

ШЕЛИХОВА ЕЛЕНА ОЛЕГОВНА

**ЧАСТОТА, МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ И СТРАТИФИКАЦИЯ ФАКТОРОВ
РИСКА ЛЕКАРСТВЕННО-ИНДУЦИРОВАННЫХ ПОРАЖЕНИЙ ПЕЧЕНИ
У ПАЦИЕНТОВ С ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ ПРИ КОМОРБИДНЫХ
СОСТОЯНИЯХ**

14.01.04 – внутренние болезни

Автореферат диссертации
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Казань – 2019

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского» Медицинской академии имени С.И. Георгиевского (структурное подразделение) Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Научный руководитель:

Кляритская Ирина Львовна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой терапии, гастроэнтерологии, кардиологии и общей врачебной практики (семейной медицины) ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского» Медицинской академии имени С.И. Георгиевского (структурное подразделение).

Научный консультант:

Гришин Михаил Николаевич — доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фтизиатрии и пульмонологии ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского» Медицинской академии имени С.И. Георгиевского (структурное подразделение).

Официальные оппоненты:

Барановский Андрей Юрьевич — доктор медицинских наук, профессор, главный гастроэнтеролог Северо-Западного Федерального округа России, руководитель центра гастроэнтерологии и гепатологии Санкт-Петербургского государственного университета, председатель общества гастроэнтерологов, гепатологов и диетологов Санкт-Петербурга.

Буеверов Алексей Олегович — доктор медицинских наук, профессор кафедры медико-социальной экспертизы, неотложной и поликлинической терапии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова».

Ведущая организация:

«3-й Центральный военно-клинический госпиталь имени А.А. Вишневского» Министерства обороны Российской Федерации.

Защита диссертации состоится «_____» _____ 2019 г. _____ часов на заседании объединенного диссертационного совета Д 999.190.02 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации и федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России по адресу: 420012, г. Казань, ул. Бутлерова, д. 49 и на сайте организации <http://www.kazangmu.ru>.

Автореферат разослан «_____» _____ 2019 г.

**Ученый секретарь
диссертационного совета**

С.А. Лапшина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

Туберкулез остается основной инфекционной причиной смерти в мире и одной из основных причин смерти пациентов, инфицированных вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ). Благодаря мерам по профилактике и лечению туберкулеза, в Российской Федерации, как и во всем мире, отмечается снижение заболеваемости и смертности от туберкулеза. Только за 2017 г. снижение заболеваемости составило 9,4% и достигло 48,3 на 100 тысяч населения, а снижение смертности по сравнению с аналогичным периодом 2016 г. составило 17,3% и достигло 6,2 на 100 тысяч населения (Яковлева Т.В, 2018 г.). В Республике Крым также наблюдается тенденция к снижению заболеваемости туберкулезом, за четыре года смертность от туберкулеза в Крыму снизилась на 31% (Мамотенко Л.Д., 2018 г.). Дальнейшему снижению заболеваемости и смертности от туберкулеза препятствует рост резистентности микобактерии туберкулеза, а также рост числа ко-инфекции ВИЧ - туберкулез.

Особую роль в формировании устойчивости микобактерий играет лекарственное поражение печени (ЛПП), так как оно наиболее часто осложняет проведение противотуберкулезной терапии. Частота ЛПП при проведении противотуберкулезной терапии составляет 60% при использовании препаратов первого ряда и 42% – при использовании препаратов второго ряда (Иванова Д.И., 2018 г). Изониазид входит в I, IIa, IIb и III стандартные режимы химиотерапии. Примерно у 20% пациентов, получающих изониазид, отмечалось умеренное увеличение уровней сывороточных трансаминаз до 100 Е/л (Larson A., 2016). К предикторам изониазид-индуцированной гепатотоксичности относят возраст до 20 и старше 50 лет, женский пол, полиморфизм фермента N-ацетилтрансферазы 2 (NAT2), ферментов цитохрома P450 2E1, глутатион S-трансферазы, сопутствующие хронические заболевания печени, дефицит массы тела (Tien. En Chang, et al., 2018).

Степень разработанности проблемы

В биотрансформации изониазида участвует фермент NAT2, отвечающий за ацетилирование изониазида, и цитохром P450 2E1, окисляющий изониазид. Оба фермента обладают генетическим полиморфизмом, обуславливающим их фенотипические особенности. Взаимосвязь генетического полиморфизма, определяющего медленный тип ацетилирования, с риском возникновения ЛПП при проведении специфической противотуберкулезной терапии была исследована в метаанализе Supharat Suvichapanich et al. в 2018 году. Выявлена сильная взаимосвязь медленного и ультрамедленного типа ацетилирования с риском возникновения ЛПП (ОШ: 3.60; 95% ДИ: 2.30 – 5.63) (Suzanna Huppelschoten and Bob van de Water, 2016). Поводом для этого метаанализа послужили более ранние противоречивые данные о влиянии генетического полиморфизма NAT2 на риск возникновения ЛПП при проведении противотуберкулезной терапии, а именно исследования Shimizu Y. в 2006 г.; Higuchi N., et al. в 2007 г.; Possuelo L. G., et al. в 2008 г.; Sotsuka T., et al. в 2011г.

Цель научной работы: определение частоты, факторов риска лекарственного поражения печени у пациентов с впервые диагностированным туберкулезом легких, а также у пациентов с сочетанной инфекцией ВИЧ/впервые диагностированный туберкулез легких для выявления групп риска развития лекарственного поражения печени и определения лечебной стратегии.

Задачи исследования

1. Выявить частоту развития лекарственного поражения печени при проведении специфической противотуберкулезной терапии согласно I, III режимам химиотерапии при впервые диагностированном туберкулезе легких, а также частоту коморбидности туберкулез/ВИЧ - инфекция.
2. Определить полиморфизм генов NAT2 и P450 2E1 у больных с впервые диагностированным туберкулезом легких (ВДТБ) его влияние на развитие ЛПП при проведении специфической противотуберкулезной терапии согласно I, III режимам химиотерапии.

