаторов (*CYP2С9*2/*3*, $*3/*3$) [6].

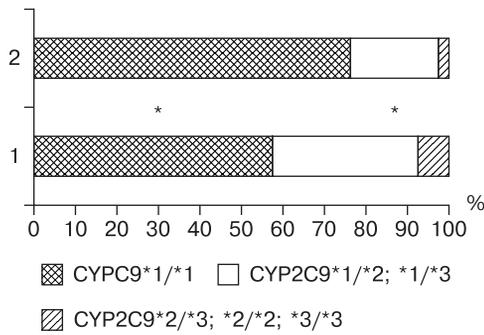


Рис. 1. Полиморфизм гена CYP2C9 среди больных туберкулезом (1) и здоровых доноров (2).

* - $p < 0,05$ (относительно здоровых доноров).

Через 2 ч после введения содержание рифампицина в крови практически не различалось среди носителей разных генотипов CYP2C9 и составляло около 12 мкг/мл. Отсутствие различий в концентрации рифампицина между указанными группами свидетельствовало о схожей биодоступности и первичном распределении препарата в организме больных разных групп (рис. 2). Через 4 ч концентрация рифампицина была наибольшей у «медленных» метаболизаторов и составляла 20,60 мкг/мл, что на 25,1% ($p = 0,040$, CI = -10,07...-0,27) и 22,2% ($p = 0,047$; CI = -9,08...-0,06) выше, чем у «умеренных» и «быстрых» метаболизаторов соответственно. Через 6 и 24 ч наибольшая концентрация рифампицина отмечалась у «медленных», а наименьшая – у «умеренных» метаболизаторов ($p > 0,05$). Только среди «медленных» метаболизаторов средняя концентрация рифампицина через сутки после приема препарата была выше минимальной рекомендованной терапевтической концентрации (> 8 мкг/мл).

Отдельно был обчислен процент больных, у которых концентрация рифампицина была ниже минимальной рекомендованной терапевтической концентрации. На протяжении 2-6 ч до 14% больных, отнесенных к «быстрым» или «умеренным» метаболизаторам, имели концентрацию ниже 8 мкг/мл. К концу суток около 71,4% «умеренных» и 65,3% «быстрых» метаболизаторов имели субэффективную концентрацию рифампицина. И только треть больных, являющихся «медленными» метаболизаторами, имели подпороговую концентрацию рифампицина.

Таким образом, вполне объяснима была высокая концентрация рифампицина у «медленных» метаболизаторов, что может быть связано с медленной биотрансформацией рифампицина. В то же время обнаружение несколько более высокой концентрации рифампицина у «быстрых» метаболизаторов, чем у «умеренных», было неожиданностью, так как именно у «быстрых» метаболизаторов биотрансформация лекарств происходила наиболее быстро. Возможно, это связано с другими фармакогенетическими и фармакокинетическими факторами, которые ассоциируются с генотипом CYP2C9. Одним из таких факторов может быть содержание изониазида, поскольку известно, что это соединение является ингибитором микросомальных ферментов, включая CYP2C9 [3]. Поэтому на следующем этапе мы определяли фармакокинетику изониазида путем расчета периода полувыведения

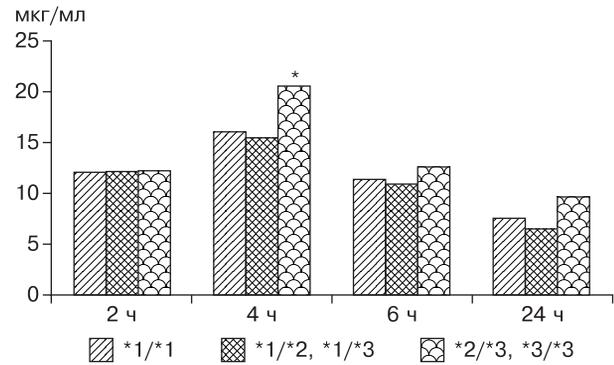


Рис. 2. Концентрация рифампицина у больных туберкулезом в зависимости от генотипа CYP2C9 (по оси абсцисс – время, после приема препарата).

