

Изучение влияния полиморфных маркеров гена *NAT2* на риск развития нежелательных реакций у пациентов с легочными формами туберкулеза, получавших изониазид и рифампицин

*А. А. Качанова¹, Ю. А. Пименова¹, Г. Н. Шуев¹, К. А. Акмалова¹, Ж. А. Созаева¹,
Н. М. Краснова², Е. А. Гришина¹, Д. А. Сычев¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. Баррикадная, д. 2/1, стр. 1, Москва, 125993, Российская Федерация

² Медицинский институт ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет имени М. К. Аммосова», ул. Кулаковского, д. 42, Якутск, 677000, Российская Федерация

Резюме. Туберкулез остается одним из самых опасных и широко распространенных инфекционных заболеваний. Для лечения туберкулеза доступно более двадцати препаратов. При противотуберкулезной терапии одной из наиболее серьезных нежелательных реакций (НР) при применении лекарственных препаратов является токсическое поражение печени. **Цель работы:** изучить влияние полиморфных маркеров гена *NAT2* на риск развития НР у пациентов с легочными формами туберкулеза, получавших изониазид и рифампицин. **Материалы и методы:** в исследование были включены 67 пациентов с различными формами туберкулеза легких, получающих комбинированную терапию изониазидом и рифампицином. Определение однонуклеотидных полиморфизмов гена *NAT2* осуществлялось методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Статистическую обработку проводили с использованием программы SPSS Statistics 20.0. **Результаты:** было выявлено 6 однонуклеотидных полиморфизмов в гене *NAT2*, на основе которых определены фенотипы по скорости ацетилирования *NAT2*: 6 человек отнесены к фенотипу «быстрые» ацетиляторы, 24 — к фенотипу «промежуточные» ацетиляторы и 37 — «медленные» ацетиляторы. Проведена оценка связи между фенотипом ацетилятора и развитием НР при приеме изониазида и рифампицина. «Медленные» ацетиляторы характеризовались значимо большим увеличением уровня общего билирубина ($p = 0,011$) по сравнению с «промежуточными» ацетиляторами. Снижение аппетита чаще регистрировалось у «быстрых» ацетиляторов в сравнении с «промежуточными» ($p = 0,021$). **Выводы:** полученные нами данные свидетельствуют об ассоциации «медленного» типа ацетилирования *NAT2* с риском НР при химиотерапии туберкулеза легких с использованием изониазида и рифампицина. Среди зарегистрированных НР у «быстрых» ацетиляторов чаще отмечалось снижение аппетита, однако результаты данного наблюдения требуют расширения выборки и дополнительного изучения. Изучаемые полиморфизмы оказывают влияние на развитие НР при химиотерапии туберкулеза легких изониазидом и рифампицином и в перспективе могут быть использованы для прогнозирования профиля безопасности фармакотерапии у данной категории пациентов.

Ключевые слова: туберкулез; фармакогенетика; N-ацетилтрансфераза 2; генетический полиморфизм; однонуклеотидные полиморфизмы; изониазид; рифампицин

Для цитирования: Качанова АА, Пименова ЮА, Шуев ГН, Акмалова КА, Созаева ЖА, Краснова НМ, Гришина ЕА, Сычев ДА. Изучение влияния полиморфных маркеров гена *NAT2* на риск развития нежелательных реакций у пациентов с легочными формами туберкулеза, получавших изониазид и рифампицин. *Безопасность и риск фармакотерапии*. 2021;9(1):25–33. <https://doi.org/10.30895/2312-7821-2021-9-1-25-33>

***Контактное лицо:** Качанова Анастасия Алексеевна; aakachanova@yandex.ru

Study of the Effect of Polymorphic Markers of the *NAT2* Gene on the Risk of Adverse Drug Reactions in Patients with Pulmonary Tuberculosis Who Received Isoniazid and Rifampicin

*А. А. Качанова¹, Ю. А. Пименова¹, Г. Н. Шуев¹, К. А. Акмалова¹, Ж. А. Созаева¹,
Н. М. Краснова², Е. А. Гришина¹, Д. А. Сычев¹

¹ Russian Medical Academy of Continuous Professional Education
2/1/1 Barrikadnaya St., Moscow 125993, Russian Federation

² M. K. Ammosov North-Eastern Federal University,
42 Kulakovskogo St., Yakutsk 677000, Russian Federation

Abstract. Tuberculosis remains one of the most dangerous and widespread infectious diseases. More than 20 medicinal products are currently available for the treatment of tuberculosis. One of the most serious adverse drug reactions (ADRs) associated with anti-tuberculosis medicines is hepatotoxicity. **The aim** of the study was to assess the effect of polymorphic markers of the *NAT2* gene on the ADR risk in patients with pulmonary tuberculosis who received isoniazid and rifampicin. **Materials and methods:** the study included 67 patients with different forms of pulmonary tuberculosis who received combination therapy with isoniazid and rifampicin. Single nucleotide polymorphisms (SNPs) of the *NAT2* gene were determined by real-time PCR. Statistical processing was performed using SPSS Statistics 20.0. **Results:** six SNPs were identified in the *NAT2* gene. Based on these SNPs the following phenotypes were determined by the rate of *NAT2* acetylation: fast acetylators—6 subjects, intermediate acetylators—24 subjects, and slow acetylators—37 subjects. The study assessed the relationship between the acetylator

phenotype and the development of ADRs during combination therapy with isoniazid and rifampicin. Slow acetylators had a significantly greater increase in total bilirubin level ($p = 0.011$) compared to intermediate acetylators. Loss of appetite was more often observed in fast acetylators than in intermediate acetylators ($p = 0.021$). **Conclusions:** the obtained data suggest interrelation between the slow type of NAT2 acetylation and the risk of ADRs in patients undergoing pulmonary tuberculosis chemotherapy with isoniazid and rifampicin. Out of all the ADRs registered in the study, the fast acetylators were more likely to have loss of appetite, however, the expansion of the study population is needed to verify this observation. The studied polymorphisms have an impact on the development of ADRs in patients undergoing pulmonary tuberculosis chemotherapy with isoniazid and rifampicin and may be used to predict the safety profile of pharmacotherapy in this group of patients.