3. Определить возможность использования сывороточной концентрации фактора некроза опухоли – альфа (ФНО- α) в роли предиктора развития ЛПП при проведении противотуберкулезной терапии.

4. Выявить взаимосвязь между степенью гепатотоксичности и показателями ^{13}C - метацетинового теста, уровнем ФНО - α в сыворотке крови, типом ацетилирования и генотипом цитохрома P 450 2E1.

5. Определить лечебную стратегию для пациентов с впервые диагностированным туберкулезом легких и ко-инфекцией туберкулез/ВИЧ с целью персонифицированного подхода к профилактике и дифференцированной терапии ЛПП.

Научная новизна исследования.

Впервые стратифицированы такие генетические факторы риска ЛПП, как полиморфизм гена NAT2 и ферментов цитохрома P450 2E1 у больных впервые диагностированным туберкулезом легких в Крымской популяции. Определена сывороточная концентрация ФНО- α у больных с ЛПП при проведении специфической противотуберкулезной терапии. Также оценена детоксикационная функция печени при ЛПП с помощью ^{13}C - метацетинового дыхательного теста.

На основе полученных данных обоснован и разработан алгоритм мониторингирования и уточнены протоколы лечения лекарственного поражения печени ЛПП у больных с моно и ко-инфекцией ВИЧ/впервые диагностированный туберкулез легких.

Теоретическая и практическая значимость

В ходе исследования выявлена значимая взаимосвязь между полиморфизмом гена NAT2 и фермента цитохрома P 450 2E1, сывороточной концентрацией ФНО- α , наличием ко-инфекции с ВИЧ и риском возникновения ЛПП при проведении специфического противотуберкулезной терапии. Полученные нами результаты исследования позволили выделить пациентов с высоким риском развития лекарственного поражения печени для возможной превенции ЛПП. В исследовании

была оценена эффективность терапии ЛПП препаратами адеметионина и урсодезоксихолевой кислоты в зависимости от типа ЛПП.

Результаты исследования будут использованы в практическом здравоохранении гастроэнтерологами и фтизиатрами с целью превенции и снижения частоты ЛПП при проведении специфической противотуберкулезной терапии, а также с целью эффективной терапии ЛПП и уменьшения случаев отмены специфической противотуберкулезной терапии вследствие тяжелого ЛПП.

Методология и методы исследования.

Использовались материалы обследования и лечения 105 пациентов с впервые диагностированным туберкулезом легких, из которых у 54 была впервые диагностирована ВИЧ-инфекция. Использовались клинические и биохимические исследования крови, ультразвуковое исследование органов брюшной полости, маркеры вирусных гепатитов В и С, аутоиммунного гепатита, опросник AUDIT-C, ^{13}C -метацетиновый дыхательный тест, неинвазивный метод оценки стадии фиброза и активности некрвоспалительного процесса в печени — «ФиброТест». Генетический полиморфизм гена NAT2 и P450 2E1 определялся при помощи полимеразной цепной реакции, сывороточная концентрация ФНО- α определялась иммуноферментным методом.

Полученные результаты были обработаны статистическими методами.

Положения, выносимые на защиту.

1. У пациентов с лекарственным поражением печени при проведении специфической противотуберкулезной терапией согласно I и III режимам химиотерапии достоверно чаще встречается медленный тип ацетилирования в ($p=0,00001$) и мутации в локусе C282T, rs1041983, T341C, rs1801280, C481T, rs1799929, G590A, rs1799930 ($p < 0,01$) NAT2, что говорит о высоком риске развития лекарственного поражения печени.

2. Выявлена тесная связь генотипа цитохрома P 450 2E1 RsaI/PstI c1/c1 с развитием лекарственного поражения печени (OR — 14,57, 95 % CI 1,9 - 638, $p=$

0,004). Наиболее частым (82,85 % случаев) является RsaI/PstI c1/c1 полиморфизм цитохрома P 450 2E1.

3. При проведении противотуберкулезной терапии сывороточный уровень ФНО- α может быть использован в роли предиктора развития лекарственного поражения печени - коэффициент детерминации составил 0,66 ($\beta=0,49$; $p=0,0002$) у исследуемых больных и 0,77 ($\beta=0,75$, $p=0,0001$) у больных, ко-инфицированных ВДТБ/ВИЧ.

4. Назначение дифференцированной терапии в зависимости от типа лекарственного поражения печени позволяет в большем проценте случаев (86%, 88% и 90%) избежать отмены противотуберкулезной терапии и способствует разрешению лекарственного поражения печени у всех пациентов. При наличии ко-инфекции ВИЧ/впервые диагностированный туберкулез легких необходимо назначение более длительной, 4-х месячной терапии по сравнению с моноинфицированными пациентами.

Степень достоверности и апробация результатов

Все методы обследования, использованные в настоящем исследовании, были проведены на специальном сертифицированном оборудовании. При планировании исследования были сформулированы критерии включения/исключения, на основании которых был построен дизайн, основанный на принципах доказательной медицины: рандомизация пациентов, соответствие методов статистической обработки поставленным задачам.

Основные результаты исследования внедрены в практическую работу ГБУЗ РК «Крымский республиканский клинический центр фтизиатрии и пульмонологии», гастроэнтерологического отделения ГБУЗ РК «РКБ им. Н.А. Семашко», терапевтического отделения СП «Диагностический центр» ГБУЗ РК «РКБ им. Н.А. Семашко», терапевтическое и инфекционное отделение №2 со специализированной службой для больных ВИЧ (СПИД)ом ГБУЗ РК "Симферопольская ГКБ №7".