* - $p < 0,05$ (относительно групп *1/*1 и *1/*2; *1/*3).

изониазида у больных туберкулезом, согласно которому больные были разделены на группу с быстрой биотрансформацией изониазида ($T_{1/2} = 0,62-1,18$ ч; $T_{1/2\text{сред}} = 0,86$ ч) и группу с медленной биотрансформацией ($T_{1/2} = 1,30-6,75$ ч; $T_{1/2\text{сред}} = 2,57$ ч). Известно, что главным путем биотрансформации изониазида в организме человека является ацетилирование с образованием ацетилизониазида, поэтому первую группу мы отнесли к фенотипу «быстрых» ацетиляторов (RA), а вторую группу – к фенотипу «медленных» ацетиляторов (SA).

Было установлено, что через 6 и 24 ч после применения противотуберкулезных препаратов у «медленных» ацетиляторов содержание рифампицина было выше почти на 20% относительно «быстрых» ацетиляторов ($p > 0,05$). Также процент больных, которые имели субэффективную концентрацию рифампицина, был выше у «быстрых» ацетиляторов, чем у «медленных» ацетиляторов, с максимумом к 24 ч (78,6% против 59,3% соответственно; $p > 0,05$).

При исследовании связи между скоростью биотрансформации изониазида и генотипом CYP2C9 было установлено, что среди диких гомозигот (*1/*1) большинство – 78,3% – составляли «медленные» ацетиляторы, тогда как среди гетерозигот (*1/*2, *1/*3) большую часть – 64,3% – составляли «быстрые» ацетиляторы (см. табл. 1). Таким образом, среди гетерозигот быстрый

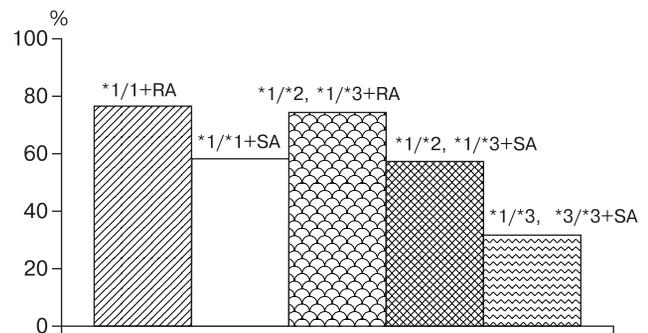


Рис. 3. Количество больных туберкулезом, которые не достигли рекомендованной концентрации рифампицина в крови через 24 ч после приема рифампицина в зависимости от генотипа CYP2C9 и фенотипа ацетилирования.

Таблица 1

Концентрация рифампицина у больных туберкулезом в зависимости от комбинации генотипа *CYP2C9* и фенотипа ацетилирования (в мкг/мл)

Генотип <i>CYP2C9</i>	Фенотип ацетилирования	N	Концентрация рифампицина в крови через			
			2 ч	4 ч	6 ч	24 ч
*1/*1	RA	10	11,89±1,27	17,07±1,20	9,94±1,22	6,92±1,20
	SA	36	12,93±2,08	15,20±1,01	11,73±1,24	7,80±1,21
*1/*2; *1/*3	RA	18	11,51±1,41	15,54±1,40	9,75±1,15	6,14±1,15
	SA	10	13,22±1,36	14,27±1,41	12,68±1,16	8,13±3,48
*2/*3; *3/*3	SA	6	12,17±1,52	20,60±1,21*	12,50±1,45	9,65±0,93

Примечание. * $p=0,018$, CI = 1,25...11,83 (относительно генотипов *1/*2; *1/*3+RA); $p=0,040$, CI = 0,26...10,54 (относительно генотипа *1/*1+SA); $p=0,043$, CI = 0,16...9,00 (относительно генотипов *1/*2; *1/*3+SA)