Keywords: tuberculosis; pharmacogenetics; N-acetyltransferase 2; genetic polymorphism; single nucleotide polymorphisms; isoniazid; rifampicin

For citation: Kachanova AA, Pimenova YuA, Shuev GN, Akmalova KA, Sozaeva ZhA, Krasnova NM, Grishina EA, Sychev DA. Study of the effect of polymorphic markers of the *NAT2* gene on the risk of adverse drug reactions in patients with pulmonary tuberculosis who received isoniazid and rifampicin. *Bezopasnost' i risk farmakoterapii = Safety and Risk of Pharmacotherapy*. 2021;9(1):25–33. <https://doi.org/10.30895/2312-7821-2021-9-1-25-33>

*Corresponding author: Anastasia A. Kachanova; aakachanova@yandex.ru

Туберкулез — инфекционное заболевание, которое является одной из десяти основных причин смерти во всем мире и главной по значимости — в структуре смертности среди инфекционных заболеваний. По данным ВОЗ, в 2019 г. было зарегистрировано 10 млн новых случаев и около 1,4 млн смертей от туберкулеза¹. Возбудитель *Mycobacterium tuberculosis* передается воздушно-капельным путем от человека к человеку, как правило, поражает легкие, однако известны различные формы внелегочного туберкулеза².

Проблема подбора оптимальной фармакотерапии туберкулеза остается по-прежнему актуальной. В настоящее время при лечении туберкулеза используют более 20 препаратов. В качестве препаратов первого ряда назначают максимально эффективные лекарственные средства, такие как изониазид, рифампицин, пиперазид, этамбутол и стрептомицин. При невозможности лечения заболевания препаратами первого ряда применяют препараты второго ряда, например, циклосерин, офлоксацин, амикацин, капреомицин и др., обладающие меньшей эффективностью и большей токсичностью³. На рынок выведены новые противотуберкулезные препараты, такие как тиоуреидоиминометилпиридиния перхлорат, бедаквилин, способные воздействовать на резистентные формы туберкулеза и обладающие минимальной токсичностью, однако их стоимость очень высока [1, 2]. Несмотря на широкий выбор лекарственных средств, при лечении туберкулеза чаще используют комбинацию изониазида и рифампицина⁴. Их применение может сопровождаться нежелательными реакциями (НР), наиболее серьезной

из которых является токсическое поражение печени⁵. В частности, изониазид способен вызывать изониазид-индуцированное поражение печени, которое при тяжелом течении может приводить к летальному исходу [3].

Изониазид является пролекарством — микобактериальная каталаза-пероксидаза метаболизирует изониазид до активного метаболита, который участвует в метаболизме жирных кислот, нарушая синтез компонентов клеточной стенки *M. tuberculosis*⁶. Изониазид также является ингибитором микобактериальной каталазы-пероксидазы, что снижает защиту микроорганизма против активных форм кислорода, в том числе пероксида водорода. Метаболизируется в печени путем ацетилирования N-ацетилтрансферазой 2 типа (NAT2) до N-ацетилизониазида, который затем биотрансформируется в изоникотиновую кислоту и моноацетилгидразин⁷.

Рифампицин — полусинтетический антибиотик, который ингибирует активность ДНК-зависимой РНК-полимеразы, подавляя начало транскрипции РНК⁸. Даже в низких концентрациях оказывает бактерицидное действие на *M. tuberculosis*. Метаболизируется в печени, выводится из организма с желчью — в виде метаболитов, с мочой — в неизменном виде, в виде 25-О-деацетилрифампицина и 3-формилрифампина.

Изофермент NAT2, таким образом, играет ведущую роль в метаболизме изониазида [4].

На сегодняшний день у человека в гене *NAT2* идентифицировано 108 гаплотипов⁹. Наиболее распространенными и значимыми с точки зрения

¹ World Health Organization. Global tuberculosis report 2020. WHO; 2020.

<https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports/global-tuberculosis-report-2020>

² Там же.

³ Яблонский ПК, ред. Фтизиатрия. Национальные клинические рекомендации. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2015.

⁴ Туберкулез у взрослых. Клинические рекомендации. Министерство здравоохранения Российской Федерации; 2020.

⁵ Там же.

⁶ <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00951>

⁷ <https://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx?s=%u0438%u0437%u043e%u043d%u0438%u0430%u0437%u0438%u0434&m=mn>

⁸ <https://www.drugbank.ca/drugs/DB01045>

⁹ http://nat.mbg.duth.gr/Human%20NAT2%20alleles_2013.htm#

фармакокинетики являются 7 однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) гена *NAT2*: *NAT2*5*, *NAT2*6*, *NAT2*7*, *NAT2*11*, *NAT2*12*, *NAT2*13*, *NAT2*14* [5, 6]. В ряде исследований было установлено, что носительство данных однонуклеотидных замен существенно влияет на активность изофермента *NAT2* у человека. В зависимости от активности *NAT2* были выделены три основные фенотипические группы: «быстрые» ацетиляторы, «промежуточные» ацетиляторы и «медленные» ацетиляторы [7].