Основные положения были изложены на XVII Международном конгрессе “Health & education millennium” (г. Москва, Российская Федерация, 17-19 декабря

2015 г.) и 2nd Word Conference on Big Data (WC - BIGDATA 2016, Ephesus, Turkey). По материалам диссертации было опубликовано 9 научных работ в изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

Личный вклад автора

Автором проанализирована доказательная научная база, представленная в источниках литературы, проведен патентно-информационный поиск для определения степени разработанности проблемы, на основании которых были сформулированы цели и задачи данного исследования, определение методов клинико-инструментальных обследований. На основании поставленных цели и задач автором работы самостоятельно проводился набор пациентов, с последующим проведением инструментальных методов обследования и статистической обработкой полученных данных. В ходе работы были сформулированы основные положения работы, выводы, рекомендации и подготовлен материал для публикации.

Объем и структура диссертации

Текст диссертации изложен на 143 страницах компьютерного набора и состоит из введения, 8 разделов, из которых 5 посвящены собственным данным, заключения, выводов, рекомендаций, списка литературы, перспектив дальнейшей разработки темы и списка иллюстративного материала. Работа иллюстрирована 32 таблицами и 29 рисунками. В библиографический список вошло 150 источников, из них 43 отечественных и 107 зарубежных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

Были проанализированы результаты обследования и лечения 105 пациентов, соответствующих критериям включения/исключения, проходившим стационарное противотуберкулезное лечение согласно I или III режимам химиотерапии по поводу ВДТБ в ГБУЗ РК «Крымский республиканский клинический центр фтизиатрии и пульмонологии» за период с 2015 по 2017 гг.

Критерии включения: возраст от 18 до 60 лет; подписание информированного согласия пациента на обработку персональных данных и добровольного согласия

пациента на участие в исследовании; диагностированный врачом - фтизиатром, впервые диагностированный туберкулез легких (ВДТБ) с/без впервые диагностированной ВИЧ-инфекцией без приема высокоактивной антиретровирусной терапии (ВААРТ).

Критерии исключения: пациенты, получающие ВААРТ - терапию; туберкулезный процесс внелегочной локализации; наличие заболевания печени другой этиологии; пациенты не подписавшие добровольное согласие и согласие на обработку персональных данных.

У 54 пациентов из 105 была впервые верифицирована ВИЧ - инфекция, однако, в силу ряда причин, они не получали высокоактивную антиретровирусную терапию (ВААРТ) в течение первых 2 месяцев приема противотуберкулезной терапии (пациенты с количеством $CD4^+$ лимфоцитов более 500 клеток/мкл или пациенты с низкой социальной активностью). В группах пациентов с ВДТБ и ко-инфекцией ВДТБ/ВИЧ выявили тех, у которых на фоне противотуберкулезной терапии в течение первых 2 месяцев развилось лекарственное поражение печени (ЛПП). В результате в двух больших группах больных с ВДТБ и ко-инфекцией ВДТБ /ВИЧ были выделены по две подгруппы пациентов с ЛПП и без ЛПП: в 1-ю группу вошли пациенты с ВДТБ (n=29), во 2-ю группу — пациенты с ВДТБ и ЛПП (n=22), в 3-ю группу — пациенты с ко-инфекцией ВДТБ/ВИЧ (n=28), в 4-ю группу — пациенты с ко-инфекцией ВДТБ/ВИЧ и ЛПП (n=26).

Для определения ЛПП исключалась другая этиология поражения печени, а также проводилась оценка причинно-следственной связи между противотуберкулезной терапией и поражением печени при помощи шкала RUCAM (Roussel Uclaf Causality Assessment Method). Степень гепатотоксичности определялась согласно Федеральным клиническим рекомендациям по профилактике, диагностике и лечению туберкулёза у больных ВИЧ-инфекцией 2016 года согласно значениям АЛТ, АСТ, ЩФ и общего билирубина и включала в себя 5 степеней — 0, 1, 2, 3 и 4 степень. Для определения шести мутаций NAT2: C590A, T341C, C282T, G857A, C481T, A803G и цитохрома P450 2E1 использовалась полимеразная цепная реакция в формате RealTime с использованием

детектирующих амплификаторов Rotor - GeneQ (QIAGEN) и ДТпрайм («ДНК-технология») и наборов реагентов для определения полиморфизмов генов NAT2 производства «Синтол», тип ацетилирования определялся с помощью веб - ресурса NAT2PRED.

Для определения концентрации ФНО- α в сыворотке крови иммуноферментным методом использовался набор реагентов фирмы «Вектор-Бест». Метод определения основан на «сэндвич» варианте твердофазного иммуноферментного анализа. Оценка детоксикационной функции печени проводилась ^{13}C - метацетиновым дыхательным тестом (^{13}C -МДТ). Учитывались значения дозы/час на 20 минуте исследования и кумулятивной дозы на 120 минуте. Для оценки стадии фиброза печени проводился патентованный, неинвазивный тест «ФиброТест» в лаборатории «Синево» (г. Симферополь).

Второй частью исследования являлось персонафицированное лечение ЛПП в зависимости от типа лекарственного поражения печени препаратами адеметионина («Гептрал») или урсодезоксихолевой кислоты («Урсосан»).