Таблица 2

Состояние больных туберкулезом до и после проведения стационарного лечения с учетом генотипа *CYP2C9*

Клинические и лабораторные данные	В начале лечения		При выписке из стационара	
	*1/*1 (n = 46)	*1/2; *1/*3 (n = 28)	*1/*1 (n = 46)	*1/2; *1/*3 (n = 28)
Деструкция в легких	23	6*	14	5
Процессы распада и обсеменения	24	6*	12	5
Процессы рассасывания инфильтрата	-	-	34	23
Выделение МБТ:				
микроскопия	25	15	1	-
культура	29	17	16	15

Примечание. * – $p < 0,05$ (по сравнению с генотипом *1/*1)

тип биотрансформации изониазида встречался почти в 3 раза чаще, чем среди носителей генотипа *1/*1 ($p = 0,000$; $\chi^2 = 11,648$). Высокая концентрация изониазида, которая наблюдается у «медленных» ацетиляторов, может замедлять метаболизм рифампицина в связи с угнетением ферментов *CYP*, что, возможно, является причиной несколько более высокой концентрации рифампицина у диких (*1/*1) и мутированных (*2/*3, *3/*3) гомозигот, чем у гетерозигот. Также угнетающее действие изониазида на ферменты *CYP* можно частично объяснить достижением максимальной концентрации рифампицина в крови лишь к 4 ч после приема препарата, хотя, согласно литературным данным, пик должен отмечаться через 2–2,5 ч [11].

В результате отдельного расчета концентрации рифампицина с учетом скорости элиминации изониазида было установлено, что через 4 ч после приема в соответствии с концентрациями рифампицина группы расположились следующим образом: (*2/*3; *3/*3+SA) > (*1/*1+RA) > (*1/*2; *1/*3+RA) > (*1/*1+SA) > (*1/*2; *1/*3+SA) (см. табл.1). Через 6 и 24 ч несколько большая концентрация рифампицина наблюдалась у «медленных» ацетиляторов: (*2/*3; *3/*3+SA) > (*1/*1+SA) > (*1/*2; *1/*3+SA) > (*1/*1+RA) > (*1/*2; *1/*3+RA).

Через 24 ч после приема противотуберкулезных препаратов наибольшее количество случаев субэффективной концентрации наблюдалось у «быстрых»

ацетиляторов с генотипом *fvb* *1/*1 или *1/*2; *1/*3 – 80,0 и 77,8% соответственно (рис. 3). Несколько реже наблюдались случаи субэффективной концентрации рифампицина у «медленных» ацетиляторов с вышеуказанными генотипами *CYP2C9* – 61,1 и 60% соответственно. Лишь треть больных с «медленным» типом ацетилирования и генотипами *2/*3; *3/*3 имели подпороговую концентрацию рифампицина.

При сопоставлении графиков изменения концентрации рифампицина в крови на протяжении суток у носителей разных генотипов *CYP2C9* было установлено, что в группах *2/*3; *3/*3+SA средний уровень рифампицина оставался в пределах рекомендованной концентрации на протяжении 24 ч. В то же время в группах *1/*2; *1/*3+RA средняя концентрация рифампицина падала ниже рекомендованной уже через 15 ч после приема.

Также был проведен анализ историй болезней у 80 исследованных больных туберкулезом. В начале лечения поражение обоих легких наблюдалось несколько чаще в группах «умеренных» (*1/*2; *1/*3) и «медленных» (*2/*3; *3/*3) метаболизаторов – 50 и 75% соответственно, чем у «быстрых» метаболизаторов (*1/*1) – 34,7% ($p > 0,05$). У «быстрых» метаболизаторов в 2,3 раза чаще наблюдались явления деструкции в легких, чем у «умеренных» метаболизаторов (50 и 21,4% соответственно, $p < 0,05$; $\chi^2 = 4,10$) (табл. 2). Также у «быстрых» метаболизаторов в 2,4 раза чаще наблюдались явления обсеменения и распада легочной ткани, чем у «умеренных» метаболизаторов (52,2 и 21,4%; $p < 0,05$; $\chi^2 = 4,46$)