Аллель *NAT2* дикого типа обозначается как *NAT2*4*. Наличие данного аллеля связано с ускоренным метаболизмом изониазида и по фенотипу характеризуется как «быстрый» ацетилятор [7]. *NAT2*5*, *NAT2*6* и *NAT2*7*, *NAT2*14* являются наиболее значимыми аллелями, которые связаны с пониженной активностью изофермента, их носители образуют фенотип «медленные» ацетиляторы [8]. *NAT2*11*, *NAT2*12* и *NAT2*13* обладают равной или более высокой активностью изофермента по сравнению с аллелем дикого типа, их носители образуют фенотип «быстрые» ацетиляторы [9] (табл. 1). Носители гетерозиготных генотипов *NAT2*4/*5*, *NAT2*4/*6* или *NAT2*4/*7* являются «промежуточными» ацетиляторами [10].

В большинстве популяций европейской расы соотношения фенотипов «медленных» и «быстрых» ацетиляторов равны, тогда как среди инуитов Аляски большинство (95%) являются «быстрыми» ацетиляторами. Арабы, как правило, «медленные» ацетиляторы (95%) [11], среди южноафриканцев негроидной расы примерно 59% «быстрые» ацетиляторы и 41% — «медленные» [12, 13].

Результаты метаанализа, проведенного S. Garte и соавт. на основании информации о 3979 здоровых европеоидах, полученной из базы данных Международного проекта по генетической восприимчивости к канцерогенным веществам окружающей среды (International Project on Genetic Susceptibility to Environmental Carcinogens, GSEC), показали, что частота встречаемости *NAT2*4* составляет 20–25% в европейских популяциях [14]. Аллель дикого типа *NAT2*4* чаще встречался у афроамериканцев (36–41%) и у латиноамериканцев (41%) [15–17]. Частота встречаемости аллеля дикого типа наиболее высокая у азиатов, наблюдаемый диапазон — от 50% у китайцев [16, 18, 19] до почти 70% у японцев [20, 21]. Аллель *NAT2*5* чаще всего встречался у европеоидов (44%), габонов (41%), латиноамериканцев и афроамериканцев (25–27%). Аллель *NAT2*6* довольно равномерно распределен среди этнических групп, тогда как *NAT2*7* был более распространен среди азиатов. Аллель *NAT2*14* (191G>A) специфичен для африканцев и встречается с высокой частотой (8–14%) в нескольких западноафриканских группах. У европеоидов

Таблица 1. Соответствие скорости ацелирования полиморфизмам *NAT2*

Table 1. Acetylation rates relative to *NAT2* polymorphisms

Аллель	Однонуклеотидная замена	Фенотип ацетилятора
<i>NAT2*5</i>	T341C	«Медленный»
<i>NAT2*6</i>	G590A	«Медленный»
<i>NAT2*7</i>	G857A	«Медленный»
<i>NAT2*11</i>	C481T	«Быстрый»
<i>NAT2*12</i>	A803G	«Быстрый»
<i>NAT2*13</i>	C282T	«Быстрый»

данный аллель выявлен не был [22]. Таким образом, существуют различия в распространенности частот встречаемости аллелей гена *NAT2* среди различных этнических групп [7].

Исследование корреляции между генотипами полиморфизмов гена *NAT2* и фармакокинетикой изониазида показало, что концентрация изониазида в плазме выше в 4–6 раз у носителей гомозиготных генотипов, соответствующих фенотипу «медленных» ацетиляторов. Таким образом, «медленные» ацетиляторы более подвержены токсичному воздействию данного лекарственного препарата [23]. Показано, что для «медленных» ацетиляторов применение изониазида сопровождается повышенным риском развития поражений печени и периферической нервной системы [24]. Например, результаты исследования Н.-J. Cho и соавт. свидетельствуют, что риск развития гепатотоксичности значительно (в 3,8 раза) выше у «медленных» ацетиляторов по сравнению с «быстрыми» (36,8 против 9,7%) [10]. Данные фармакогенетических исследований пациентов уже используются для подбора оптимальной дозы изониазида на основе фенотипа и генотипа с целью профилактики развития НР. Превентивное генотипирование пациентов по гену *NAT2*, а также генотипирование в процессе лечения при возникновении отклонений биохимических показателей может играть важную роль для определения и изменения тактики лечения и для профилактики развития НР. Затраты на проведение генотипирования пациентов оправданы возможностью эффективной коррекции фармакотерапии пациентов, а суммарные экономические затраты в системе здравоохранения при этом даже снижаются [25].

По данным S. Yang и соавт., несмотря на большую межэтническую изменчивость в частоте полиморфного аллеля *NAT2*, генотип «медленного» ацетилятора значительно увеличивал риск индуцированного противотуберкулезными препаратами поражения печени во всех этнических группах, что свидетельствует о критической роли полиморфизма *NAT2*. Метаанализ включал данные о 1323 пациентах с туберкулезом, получавших

изониазид и рифампицин, и о 7319 контрольных случаях — отношение шансов $OR = 3,30$; 95%, доверительный интервал (CI) от 2,65 до 4,11; уровень статистической значимости $p < 0,00001$; $I^2 = 54\%$, гетерогенность $< 0,0001$ [26].

Цель работы — изучить влияние полиморфных маркеров гена *NAT2* на риск возникновения нежелательных реакций у пациентов с легочными формами туберкулеза, получавших изониазид и рифампицин.

Для достижения поставленной цели были поставлены следующие задачи.

1. Выполнить генотипирование 6 однонуклеотидных замен гена *NAT2* (*NAT2*5* T341C, *NAT2*6* G590A, *NAT2*7* G857A, *NAT2*11* C481T, *NAT2*12* A803G, *NAT2*13* C282T) у пациентов с легочным туберкулезом методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

2. По результатам генотипирования разделить пациентов на три группы по скорости ацетилирования противотуберкулезных препаратов («быстрые», «медленные» и «промежуточные» ацетиляторы).