Статистическую обработку результатов исследования осуществлялась с помощью приложения Excel 7.0, пакет «Анализ данных», а также программы «Statistica 6». Качественные признаки описывались с помощью абсолютных и относительных (%) показателей. Количественные признаки при распределении отличном от нормального – с помощью медианы (Me) и 25–75 % квартилей (Me (25; 75% квартиль)), при нормальном распределении указывалось среднее арифметическое $\pm$ среднее квадратическое отклонение. Определение нормальности распределения больных в группах по величинам показателей проводилось с помощью критерия Шапиро-Уилка (W), при $p < 0,05$ нулевая гипотеза о нормальности распределения отклонялась. Для оценки статистической достоверности различий по количественным показателям при нормальном характере распределения применяли t-критерий Стьюдента и критерий Манна-Уитни при распределении отличном от нормального. Для расчета различий в группах сравнения по качественным параметрам использовался расчет критерия Хи-квадрат и расчет

отношения шансов (OR). Для оценки корреляционных взаимосвязей между рядами клинических величин был использован коэффициент корреляции Спирмана.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

Средний возраст всех больных составил $45,34 \pm 9,63$ года. Статистических различий между пациентами исследуемых групп по возрастным показателям и по гендерному признаку не наблюдалось ($p > 0,05$), при сравнении индекса массы тела (ИМТ) пациентов исследуемых групп достоверных различий также не было выявлено ($p > 0,05$), что позволило нам сравнивать эти группы пациентов.

Пациенты с лекарственно - индуцированным поражением печени (2 и 4 группы) достоверно отличались по уровню АЛТ, АСТ, ЩФ и общего билирубина от пациентов групп контроля (1 и 3 группы) ($p < 0,05$). У пациентов 2 группы ($n=22$) 2 степень ЛПП была зафиксирована у 90 % пациентов ($n=20$), 3 степень наблюдалась у 2 пациентов. У пациентов 4 группы ($n=26$), гепатотоксическая реакция 2 степени наблюдалась у 22 пациентов (85 %), у 4 пациентов наблюдалась 3 степень гепатотоксичности (15 %). Достоверно чаще в группе пациентов с ко-инфекцией ВИЧ/ВДТБ встречалась 4 степень гепатотоксичности ($p < 0,05$). Во второй группе распределение типов ЛПП было следующим: гепатоцеллюлярный ($n=7$), холестатический ($n=3$) и смешанный ($n=13$) тип ЛПП. В четвертой группе при распределении типов ЛПП: гепатоцеллюлярный встречался у 4 пациентов ($n=4$), холестатический у 6 ($n=6$) и смешанный у 16 ($n=16$). Статистически достоверных различий при сравнении R - значения во второй и четвертой группах не выявлено ($p=0,18$).

Был проведен анализ прогностических факторов, влияющих на развитие лекарственного поражения печени. По результатам ФиброТеста у больных отсутствовал выраженный фиброз печени, говорящий о наличии хронического заболевания печени ($> F2$). Среднее значение F в 1, 2, 3, 4 группах составило 0,21; 0,25; 0,16; 0,26, соответственно. Достоверных различий между группами выявлено не было. Средние значения АктиТеста составили $0,84 \pm 0,37$; $2,08 \pm 0,9$; $1,22 \pm 0,64$ и $1,94 \pm 0,85$, соответственно. Достоверно отличались между собой группы контроля и

группы с ЛПП, достоверность различий между первой и второй группой составила $p=0,0005$, а между третьей и четвертой $p=0,01$.

Оценка детоксикационной функции печени с использованием ^{13}C -МДТ у пациентов с ВДТБ при проведении специфической терапии согласно I, III режимам химиотерапии показала значительное снижение детоксикационной функции печени в группах с лекарственным поражением печени по сравнению с группами контроля (1 и 3 группа), в которых отмечалась незначительное снижение детоксикационной функции, что, по всей вероятности, объясняется проведением противотуберкулезной терапии. При сравнении групп контроля и групп с ЛПП достоверные различия определялись по значению кумулятивной дозы ($p=0,009$; $0,02$; $0,0014$; $0,002$). При сравнении значений дозы/час различия определялись только между третьей и четвертой группами ($p=0,04$).

Среднее значение ФНО- α у пациентов 1, 2, 3 и 4 групп составило, соответственно, $8,62 \pm 0,5$; $13,76 \pm 5,77$; $23,93 \pm 1,86$ и $27,37 \pm 3,55$ пг/мл. При сравнении сывороточной концентрации ФНО- α статистические различия найдены между группами контроля ($p=0,38$ и $0,28$) и группами с ЛПП ($p=0,01$; $0,04$) (рисунок 1).

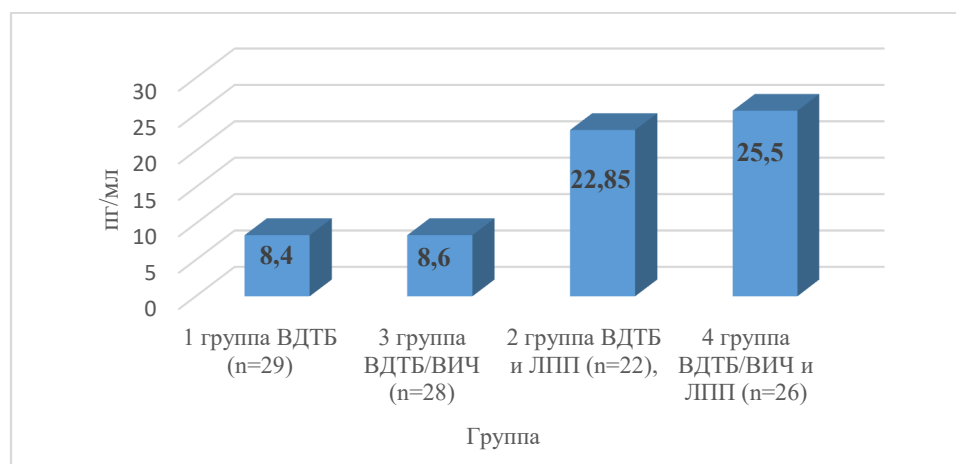


Рисунок 1 – Графическое представление уровня ФНО- α пациентов с впервые диагностированным туберкулезом легких при проведении специфической терапии согласно I, III режимам химиотерапии.