и «медленных» метаболизаторов (у последних явления обсеменения и распада вообще не наблюдались, $p < 0,05$; $\chi^2 = 3,86$). Около половины больных во всех трех группах на момент начала лечения выделяли возбудителя туберкулеза (МБТ), согласно данным микроскопии; более 60% «быстрых» и «умеренных» метаболизаторов выделяли МБТ, согласно данным культурального метода (среди «медленных» метаболизаторов – 25,0%; $p > 0,05$). Также при первичном исследовании среди «быстрых» метаболизаторов 4 (8,3%) пациента выделяли мультирезистентные МБТ, среди «умеренных» – 1 (3,4%) пациент, среди «медленных» мультирезистентные штаммы отсутствовали.

На момент выписки из стационара процессы рассасывания туберкулезного инфильтрата наблюдались у 73,9% «быстрых» и 82,1% «умеренных» метаболизаторов; процессы деструкции сохранялись у 30,4% «быстрых» и 17,9% «умеренных» метаболизаторов ($p > 0,05$). Длительность амбулаторного лечения в среднем составляла для «быстрых» метаболизаторов 107,9 ± 23,9 дня; для «умеренных» – 91,3±12,8 дня; для «медленных» – 86,8±11,8 дня ($p > 0,05$). Таким образом, к моменту выписки у «быстрых» метаболизаторов несколько тяжелее протекал туберкулезный процесс и он требовал несколько более длительного лечения, чем у «умеренных» метаболизаторов, однако разница между группами уменьшилась по сравнению с начальным состоянием.

На момент выписки из стационара все «медленные» и «умеренные» метаболизаторы, а также около 97% «быстрых» метаболизаторов не выделяли МБТ, согласно данным микроскопии, причем практически одинаковое время понадобилось для прекращения бактериовыделения (конверсии) для «быстрых» и «умеренных» метаболизаторов – 59,3 и 55,8 дня соответственно. По данным культурального метода, бактериовыделение сохранилось у 34,8% «быстрых» и 53,6% «умеренных» метаболизаторов. К моменту выписки диагноз мультирезистентного туберкулеза был установлен у 21,3% «быстрых» и 22,2% «умеренных» метаболизаторов.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что среди больных туберкулезом – носителей генотипа $*1/*1$ было на 24,9% меньше, чем среди здоровых доноров, в то же время носителей генотипов $*1/*2$; $*1/*3$ было на 25% больше. У больных туберкулезом, являющихся носителями генотипов $*2/*3$, $*3/*3$, отмечались наиболее высокая концентрация рифампицина в крови и наименьшее количество случаев его подпороговой концентрации, что косвенно подтверждает участие микросомального фермента *CYP2C9* в метаболизме рифампицина. В то же время несколько более высокая концентрация рифампицина у диких гомозигот ($*1/*1$), чем у гетерозигот ($*1/*2$, $*1/*3$), этому противоречит. Возможно, это связано с другими факторами, которые ассоциируются с полиморфизмом *CYP2C9*.

Одним из таких факторов может быть присутствие противотуберкулезного препарата изониазида, являющегося мощным ингибитором *CYP2C9* и способного таким образом замедлять биотрансформацию и соответственно повышать концентрацию рифампицина в организме. Действительно, среди больных туберкулезом с генотипом *CYP2C9* $*1/*1$ в 2,2 раза чаще встречался фенотип медленного ацетилирования изониазида, чем у больных с генотипами $*1/*2$, $*1/*3$, что может сопровождаться более высокой концентрацией изониазида у больных с генотипом $*1/*1$ и ингибированием ферментов семейства цитохромов P-450, в том числе и *2C9*. У «быстрых» ацетиляторов концентрация рифампицина была несколько выше, чем у «медленных» ацетиляторов через 4 ч после приема препаратов, в то же время ситуация диаметрально изменилась к 6-му и 24-му часам. Возможно, у «быстрых» ацетиляторов к 4-му часу, а у «медленных» к 6–24 ч накапливались продукты биотрансформации изониазида, способные ингибировать ферменты семейства *CYP*, в том числе и *2C9*.