3. Установить взаимосвязь между типом ацетилятора и НР, возникающими при применении изониазида и рифампицина у пациентов с легочными формами туберкулеза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 67 пациентов с различными формами туберкулеза легких (Биоресурсная коллекция ДНК пациентов с туберкулезом сформирована на базах кафедр фтизиатрии РМАНПО, Москва, Новокузнецк, Иркутск), из них 25 (37%) женщин и 42 (63%) мужчины, получавших в рамках I режима¹⁰ комбинированную терапию изониазидом и рифампицином в дозах 5–10 мг/кг/сут и 450–600 мг/сут соответственно. Возраст пациентов составил от 22 до 88 лет (медиана 34 года). От каждого пациента было получено добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Определение однонуклеотидных замен гена *NAT2* осуществлялось методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Влияние терапии на качество жизни оценивалось при помощи опросника качества жизни SF-36, безопасность терапии — с помощью анкетирования пациента о наличии НР. Также были оценены показатели биохимического анализа крови: уровни аланинаминотрансферазы (АЛТ), гамма-глутаминтрансферазы (ГГТ), щелочной фосфатазы, аспартатаминотрансферазы (АСТ), билирубина общего, билирубина

прямого, креатинина, мочевины в сыворотке крови. Забор крови и анкетирование пациентов осуществлялись до начала лечения и через один месяц после начала терапии.

Фармакогенетическое тестирование проводилось на базе Научно-исследовательского института молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава РФ. Из образцов крови была выделена нативная ДНК с использованием коммерческого набора «S-сорб» для выделения ДНК на сорбенте (ООО «НПФ Синтол», Россия). Выделенная ДНК была заморожена при $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ и в дальнейшем использована для генотипирования. Количество и качество экстрагированной ДНК тестировались с помощью спектрофотометра для микрообъемов NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, США).

В исследовании были осуществлено определение 6 наиболее значимых однонуклеотидных замен гена *NAT2*: *NAT2*5* — rs1801280 (341T>C), *NAT2*6* — rs1799930 (590G>A), *NAT2*7* — rs1799931 (857G>A), *NAT2*11* — rs1799929 (481C>T), *NAT2*12* — rs1208 (803A>G) и *NAT2*13* — rs1041983 (282C>T) у 67 пациентов путем полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (Real-Time PCR) (использован коммерческий набор ГенТест-М *NAT2* ООО «НОМОТЕК», Россия) на детектирующем амплификаторе CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad, США). Точность наборов и результатов генотипирования гена *NAT2* была верифицирована методом секвенирования по Сэнгеру. В качестве прямого праймера был выбран 5'-GTCACACGAGGAAATCAAATGC-3', в качестве обратного праймера — 5'-GTTTTCTAGCATGAATCACTCTGC-3'. Хроматограммы секвенирования были оценены визуально, проанализированы с применением программного обеспечения FinchTV 1.4 и сравнены с референсной последовательностью *NAT2*¹¹ для определения исследуемых SNP.

На основе различных комбинаций исследуемых SNP с помощью онлайн калькулятора *NAT2pred*¹², были рассчитаны фенотипы *NAT2*.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программы SPSS Statistics 20.0. Для анализа достоверности различий были использованы непараметрические критерии Манна–Уитни и Краскела–Уоллиса. Анализ по сравнению частот категориальных переменных проводился с помощью теста хи-квадрат Пирсона.

¹⁰ Туберкулез у взрослых. Клинические рекомендации. Министерство здравоохранения Российской Федерации; 2020.

¹¹ https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NM_000015.2

¹² <http://nat2pred.rit.albany.edu/help.html#batch> (дата обращения 01.07.2020)

РЕЗУЛЬТАТЫ

На исследуемой выборке было проведено генотипирование 6 полиморфизмов гена *NAT2*: *NAT2*5* (rs1801280), *NAT2*6* (rs1799930), *NAT2*7* (rs1799931), *NAT2*11* (rs1799929), *NAT2*12* (rs1208) и *NAT2*13* (rs1041983). Результаты представлены в таблице 2.

По результатам генотипирования пациенты были разделены на три группы с использованием онлайн калькулятора NAT2pred: 6 человек были отнесены к группе «быстрых» ацетиляторов, что соответствует «нормальной» скорости работы изофермента, 24 — к группе «промежуточных» ацетиляторов со сниженной скоростью работы изофермента и 37 — к группе «медленных» ацетиляторов с очень низкой скоростью ацетилирования.

Статистически значимых различий в распространенности форм, локализации и фазы развития туберкулеза, а также осложнений туберкулеза в зависимости от скорости работы изофермента обнаружено не было (табл. 3).

Результаты анализа ассоциаций параметров безопасности фармакотерапии со скоростью ацетилирования *NAT2*

У 31 (46%) пациента НР отсутствовали. У 36 (54%) пациентов, получавших изониазид и рифампицин, через один месяц после начала терапии была зарегистрирована хотя бы одна из следующих НР. Снижение аппетита ($n = 5$) чаще наблюдалось у «быстрых» ацетиляторов в сравнении с «промежуточными» (33,3 против 0,0%; $p = 0,021$). Также были отмечены тошнота ($n = 10$), рвота ($n = 7$),

крапивница ($n = 5$), эозинофилия ($n = 3$), артралгия ($n = 3$), бронхоспазм ($n = 2$), лихорадка ($n = 2$), ухудшение зрения ($n = 2$), диарея ($n = 2$), лекарственный гепатит ($n = 2$), отек Квинке ($n = 1$), псевдомембранозный колит ($n = 1$), почечная недостаточность ($n = 1$), головная боль ($n = 1$). Ассоциаций этих НР со скоростью ацетилирования *NAT2* выявлено не было.