При определении предикторной роли ФНО- α в возникновении ЛПП у всех исследуемых больных коэффициент детерминации составил $0,54$ ($\beta=0,32$; $p=0,008$)

до назначения противотуберкулезной терапии (ППТ). После 2 недель ППТ составил 0,66 ($\beta=0,49$; $p=0,0002$) (рисунок 2), что позволяет говорить о существенной предикторной роли данного фактора на риск ЛПП.

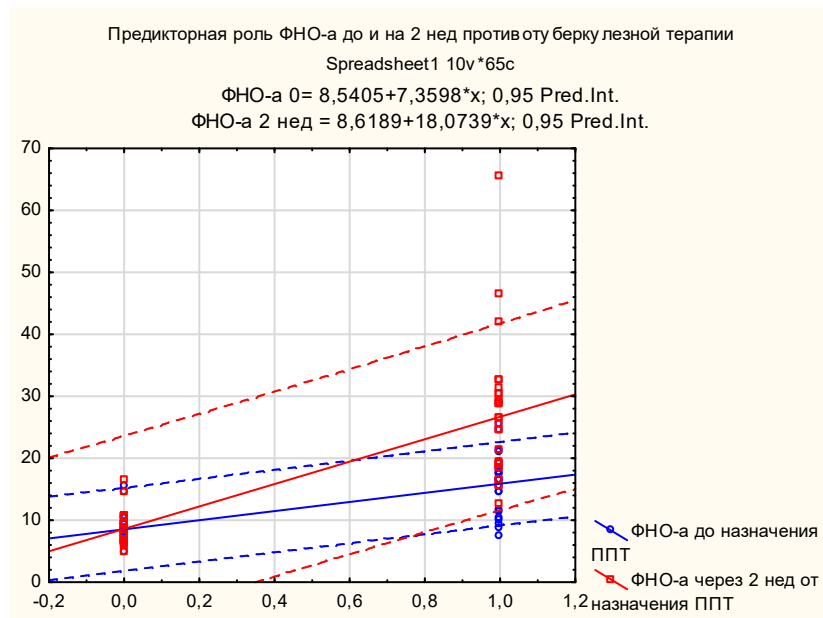


Рисунок 2 — Предикторная роль ФНО — α до и на 2 неделе противотуберкулезной терапии

Наиболее часто встречалась мутация в локусе гена A803G, rs1208, частота G аллеля составила 0,4. Реже всего мутации были зафиксированы в локусе гена G857A rs1799931, частота A аллеля составила 0,02.

У пациентов с ЛПП достоверно чаще встречались мутации в локусе C282T, rs1041983, T341C, rs1801280, C481T, rs1799929, G590A, rs1799930 ($p<0,01$). Выявлены протективные свойства «дикого» C аллеля а C282T rs1041983 (OR-0,14; 95% CI 0,05 - 0,37; $p=0,01$) и C481T, rs1799929G (OR-0,05; 95% CI 0,02 - 0,15; $p=0,01$) в отношении развития ЛПП.

Была выявлена ассоциация мутации полиморфизмов T341C, rs1801280 и G590A, rs1799930 с ЛПП (OR - 2,9 и 2,79; 95 % CI 1,22-6,96 и 1,18 - 6,71, соответственно, при $p<0,01$) (таблица 1). Отмечено преобладание быстрого и промежуточного типа ацетилирования у пациентов группы контроля и достоверно более частый медленный тип ацетилирования в группе ЛПП ($p=0,01$).

Таблица 1 - Ассоциация аллелей исследуемых полиморфизмов с лекарственным поражением печени у пациентов с впервые диагностированным туберкулезом легких при проведении специфической терапии согласно I, III режимам химиотерапии

Генотип	Группы контроля (n=57) n(%)	Группы с лекарственным поражением печени (n=48) n(%)	OR (95%CI)	χ^2	P
C282T, rs1041983					
CC	40 (70,17)	12 (25)	7,15 (2,75 - 18,47)	19,5	0,01
CT+TT	17 (29,83)	36 (75)			
T341C, rs1801280					
TT	35 (61,4)	17 (35,42)	2,9 (1,22 - 6,96)	6,04	0,01
TC+TT	22 (38,6)	31 (64,58)			
C481T, rs1799929					
CC	48 (84,21)	10 (20,83)	20,27 (6,87 - 62,28)	39,8	0,01
CT+TT	9 (15,79)	38 (79,17)			
G590A, rs1799930					
GG	37 (64,91)	19 (39,58)	2,79 (1,18 - 9,71)	5,7	0,008
GA+AA	20 (35,09)	29 (60,42)			
A803G, rs1208					
AA	27 (47,37)	14 (29,17)	0,46 (0,19 - 1,1)	2,9	0,04
AG+GG	30 (52,63)	34 (70,83)			
G857A, rs1799931					
GG	55 (96,49)	45 (93,75)	1,83 (0,1 - 22,7)	0,04	0,4
GA+AA	2 (3,51)	3 (6,25)			

По результатам исследования наиболее частым генотипом цитохрома P450 2E1 RsaI/PstI (1053C> T (rs2031920) и 1293G> C (rs3813867)) в группе контроля является c1/c1(n=40), частота данного генотипа составила 78,43 %. Вторым по распространённости генотипом являлся генотип c2/c2 с частотой 15,67 % при n=8. Наименее распространенным являлся генотип c1/c2 с частотой 5,9 % (n=3). В группе ЛПП генотип c1/c1 встречался более часто по сравнению с группой контроля, его частота составила 98,15% (n=53). Отклонение наблюдаемого распределения генотипов цитохрома P 450 2E1 RsaI/PstI от популяционного равновесия Харди-

Вайнберга не наблюдалось. При изучении ассоциации генотипа цитохрома P 450 2E1 RsaI/PstI выявлено, что генотип c1/c1 изучаемого цитохрома тесно связан с развитием ЛПП (OR - 14,57, 95 % CI 1,9 - 638, $p=0,004$).