У носителей генотипа $*1/*1$ на начало противотуберкулезной терапии выявлено более тяжелое течение – почти в 2,5 раза чаще отмечались явления деструкции, обсеменения и распада в легких, чем у носителей генотипов $*1/*2$, $*1/*3$. Также после окончания стационарного этапа лечения явления деструкции в легочной ткани наблюдались несколько чаще в первой группе, однако различия между группами уменьшались. Согласно данным культурального исследования, более частое прекращение бактериовыделения наблюдалось у носителей генотипа $*1/*1$. Возможно, это связано с менее быстрым метаболизмом изониазида и рифампицина, чем у носителей генотипов $*1/*2$, $*1/*3$. Полученные данные подтверждают значение полиморфизма *CYP2C9* для возникновения туберкулеза, его исходной тяжести и эффективности лечения.

Сведения об авторах:

Кресюн Валентин Иосифович – первый проректор Одесского национального медицинского университета, чл.-кор. Национальной академии медицинских наук Украины, д-р мед. наук, проф., зав. каф. общей и клинической фармакологии ОНМедУ;

Антоненко Петр Борисович – канд. мед. наук, доц. каф. общей и клинической фармакологии ОНМедУ; e-mail: peterantonenko@yandex.ru.

ЛИТЕРАТУРА

1. Falzon D., Jaramillo E., Schünemann H.J., Arentz M., Bauer M., Bayona J. et al. WHO guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis: 2011 update. *Eur. Respir. J.* 2011; 38(3): 516–28.
2. Gumbo T., Louie A., Liu W., Brown D., Ambrose P.G., Bhavnani S.M. Isoniazid bactericidal activity and resistance emergence: integrating pharmacodynamics and pharmacogenomics to predict efficacy in different ethnic populations. *Antimicrobial agents and chemotherapy.* 2007; 51(7): 2329–6.
3. Кресюн В.И., Бажора Ю.И. Фармакогенетические основы взаимодействия организма и лекарств. Одесса: Одес. гос. мед. ун-т; 2007. 164 с.
4. Zhou S.F., Zhou Z.W., Yang L.P., Cai J.P. Substrates, inducers, inhibitors and structure-activity relationships of human Cytochrome P450 2C9 and implications in drug development. *Curr. Med. Chem.* 2009; 16(27): 3480–675.
5. Антоненко П.Б., Кресюн В.И. Полиморфизм генотипу цитохрому P-450 2C9 в Одеському регіоні. // Актуальні проблеми сучасної медицини. 2011; 11(4): 51–55.
6. Tatarūnas V., Lesauskaitė V., Veikutienė A., Jakuška P., Benetis R. The influence of CYP2C9 and VKORC1 gene polymorphisms on optimal warfarin doses after heart valve replacement. *Medicina (Kaunas).* 2011; 47(1): 25–30.
7. Gaikovitch E.A., Cascorbi I., Mrozikiewicz P.M., Brockmöller J., Frötschl R., Köpke K. et al. Polymorphisms of drug-metabolizing enzymes CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP1A1, NAT2 and of P-glycoprotein in a Russian population. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 2003; 59(4): 303–12.
8. Sullivan-Klose T.H., Ghanayem B.I., Bell D.A., Zhang Z.Y., Kaminsky L.S., Shenfield G.M. et al. The role of the CYP2C9-Leu359 allelic variant in the tolbutamide polymorphism. *Pharmacogenetics.* 1996; 6(4): 341–9.
9. Чубарян В.Т. Клинико-фармакологический подход к индивидуальному дозированию изониазида и рифампицина у больных туберкулезом легких: Автореф. дис. канд. мед. наук. Ростов-на-Дону; 1994.
10. Шендерова Р.И. // Лабораторное дело. 1975; 2: 114–6.
11. Коваленко В.Н., Викторова А.П., ред. КОМПЕНДИУМ 2012 — лекарственные препараты [Электронный ресурс]: Available at: <http://compendium.com.ua/akt/82/2826/rifampicinum>.