При анализе биохимических показателей в динамике у пациентов был использован критерий Краскела—Уоллиса. Была выявлена ассоциация уровня общего билирубина со скоростью ацетилирования *NAT2* ($p = 0,044$). При попарном сравнении биохимических показателей ацетиляторов с помощью критерия Манна—Уитни «медленные» ацетиляторы характеризовались значимо большим увеличением уровня общего билирубина ($p = 0,011$) по сравнению с «промежуточными» ацетиляторами. Других ассоциаций и изменений биохимических показателей со скоростью ацетилирования *NAT2* не выявлено (табл. 4).

ОБСУЖДЕНИЕ

Мы изучили взаимосвязь между скоростью ацетилирования *NAT2* и возникновением НР у пациентов с легочными формами туберкулеза, принимающими изониазид и рифампицин.

Снижение аппетита было чаще зарегистрировано у «быстрых» ацетиляторов. Данные пациенты не имели сопутствующих заболеваний ЖКТ. Этот результат следует считать парадоксальным, потому что мы ожидали худшей переносимости фармакотерапии среди «медленных» ацетиляторов на основании результатов ранее проведенных

Таблица 2. Частоты встречаемости генотипов однонуклеотидных замен гена *NAT2* в данной выборке

Table 2. Frequencies of genotypes of single nucleotide substitutions in the *NAT2* gene in the study population

Полиморфизм/ Замена	Гаплотип/ Замена	Количество пациентов, чел.	% от общего количества
<i>NAT2*5</i> T341C	TT	26	38,8
	TC	14	20,9
	CC	27	40,3
<i>NAT2*6</i> G590A	GG	32	47,8
	GA	30	44,8
	AA	5	7,5
<i>NAT2*7</i> G857A	GG	63	94,0
	GA	3	4,5
	AA	1	1,5
<i>NAT2*11</i> C481T	CC	29	43,3
	CT	28	41,8
	TT	10	14,9
<i>NAT2*12</i> A803G	AA	28	41,8
	AG	29	43,3
	GG	10	14,9
<i>NAT2*13</i> C282T	CC	28	41,8
	CT	31	46,3
	TT	8	11,9

Таблица 3. Клинические характеристики пациентов с туберкулезом, включенных в исследование

Table 3. Clinical characteristics of the tuberculosis patients included in the study

Характеристика заболевания		Количество пациентов	% от общего количества
Форма туберкулеза	диссеминированная	11	16,4
	очаговая	3	4,5
	инфильтративная	40	59,7
	казеозная пневмония	1	1,5
	туберкулома	4	6,0
	фиброзно-кавернозная	6	8,9
	цирротическая	1	1,5
	туберкулез внутригрудных лимфатических узлов	1	1,5
Локализация туберкулеза	правое легкое	20	29,8
	левое легкое	28	41,8
	одновременное поражение обоих легких	19	28,4
Фазы развития туберкулеза	инфильтрация	10	14,9
	распад	19	28,4
	обсеменение	6	8,9
	уплотнение	1	1,5
	распад + обсеменение	17	25,4
	инфильтрация + распад	9	13,4
	инфильтрация + обсеменение	5	7,5
Осложнения туберкулеза	плеврит	8	11,9
	туберкулез бронхов	5	7,5
	эмпиема	6	8,9
	осложнения не наблюдались	48	71,6

исследований¹³ [10, 24]. Тем не менее данную находку нельзя игнорировать в связи с ее статистической достоверностью. Имеющиеся в нашем распоряжении данные не позволяют обосновать, почему «быстрые» ацетиляторы NAT2 чаще отмечали снижение аппетита.

Одной из причин увеличения уровня общего билирубина в сыворотке крови у ацетиляторов «медленного» типа при приеме изониазида и рифампицина может быть образование метаболита изониазида — моноацетилгидразина, оказывающего гепатотоксичное действие¹⁴. Изофермент NAT2 участвует в метаболизме изониазида на двух основных этапах. На первом этапе из изониазида образуется токсичный метаболит моноацетилгидразин. В дальнейшем моноацетилгидразин либо окисляется изоферментами цитохромами P450 с образованием метаболитов, сохраняющих гепатотоксичность, либо подвергается повторно ацетилированию с участием NAT2 с образованием нетоксичного метаболита диацетилгидразина [27]. При наличии у пациента «быстрого» типа ацетилирования NAT2 концентрация токсичных метаболитов в крови снижается по сравнению с их уровнем у пациентов с «медленным» типом

ацетилирования NAT2. Вероятно, этим обусловлена меньшая частота развития НР со стороны печени у «быстрых» ацетиляторов.

Отмеченное нами повышение уровня общего билирубина в сыворотке крови у «медленных» ацетиляторов подтверждает результаты других исследований. В исследовании П. Б. Антоненко уровень общего билирубина у «медленных» ацетиляторов на момент выписки из стационара был на 17,5% выше, чем у «быстрых» ацетиляторов ($p = 0,008$; $CI = -3,48...-0,55$) [28].

По-видимому, стандартная дозировка изониазида, рекомендуемая в международных руководствах (5 мг/кг/сут)¹⁵, является избыточной для «медленных» ацетиляторов и недостаточной для «быстрых» ацетиляторов. Так, по данным J. Azuma и соавт., применение у «медленных» ацетиляторов дозы изониазида в 2 раза ниже рекомендованной способствует уменьшению риска развития изониазид-индуцированного поражения печени без потери терапевтической эффективности препарата. Для «быстрых» ацетиляторов доза изониазида, увеличенная в начале лечения в 1,5 раза относительно стандартной дозы, повышает эффективность терапии без

¹³ Середенин СБ. Лекции по фармакогенетике. М.: Медицинское информационное агентство; 2004.