При оценке корреляции показателей ^{13}C - МДТ, АЛТ, АСТ, ЩФ, общего билирубина, ФНО- α и типа ацетилирования выявлена тесная взаимосвязь между уровнями АЛТ, ЩФ и ФНО - α , коэффициент корреляции составил $r=0,76$ и $0,34$, соответственно, (рисунок 3).

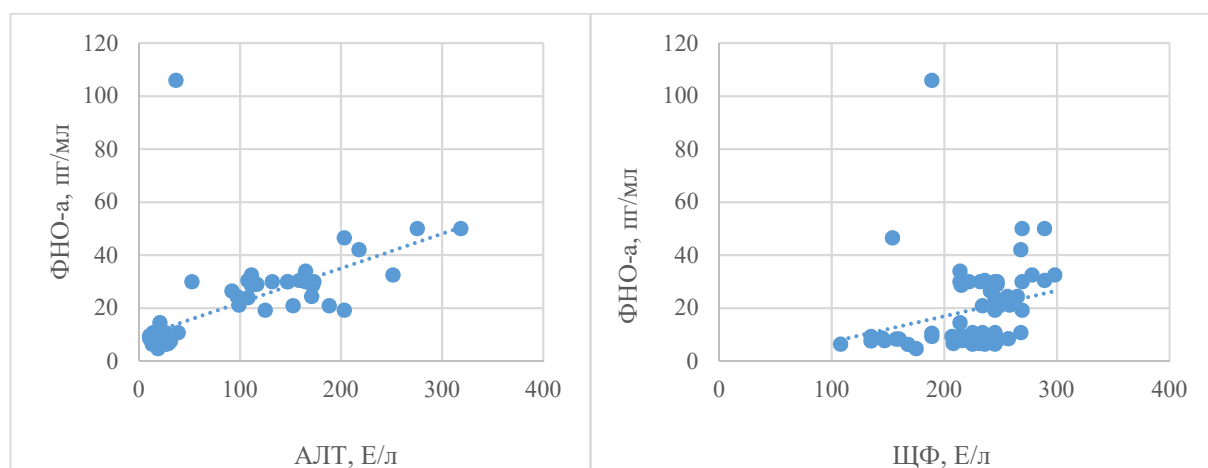


Рисунок 3 - Взаимосвязь уровня аланинаминотрансферазы и ФНО-альфа

Слабая отрицательная корреляция ($r=-0,32$ и $0,02$) определялась между уровнем АЛТ и ЩФ и значением дозы/час на 20 минуте при проведении ^{13}C - метацетинового теста, более сильная отрицательная корреляция определялась между значением кумулятивной дозы на 120 минуте и уровнем АЛТ ($r=-0,64$) и ЩФ ($r=-0,41$) (рисунок 4).

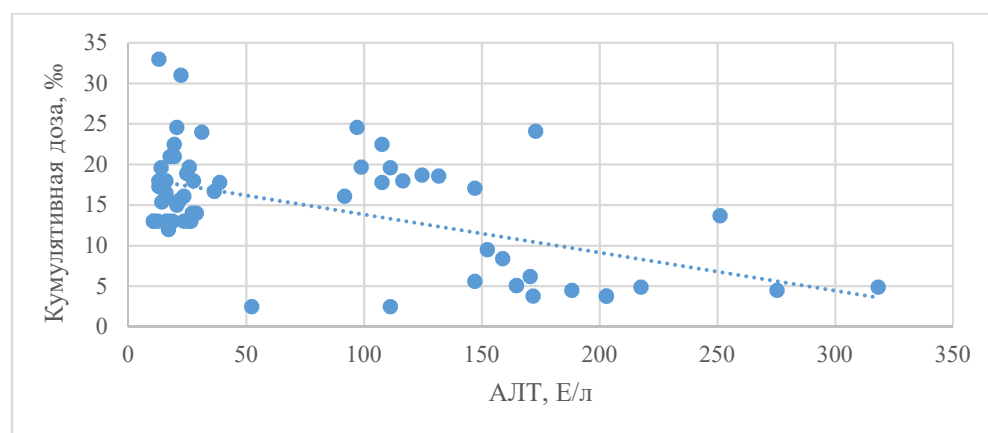


Рисунок 4 – Взаимосвязь кумулятивной дозы ^{13}C -метацетинового дыхательного теста и уровня аланинаминотрансферазы

При оценке взаимосвязи полиморфизма NAT2 и цитохрома P 450 2E1 с уровнями АЛТ и ЩФ отмечена более сильная корреляция между медленным типом ацетилирования и полиморфизмом цитохрома P 450 2E1 c1/c1 и уровнем АЛТ, коэффициенты корреляции составили $r=0,61$ и $r=-0,54$, по сравнению с уровнем ЩФ. Коэффициент корреляции ЩФ и типом ацетилирования составил $r=0,32$, а между ЩФ и полиморфизмом цитохрома P 450 2E1 c1/c1 $r=0,31$.