Поступила 05.10.13

REFERENCE

1. Falzon D., Jaramillo E., Schünemann H.J., Arentz M., Bauer M., Bayona J. et al. WHO guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis: 2011 update. *Eur. Respir. J.* 2011; 38(3): 516–28.
2. Gumbo T., Louie A., Liu W., Brown D., Ambrose P.G., Bhavnani S.M. Isoniazid bactericidal activity and resistance emergence: integrating pharmacodynamics and pharmacogenomics to predict efficacy in different ethnic populations. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2007; 51(7): 2329–36.
3. Kresyun V.I., Bazhora Yu.I. Pharmacogenetic basis of organism and drugs interaction. [Pharmacogeneticheskie osnovy vzaimodeistviya mezdu organismom i lekarstvom] Odessa: Odessa state medical university, 2007 (in Russian).
4. Zhou S.F., Zhou Z.W., Yang L.P., Cai J.P. Substrates, inducers, inhibitors and structure-activity relationships of human Cytochrome P450 2C9 and implications in drug development. *Curr. Med. Chem.* 2009; 16(27): 3480–675.
5. Antonenko P.B., Kresyun V.I. Genotype polymorphism CYP2C9 in Odessa region. Actual problem of modern medicine. 2011; 11(4): 51–5 (in Ukrainian).

- Tatarūnas V., Lesauskaitė V., Veikutienė A., Jakuška P., Benetis R. The influence of CYP2C9 and VKORC1 gene polymorphisms on optimal warfarin doses after heart valve replacement. *Medicina* (Kaunas). 2011; 47(1): 25–30.
- Gaikovitch E.A., Cascorbi I., Mrozikiewicz P.M., Brockmöller J., Frötschl R., Köpke K. et al. Polymorphisms of drug-metabolizing enzymes CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP1A1, NAT2 and of P-glycoprotein in a Russian population. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 2003; 59(4): 303–12.
- Sullivan-Klose T.H., Ghanayem B.I., Bell D.A., Zhang Z.Y., Kamin-sky L.S., Shenfield G.M. et al. The role of the CYP2C9-Leu359 allelic variant in the tolbutamide polymorphism. *Pharmacogenetics*. 1996; 6(4): 341–9.
- Chubaryan V.T. Clinical-pharmacological approaches to individual dosing of isoniazid and rifampicin in patients with pulmonary tuberculosis [*Clinico-pharmacologicheskii podchod k individualnomu dozirovaniyu isoniazida i rifampicina u bolnyh tuberculosom legkih*]. Dis. Rostov-na-Donu; 1994 (in Russian).
- Shenderova R. I. *Opredele niye aktivnogo tubazida v sivorotke krovi methodom Villenberga* [Detection of active tubazid in blood serum by Villenberg method]. *Laboratornoe delo*. 1975; 2: 114–6 (in Russian).
- COMPENDIUM 2012 – medical agents [Electronic resource] : handbook / editors – V.N.Kovalenko, A.P.Victorov Online address: <http://compendium.com.ua/akt/82/2826/rifampicinum> (in Russian).

Received 05.10.13

POLYMORPHISM OF THE BIOTRANSFORMATION GENE – CYTOCHROME-450 2C9 IN THE PATIENTS WITH TUBERCULOSIS

Antonenko P. B., Kresyun V. I.

Odessa National Medical University, Ministry of Healthcare of Ukraine, Odessa, Ukraine

The goal of this work was to study cytochrome-450 (CYP) 2C9 (CYP2C9) gene polymorphism in patients with tuberculosis (TB) and its meaning for development, progress, and outcome of TB, for the pharmacokinetics of the antituberculosis antibiotic rifampicin on the basis of the southern region of Ukraine.