¹⁴ Там же.

¹⁵ Treatment of tuberculosis: guidelines. WHO; 2010. https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44165/9789241547833_eng.pdf

Таблица 4. Динамика биохимических показателей за период наблюдения в зависимости от скорости ацетилирования NAT2

Table 4. Changes of biochemical parameters during the observation period depending on the rate of NAT2 acetylation

Биохимический показатель (единицы измерения)	Фенотип ацетилятора	Количество пациентов, чел.	Динамика, М [min; max]	p (критерий Краскела–Уоллиса)
Аланинаминотрансфераза (Ед/л)	«Быстрый»	6	9,9 [-1,0; 508,9]	0,227
	«Промежуточный»	23	4,4 [-48,6; 484,0]	
	«Медленный»	34	12,1 [-41,0; 622,3]	
Аспартатаминотрансфераза (Ед/л)	«Быстрый»	6	9,05 [-14,7; 325,3]	0,391
	«Промежуточный»	23	3,7 [-29,4; 441,0]	
	«Медленный»	34	9,1 [-28,0; 439,3]	
Билирубин общий (мкмоль/л)	«Быстрый»	6	-2,45 [-8,7; 116,1]	0,044
	«Промежуточный»	22	-3,0 [-20,1; 18,3]	
	«Медленный»	34	0,4 [-13,8; 91,7]	
Билирубин прямой (мкмоль/л)	«Быстрый»	5	0,47 [-4,91; 1,77]	0,569
	«Промежуточный»	22	-0,03 [-2,4; 10,3]	
	«Медленный»	34	0,56 [-8,3; 57,0]	
Креатинин (мкмоль/л)	«Быстрый»	6	9,15 [-14,40; 95,90]	0,159
	«Промежуточный»	20	0,85 [-115,0; 137,0]	
	«Медленный»	32	-7,7 [-90,7; 16,0]	
Мочевина (ммоль/л)	«Быстрый»	5	0,34 [-2,0; 5,49]	0,828
	«Промежуточный»	16	0,325 [-3,5; 10,2]	
	«Медленный»	30	0,315 [-4,30; 7,68]	
Гамма-глутаминтрансфераза (Ед/л)	«Быстрый»	1	188,0 [188,0; 188,0]	0,263
	«Промежуточный»	5	2,0 [-15,0; 16,0]	
	«Медленный»	7	-10,0 [-24,0; 170,0]	
Щелочная фосфатаза (Ед/л)	«Быстрый»	1	9,0 [9,00; 9,00]	0,665
	«Промежуточный»	6	-12,5 [-27,004; 41,0]	
	«Медленный»	9	-11,0 [-33,0; 72,0]	

Примечание. М — медиана; min — минимум, max — максимум (расчет на основе разницы биохимических показателей до начала лечения и через один месяц после начала терапии, что привело к появлению отрицательных величин).

Note. M—median; min—minimum, max—maximum (the calculation was made based on the differences in biochemical parameters before the start of treatment and one month after the start of treatment, which accounts for negative values).

увеличения риска развития изониазид-индуцированного поражения печени [8].

Таким образом, проведение генотипирования пациентов по полиморфизмам гена *NAT2* может быть полезным для клинического прогноза и профилактики повреждений печени, вызванных противотуберкулезной лекарственной терапией [29].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные нами результаты свидетельствуют об ассоциации «медленного» типа ацетилирования *NAT2* с риском развития НР при химиотерапии туберкулеза легких с использованием изониазида и рифампицина. Среди зарегистрированных нами НР у «быстрых» ацетиляторов чаще отмечалось снижение аппетита, однако результаты данного наблюдения требуют расширения выборки и дополнительного изучения. Для уточнения роли изучаемых полиморфных маркеров и оценки уровня экспрессии гена *NAT2* для оптимизации клинического прогноза и профилактики повреждений печени, вызванных противотуберкулезной лекарственной терапией, а также разработки соответствующих практических методических рекомендаций для врачей необходимо продолжение исследований в этом направлении.

Вклад авторов. А. А. Качанова — сбор и анализ данных литературы, анализ и интерпретация результатов работы, анализ и статистическая обработка полученных результатов, написание текста; Ю. А. Пименова — анализ и интерпретация результатов работы; Г. Н. Шуев — статистическая обработка полученных результатов, критический пересмотр содержания текста; К. А. Акмалова — проведение анализ и интерпретация результатов генотипирования; Ж. А. Созаева — проведение

генотипирования, анализ и интерпретация его результатов, критический пересмотр содержания текста; Н. М. Краснова — анкетирование, забор крови и отслеживание динамики лабораторных показателей пациентов; Е. А. Гришина — существенный вклад в дизайн работы, утверждение окончательного варианта статьи для публикации; Д. А. Сычев — разработка дизайна исследования, утверждение окончательного варианта статьи для публикации.

Authors' contributions. Anastasia A. Kachanova—collection and analysis of literature, analysis and statistical processing of the obtained results, writing of the text; Yulia A. Pimenova—analysis and interpretation of the study results; Gregory N. Shuev—statistical processing of the obtained results, revision of the paper's contents; Kristina A. Akmalova—performing the genotyping, analysis and interpretation of the genotyping results; Zhannet A. Sozaeva—performing the genotyping, analysis and interpretation of the genotyping results, revision of the paper's contents; Natalia M. Krasnova—performing the questionnaire survey, performing the blood sampling, monitoring of the laboratory blood parameters of the patients; Elena A. Grishina—a significant contribution to the study design, approval of the final version of the paper for publication; Dmitry A. Sychev—elaboration of the study design, approval of the final version of the paper for publication.