Вторая часть исследования была посвящена лечению пациентов 2 и 4 групп согласно типу ЛПП препаратами адеметионина («Гептрал») или УДХК («Урсосан»). Пациентам, отнесенным к группе с гепатоцеллюлярным типом ЛПП согласно значению $R \geq 5$ ($n=11$), была назначена терапия адеметионином – «Гептралом» 800 мг/сутки в два приема, средние значения АЛТ в этой группе до лечения составило $130 \pm 10,62$ Е/л. Пациентам с холестатическим ЛПП ($n=9$) была назначена терапия урсодезоксихолевой кислотой – «Урсосаном» из расчета 15 мг/ кг в 3 приема, среднее значение ЩФ в этой группе до лечения составило $316 \pm 5,56$ Е/л. Группа пациентов со смешанным типом ЛПП ($n=28$) была рандомизирована на группу пациентов, получавших терапию адеметионином – «Гептралом» 800 мг/сутки в два приема ($n=14$), и терапию урсодезоксихолевой кислотой – «Урсосаном» из расчета 15 мг/ кг в 3 приема ($n=14$). Среднее значение АЛТ и ЩФ в группе, получавшей терапию препаратом «Гептрал», составило $134 \pm 7,91$ и $267 \pm 15,81$ Е/д, соответственно. Среднее значение АЛТ и ЩФ в группе, получавшей УДХК, составило $136 \pm 17,34$ и $287 \pm 24,32$ Е/л, соответственно. Общая продолжительность терапии составила 4 месяца. При оценке динамики снижения показателей цитолитического и холестатического синдромов у пациентов с ЛПП при моно- и ко-инфекции ВИЧ/ВДТБ отмечено более высокие показатели уровня АЛТ и ЩФ и более медленное их снижение у ко-инфицированных больных (рисунок 5).

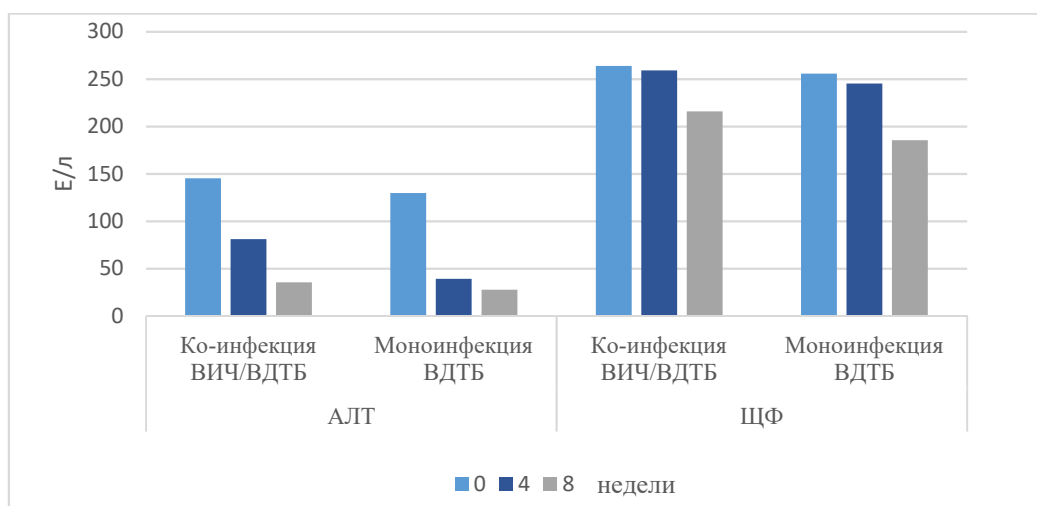


Рисунок 5 - Уровни аланинаминотрансферазы и щелочной фосфатазы в группе моно- и ко-инфицированных пациентов до лечения и на 4-ой и 8-ой неделях терапии

Нормализация уровня АЛТ и ЩФ у больных ко-инфекцией ВИЧ/ВДТБ при лечении адеметионином или УДХК в зависимости от типа ЛПП была отмечена между 4-ой и 8-ой неделями терапии и в среднем составила $6 \pm 1,92$ недели. При наличии ко-инфекции ВИЧ/ВДТБ период нормализации биохимических показателей (АЛТ, ЩФ) достоверно более длительный по сравнению с моноинфицированными ВДТБ пациентами ($6 \pm 1,92$ недели против $4 \pm 1,21$ недели) ($p=0,041$). В результате назначенной гепатопротекторной терапии в зависимости от типа ЛПП 88% ($n=8$) пациентов с холестатическим ЛПП, 90% ($n=10$) с гепатоцеллюлярным и 86% ($n=24$) со смешанным ЛПП успешно завершили курс противотуберкулезной терапии без приостановки режима химиотерапии. Что может быть расценено как успешно проведенная терапия ЛПП.

ВЫВОДЫ

1. Частота развития лекарственного поражения печени за 2015 - 2017 гг. при проведении специфической противотуберкулезной терапии согласно I и III режимам химиотерапии для лечения впервые диагностированного туберкулеза легких составила 13 %. Частота коморбидности впервые диагностированного туберкулеза легких и ВИЧ- инфекции составила 34 %.

2. У пациентов с лекарственным поражением печени достоверно чаще встречались мутации в локусе C282T, rs1041983, T341C, rs1801280, C481T, rs1799929, G590A, rs1799930 ($p < 0,01$). Была выявлена ассоциация мутации полиморфизмов T341C, rs1801280 и G590A, rs1799930 с лекарственным поражением печени (OR - 2,9 и 2,79; 95 % CI 1,22 - 6,96 и 1,18 - 6,71, соответственно, при $p < 0,01$). Протективным свойствами в отношении развития лекарственного поражения печени обладал C аллель C282T rs1041983 (OR - 0,14; 95%CI 0,05 - 0,37; $p = 0,01$) и C481T, rs1799929G (OR - 0,05; 95% CI 0,02 - 0,15; $p = 0,01$) полиморфизма. Достоверно более часто в группе ЛПП встречался медленный тип ацетилирования в ($p = 0,00001$).

3. Генотип цитохрома P 450 2E1 RsaI/PstI c1/c1 тесно связан с развитием лекарственного поражения печени. У пациентов, обладающих быстрым типом метаболизма цитохрома P 450 2E1, связанного с генотипом c1/c1, выше риск возникновения лекарственного поражения печени при проведении противотуберкулезной терапии (OR - 14,57, 95 % CI 1,9 - 638, $p = 0,004$).