Among the TB patients it was 24.9% less than in carriers of the genotype *1/*1 and than in healthy donors. At the same time, it was 25.0% less than in carriers of the genotypes *1/*2, *1/*3. In the TB patients with the genotype *2/*3, *3/*3 the level of rifampicin in blood was the lowest. At the beginning of the treatment in carriers of genotype *1/*1 the pulmonary destruction was observed 2.5 times more often than in *1/*2, *1/*3 genotype. According to the cultural method, the carriers of *1/*1 more frequently became smear-negative than the carriers of *1/*2, *1/*3 genotype.

Key words: *CYP2C9 gene; polymorphism; tuberculosis; rifampicin.*

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2014
УДК 579.843.1.083.18^535.243.08

Афанасьев М.В., Миронова Л.В., Басов Е.А., Остяк А.С., Куликалова Е.С., Урбанович Л.Я., Балахонов С.В.

MALDI-TOF МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ В УСКОРЕННОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ РОДА *VIBRIO*

ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Иркутск

Цель настоящей работы – разработка методологических подходов идентификации представителей рода *Vibrio* с использованием технологии MALDI-TOF масс-спектрометрического анализа. В работе изучены аспекты биологической безопасности пробоподготовки для масс-спектрометрического анализа, получены референсные спектры шести типовых штаммов *V. cholerae*. С использованием базы MALDI Biotyper 3.0, включающей референсные спектры *V. cholerae*, проведена идентификация 55 штаммов – представителей рода *Vibrio*, в том числе 45 штаммов *V. cholerae* разной эпидемической значимости. Продемонстрирована возможность достоверного определения таксономической принадлежности исследуемых микроорганизмов до видового уровня, при этом результаты полностью соответствуют данным классической микробиологической идентификации. Экспериментально показана стабильность и воспроизводимость предлагаемого метода исследования.

Полученные результаты дают основание рассматривать методику идентификации представителей рода *Vibrio* с использованием технологии масс-спектрометрического анализа как достаточно эффективную, позволяющую в кратчайшие сроки определять видовую принадлежность основных представителей рода *Vibrio*.

Ключевые слова: род *Vibrio*; MALDI-TOF масс-спектрометрический анализ; идентификация.

Род *Vibrio* насчитывает более 50 видов, часть из которых играет значительную роль в инфекционной патологии человека [1]. Наибольшее клиническое и эпидемическое значение среди представителей рода *Vibrio* имеет *Vibrio cholerae* – возбудитель холеры, особо опасной острой кишечной инфекции, сопровождающейся дегидратацией организма больного.

В мире с начала седьмой пандемии официально зарегистрировано более 7 млн случаев холеры. При этом в последние годы отмечается рост заболеваемости, в том числе и за счет вовлечения в эпидемический процесс стран Американского континента (р. Гаити, Доминиканская Республика, Куба) [2, 3], что свидетельствует о существовании реальной угрозы заноса возбудителя из неблагоприятных по холере стран на новые территории с последующим развитием эпидемических осложнений.

К числу других клинически значимых представителей рода *Vibrio* относятся галофильные вибрионы, в том числе *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *V. fluvialis*, *V. vulnificus*, вызывающие острые кишечные инфекции, а также инфекции внекишечной локализации (раневые инфекции, поражения ЛОР-органов, септицемия) [1, 4, 5].

Традиционная микробиологическая идентификация микроорганизмов рода *Vibrio*, основывающаяся на фенотипических тестах (культурально-морфологические, тинкториальные, биохимические свойства, агглютинация со специфическими сыворотками), требует от 36 до 42 ч с момента поступления первичного материала [6, 7]. Молекулярно-генетические методы детекции возбудителя позволяют ускорить процесс, сократив его до нескольких часов [6].

В последние годы в молекулярной диагностике инфекционных заболеваний для экспресс-идентификации