Благодарности. Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Acknowledgements. The study was performed without external funding.

Конфликт интересов. Д. А. Сычев является членом редколлегии журнала «Безопасность и риск фармакотерапии». Остальные авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest. Dmitry A. Sychev is a member of the Editorial Board of the *Safety and Risk of Pharmacotherapy*, the other authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Centers for Disease Control and Prevention. Provisional CDC guidelines for the use and safety monitoring of bedaquiline fumarate (Sirturo) for the treatment of multidrug-resistant tuberculosis. *MMWR Recomm Rep*. 2013;62(RR-09):1–12.
- Павлова МВ, Виноградова ТИ, Яблонский ПК. История открытия и результаты клинических исследований нового противотуберкулезного препарата тиоуреидоиминометилпиридиния перхлората (Перхлозон®). *Здоровье нации — новая стратегия*. 2015;(1):30–2. [Pavlova MV, Vinogradova TI, Yablonskiy PK. The history of the discovery and results of clinical studies of a new anti-tuberculosis drug thioureidoiminomethylpyridinium perchlorate (Perchlozon®). *Zdorov'e natsii — novaya strategiya = Health of the nation — a new strategy*. 2015;(1):30–2 (In Russ.)]
- Forget EJ, Menzies D. Adverse reactions to first-line antituberculosis drugs. *Expert Opin Drug Saf*. 2006;5(2):231–49. <https://doi.org/10.1517/14740338.5.2.231>
- Yadav D, Kumar R, Dixit RK, Kant S, Verma A, Srivastava K, et al. Association of *Nat2* gene polymorphism with antitubercular drug-induced hepatotoxicity in the Eastern Uttar Pradesh population. *Cureus*. 2019;11(4):e4425. <https://doi.org/10.7759/cureus.4425>
- Sabbagh A, Darlu P. SNP selection at the *NAT2* locus for an accurate prediction of the acetylation phenotype. *Genet Med*. 2006;8(2):76–85. <https://doi.org/10.1097/01.gim.0000200951.54346.d6>
- Rihs H-P, John A, Scherenberg M, Seidel A, Brüning T. Concordance between the deduced acetylation status generated by high-speed Real-time PCR based *NAT2* genotyping of seven single nucleotide polymorphisms and human *NAT2* phenotypes determined by a caffeine assay. *Clin Chim Acta*. 2007;376(1–2):240–3. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2006.08.010>
- Walker K, Ginsberg G, Hattis D, Johns DO, Guyton KZ, Sonawane B. Genetic polymorphism in N-Acetyltransferase (*NAT*): population distribution of *NAT1* and *NAT2* activity. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev*. 2009;12(5–6):440–72. <https://doi.org/10.1080/10937400903158383>
- Azuma J, Ohno M, Kubota R, Yokota S, Nagai T, Tsuyuguchi K, et al. *NAT2* genotype guided regimen reduces isoniazid-induced liver injury and early treatment failure in the 6-month four-drug standard treatment of tuberculosis: a randomized controlled trial for pharmacogenetics-based therapy. *Eur J Clin Pharmacol*. 2013;69(5):1091–101. <https://doi.org/10.1007/s00228-012-1429-9>
- Zhu R, Kiser JJ, Seifart HI, Werely CJ, Mitchell CD, D'Argenio DZ, Fletcher CV. The pharmacogenetics of *NAT2* enzyme maturation in perinatally HIV exposed infants receiving isoniazid. *J Clin Pharmacol*. 2012;52(4):511–9. <https://doi.org/10.1177/0091270011402826>
- Cho H-J, Koh W-J, Ryu Y-J, Ki C-S, Nam M-H, Kim J-W, Lee SY. Genetic polymorphisms of *NAT2* and *CYP2E1* associated with antituberculosis drug-induced hepatotoxicity in Korean patients with pulmonary tuberculosis. *Tuberculosis (Edinb)*. 2007;87(6):551–6. <https://doi.org/10.1016/j.tube.2007.05.012>