4. При проведении противотуберкулезной терапии сывороточный уровень ФНО- α может быть использован в роли предиктора развития лекарственного поражения печени - коэффициент детерминации составил 0,66 ($\beta = 0,49$; $p = 0,0002$) у исследуемых больных и 0,77 ($\beta = 0,75$, $p = 0,0001$) у больных, ко-инфицированных ВДТБ/ВИЧ.

5. Дифференцированная терапия, в зависимости от типа лекарственного поражения печени, позволяет в большем проценте случаев (86 %, 88 % и 90 %) избежать отмены противотуберкулезной терапии и способствует разрешению

лекарственного поражения печени у всех пациентов. При наличии ко-инфекции ВИЧ/ВДТБ период нормализации биохимических показателей (АЛТ, ЩФ) достоверно более длительный по сравнению с моно-инфицированными ВДТБ ($6 \pm 1,92$ недели против $4 \pm 1,21$ недели) ($p=0,041$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для персонализированного подхода к проведению противотуберкулезной терапии при выявлении доказанных факторов риска лекарственного поражения печени (ко-инфекция с вирусом гепатита С, В и ВИЧ, употребление алкоголя, дефицит массы тела) рекомендуется определить тип ацетилирования и генотип цитохрома Р 450 2Е1.

2. При проведении противотуберкулезной терапии сывороточный уровень ФНО-α может быть использован в роли предиктора развития лекарственного поражения печени.

3. При развитии лекарственного поражения печени рекомендуется терапия адеметионином 800 мг/сут или препаратами урсодезоксихолевой кислоты 15 мг/кг/сутки в зависимости от развивающегося цитолитического или холестатического синдрома в течение 3 месяцев при наличии моно-инфекции впервые диагностированный туберкулез легких, при наличии ко-инфекции ВИЧ/ впервые диагностированного туберкулеза легких — не менее 4-х месяцев.

4. При выявлении медленного типа ацетилирования и c1/c1 генотипа цитохрома Р 450 2Е1 рекомендуется онлайн превенция лекарственного поражения печени.

Перспективы дальнейшей разработки темы.

Персонифицированный подход в оценке и стратификации факторов риска развития лекарственно - индуцированного поражения печени при проведении противотуберкулезной терапии у больных туберкулезом легких остается актуальной темой дальнейших исследований в связи с высоким гепатотоксическим потенциалом существующих противотуберкулезных препаратов и необходимостью прогнозирования развития и исходов ЛПП.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРАТАЦИИ:

1. Повреждение печени при сочетании инфекций - вируса иммунодефицита человека и туберкулеза/ И.Л. Кляритская, Е.О. Шелихова, Е.В. Максимова, Е.И. Стилиди // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. - 2017. - № 8 (144). - С. 17-22.
2. Эффективность дифференцированного подхода в терапии лекарственного поражения печени/ И.Л. Кляритская, Е.О. Шелихова, Е.В. Максимова, Ю.А. Мошко // Крымский терапевтический журнал. - 2018. - №4. - С. 38-45.
3. Современные методы диагностики фиброза и цирроза печени/ И.Л. Кляритская, Е.О. Шелихова, В.В. Кривой, Е.В. Максимова //Крымский терапевтический журнал. - 2017. - № 1 (32). - С. 33-36.
4. Кляритская И.Л. Роль генетической предрасположенности в развитии заболеваний печени/ И.Л. Кляритская, Е.О. Шелихова, Е.В. Максимова //Научный руководитель. - 2017. - № 1 (19). - С. 73-82.
5. Применение дыхательных тестов при гастроэнтерологических заболеваниях и коморбидной патологии у пожилых / И.Л. Кляритская, Е.О. Шелихова, Е.В. Семенихина и др. // Сборник материалов VII межрегиональной научно-практической гериатрической конференции врачей первого звена Северо-Кавказского федерального округа «Актуальные вопросы современной медицины и гериатрии». – Симферополь, 2016. - С. 140-144.

6. Лекарственные поражения печени у пожилых/ И.Л. Кляритская, Е.О. Шелихова, Е.В. Максимова // Сборник материалов VII межрегиональной научно-практической гериатрической конференции врачей первого звена Северо-Кавказского федерального округа «Актуальные вопросы современной медицины и гериатрии». – Симферополь, 2016. - С. 144-148.

7. ^{13}C -метацетиновый дыхательный тест в гастроэнтерологической практике/ И.Л. Кляритская, Е.О. Шелихова, Е.В. Максимова, Е.И. Стилиди // Врач. - 2016. - № 7. - С. 77-78.

8. Кляритская И.Л. Диагностика и тактика ведения пациентов с лекарственными поражениями печени: клинические рекомендации американского колледжа гастроэнтерологов/ И.Л. Кляритская, Е.О. Шелихова, Е.В. Максимова // Крымский терапевтический журнал. - 2016. - № 1 (28). - С. 5-11.

9. Кляритская И.Л. Место ^{13}C -метацетинового дыхательного теста в диагностике лекарственных поражений печени/ И.Л. Кляритская, Е.О. Шелихова, / Научный руководитель. -2016. - № 5 (17). - С. 58-64.

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ:

АЛТ — аланинаминотрансфераза;

АСТ — аспартатаминотрансфераза;

ВААРТ — высокоактивная антиретровирусная терапия;

ВДТБ — впервые диагностированный туберкулез легких;

ВИЧ — вирус иммунодефицита человека-1;

ГБУЗ РК — Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Республики Крым;

ИМТ — индекс массы тела;

ИФА — иммуноферментный метод;

ЛПП — лекарственное поражение печени;

ПЦР — полимеразная цепная реакция;

УДХК — урсодезоксихолевая кислота;

ФНО – α - фактора некроза опухоли – альфа;

ЩФ — щелочная фосфатаза;

^{13}C - МДТ — ^{13}C метацетиновый дыхательный тест;

P450 2E1 — микросомальный фермент цитохрома печени семейства 2E1;

NAT2 — N-ацетилтрансфераза 2