11. Matar KM, Mayet AY, Ayoola EA, Bawazir SA, Al-Faleh FZ, Al-Wazzan A. Isoniazid acetylation phenotyping in Saudi Arabs. *J Clin Pharm Ther.* 2004;29(5):443–7. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2710.2004.00588.x>
12. Bach PH, Higgins-Opitz SB, Bima B, Leary WP. Isoniazid acetylase status of Black South African tuberculosis patients. *S Afr Med J.* 1976;50(29):1132–4.
13. Eidus L, Glatthaar E, Hodgkin MM, Nel EE, Kleeberg HH. Phenotyping of South African black tuberculosis patients for inactivation of isoniazid. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol.* 1979;23(2):243–56.
14. Garte S, Gaspari L, Alexandrie AK, Ambrosone C, Autrup H, Autrup JL, et al. Metabolic gene polymorphism frequencies in control populations. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2001;10(12):1239–48.
15. Bell DA, Taylor JA, Butler MA, Stephens EA, Wiest J, Brubaker LH, et al. Genotype/phenotype discordance for human arylamine N-acetyltransferase (NAT2) reveals a new slow-acetylase allele common in African-Americans. *Carcinogenesis.* 1993;14(8):1689–92. <https://doi.org/10.1093/carcin/14.8.1689>
16. Lin HJ, Han CY, Lin BK, Hardy S. Slow acetylase mutations in the human polymorphic N-acetyltransferase gene in 786 Asians, blacks, Hispanics, and whites: application to metabolic epidemiology. *Am J Hum Genet.* 1993;52(4):827–34.
17. Millikan RC, Pittman GS, Newman B, Tse CK, Selmin O, Rockhill B, et al. Cigarette smoking, N-acetyltransferases 1 and 2, and breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1998;7(5):371–8.
18. Huang C-S, Chern H-D, Shen C-Y, Hsu S-M, Chang K-J. Association between N-acetyltransferase 2 (NAT2) genetic polymorphism and development of breast cancer in post-menopausal Chinese women in Taiwan, an area of great increase in breast cancer incidence. *Int J Cancer.* 1999;82(2):175–9. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0215\(19990719\)82:2<175::AID-IJC4>3.0.CO;2-E](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0215(19990719)82:2<175::AID-IJC4>3.0.CO;2-E)
19. Zhao B, Seow A, Lee EJD, Lee H-P. Correlation between acetylation phenotype and genotype in Chinese women. *Eur J Clin Pharmacol.* 2000;56(9–10):689–92. <https://doi.org/10.1007/s002280000203>
20. Okumura K, Kita T, Chikazawa S, Komada F, Iwakawa S, Tanigawara Y. Genotyping of N-acetylation polymorphism and correlation with procainamide metabolism. *Clin Pharmacol Ther.* 1997;61(5):509–17. [https://doi.org/10.1016/S0009-9236\(97\)90131-4](https://doi.org/10.1016/S0009-9236(97)90131-4)
21. Koizumi A, Nomiyama T, Tsukada M, Wada Y, Omae K, Tanaka S, et al. Evidence on N-acetyltransferase allele-associated metabolism of hydrazine in Japanese workers. *J Occup Environ Med.* 1998;40(3):217–22. <https://doi.org/10.1097/00043764-199803000-00003>
22. Mortensen HM, Froment A, Lema G, Bodo J-M, Ibrahim M, Nyambo TB, et al. Characterization of genetic variation and natural selection at the arylamine N-acetyltransferase genes in global human populations. *Pharmacogenomics.* 2011;12(11):1545–58. <https://doi.org/10.2217/pgs.11.88>
23. Kinzig-Schippers M, Tomalik-Scharte D, Jetter A, Scheidel B, Jakob V, Rodamer M, et al. Should we use N-acetyltransferase type 2 genotyping to personalize isoniazid doses? *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49(5):1733–8. <https://doi.org/10.1128/AAC.49.5.1733-1738.2005>
24. Preziosi P. Isoniazid: metabolic aspects and toxicological correlates. *Curr Drug Metab.* 2007;8(8):839–51. <https://doi.org/10.2174/138920007782798216>
25. Stettner M, Steinberger D, Hartmann CJ, Pabst T, Konta L, Hartung HP, Kieseier BC. Isoniazid-induced polyneuropathy in a tuberculosis patient — implication for individual risk stratification with genotyping? *Brain Behav.* 2015;5(8):e00326. <https://doi.org/10.1002/brb3.326>
26. Yang S, Hwang SJ, Park JY, Chung EK, Lee JI. Association of genetic polymorphisms of CYP2E1, NAT2, GST and SLC01B1 with the risk of anti-tuberculosis drug-induced liver injury: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open.* 2019;9(8):e027940. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2018-027940>
27. Ng C-S, Hasnat A, Al Maruf A, Ahmed MU, Pirmohamed M, Day CP, et al. N-acetyltransferase 2 (NAT2) genotype as a risk factor for development of drug-induced liver injury relating to antituberculosis drug treatment in a mixed-ethnicity patient group. *Eur J Clin Pharmacol.* 2014;70(9):1079–86. <https://doi.org/10.1007/s00228-014-1703-0>
28. Антоненко ПБ. Динамика лабораторных показателей у пациентов с туберкулезом в зависимости от генотипа NAT2. *Журнал Гродненского национального университета.* 2013;(4):61–4. [Antonenko AB. Dynamics of laboratory markers in patients with tuberculosis depending on NAT2 genotype. *Zhurnal Grodnenskogo natsional'nogo universiteta = Journal of State University of Grodno.* 2013;(4):61–4 (In Russ.)]
29. Wang P-Y, Xie S-Y, Hao Q, Zhang C, Jiang B-F. NAT2 polymorphisms and susceptibility to anti-tuberculosis drug-induced liver injury: a meta-analysis. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2012;16(5):589–95. <https://doi.org/10.5588/ijtld.11.0377>

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Качанова Анастасия Алексеевна. Anastasia A. Kachanova. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3194-4410>

Пименова Юлия Алексеевна. Yulia A. Pimenova. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9031-2272>

Шуев Григорий Николаевич. Gregory N. Shuev. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5031-0088>

Акmalова Кристина Анатольевна. Kristina A. Akmalova. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3505-8520>

Созаева Жаннет Алимовна. Zhannet A. Sozaeva. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5166-7903>

Краснова Наталья Михайловна, канд. мед. наук, доцент. Natalia M. Krasnova. Cand. Sci. (Med.), Associate Professor. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4811-7801>

Гришина Елена Анатольевна, д-р биол. наук, доцент. Elena A. Grishina, Dr. Sci. (Biol.), Associate Professor. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5621-8266>

Дмитрий Алексеевич Сычев, д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАН. Dmitry A. Sychev, Dr. Sci. (Med.), Professor, Corr. Member of the RAS. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4496-3680>

Статья поступила 27.11.2020

После доработки 25.01.2021

Принята к печати 01.03.2021

Article was received 27 November 2020

Revised 25 January 2021

Accepted for publication 1 March 2021