

Agnija Kivrāne

ORCID 0000-0002-8284-2011

Prettuberkulozes terapijas
efektivitāte un drošums:
farmakokinētiskie un
farmakoģenētiskie pētījumi
Latvijas pacientu populācijā

Promocijas darba kopsavilkums zinātnes doktora grāda
“zinātnes doktors (*Ph. D.*)” iegūšanai

Nozaru grupa – medicīnas un veselības zinātnes

Nozare – medicīnas bāzes zinātnes, tai skaitā farmācija

Apakšnozare – klīniskā farmācija

Promocijas darbs izstrādāts Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centra Molekulārās mikrobioloģijas laboratorijā un Rīgas Stradiņa universitātes prof. Renātes Rankas Farmakogēnētikas un precīzijas medicīnas grupā

Promocijas darba vadītāja:

Dr. biol. profesore **Renāte Ranka**,
Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija,
Vadošā pētniece, Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrs

Oficiālie recenzenti:

Dr. pharm. asociētā profesore **Inga Urtāne**,
Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

Dr. biol. asociētā profesore **Vita Rovīte**,
Latvijas Universitātes Medicīnas un dzīvības zinātņu fakultāte,
Vadošā pētniece, Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrs

Dr. pharm. asociētā profesore **Kristina Garuolienė**,
Viļņas universitātes Medicīnas fakultātes
Farmācijas un farmakoloģijas centrs, Lietuva

Promocijas darbs tiks aizstāvēts Medicīnas bāzes zinātņu, tai skaitā farmācijas promocijas padomes atklātajā sēdē 2026. gada 1. aprīlī plkst. 10.00, Hipokrāta auditorijā, Dzirciema ielā 16, Rīgas Stradiņa universitātē

Ar promocijas darbu var iepazīties RSU bibliotēkā un RSU tīmekļa vietnē:
<https://www.rsu.lv/promocijas-darbi>



Pētījums tika veikts Latvijas Zinātnes padomes finansēta Fundamentālo un lietišķo pētījumu programmas projekta “Tuberkulozes ārstēšana: personalizētās terapijas perspektīvas izpēte” (Nr. lzp2020/1-0050) ietvaros



Pētījums tika veikts Eiropas Savienības Atvēršanas fonda un Latvijas valsts budžeta finansēta projekta “RSU iekšējā un RSU ar LSPA ārējā konsolidācija” (Nr. 5.2.1.1.i.0/2/24/I/CFLA/005) ietvaros

Promocijas padomes sekretārs:

Dr. pharm. vadošais pētnieks **Konstantīns Logviss**

Satura rādītājs

Darbā izmantotie saīsinājumi	4
Ievads	6
Darba mērķis.....	8
Darba uzdevumi.....	8
Darba hipotēze.....	8
Darba novitāte.....	9
Darba ētiskie aspekti.....	9
Diskusija	10
Metodes izstrāde: LC-MS/MS metode prettuberkulozes zāļu kvantificēšanai cilvēka plazmā.....	11
Metodes izstrāde: mērķētās NGS protokols PGx analīzei.....	12
RIF farmakogēnos noteikto variantu ietekme uz tā koncentrāciju plazmā un saistība ar anti-TB DILI	13
Ar pacientu un slimību saistīto faktoru ietekme uz agrīnām seruma CRP koncentrācijas izmaiņām un to saistība ar atbildes reakciju uz terapiju.....	19
Secinājumi	25
Priekšlikumi	26
Publikāciju un ziņojumu saraksts par promocijas darba tēmu	27
Literatūras un avotu saraksts	29
Pateicības	29

Darbā izmantotie saīsinājumi

AADAC	arilacetamīda deacetilāze
ABCB1	adenozīna trifosfātu saistošās kasetes B apakšsaimes 1. loceklis (angl. <i>adenosine triphosphate-binding cassette subfamily B member 1</i>)
Anti-TB DILI	prettuberkulozes zāļu izraisīti aknu bojājumi (angl. <i>anti-tuberculosis drug-induced liver injury</i>)
ATF	adenozīna trifosfāts
AUC	laukums zem laika un koncentrācijas līknes (angl. <i>area under the time-concentration curve</i>)
C _{max}	maksimālā koncentrācija 2 stundas pēc zāļu devas lietošanas (angl. <i>peak concentration 2 hours post-dose</i>)
CRP	C reaktīvais proteīns
CRP _b	C reaktīvā proteīna koncentrācija pirms prettuberkulozes terapijas uzsākšanas
CRP _{10–12d}	C reaktīvā proteīna koncentrācija 10–12 dienas pēc prettuberkulozes terapijas uzsākšanas
C _{trough}	minimālā koncentrācija pirms nākamās zāļu devas lietošanas (angl. <i>trough concentration</i>)
CYP3A	citohroma P450 3. saimes A apakšsaimē (angl. <i>cytochrome P450 family 3 subfamily A</i>)
CYP3A4	citohroma P450 3. saimes A apakšsaimes 4. loceklis (angl. <i>cytochrome P450 family 3 subfamily A member 4</i>)
DILI	zāļu izraisīti aknu bojājumi (angl. <i>drug-induced liver injury</i>)
DNS	dezoksiribonukleīnskābe
DS-TB	zāļu jutīga tuberkuloze (angl. <i>drug-susceptible tuberculosis</i>)
ETB	etambutols (angl. <i>ethambutol</i>)
FK	farmakokinētika
HIV	cilvēka imūndeficīta vīruss (angl. <i>human immunodeficiency virus</i>)
IL-1 β	interleikīns 1 beta
IL-6	interleikīns 6
INH	izoniazīds (angl. <i>isoniazid</i>)
ĶMI	ķermeņa masas indekss
LC-MS/MS	šķidrums hromatogrāfija–tandēma masspektrometrija (angl. <i>liquid chromatography-tandem mass spectrometry</i>)
MIK	minimālā inhibējošā koncentrācija
<i>M. tuberculosis</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
N	pacientu skaits (angl. <i>number of patients</i>)
NAT2	N-acetiltransferāze 2

NGS	nākamās paaudzes sekvencēšana (angl. <i>next-generation sequencing</i>)
NR1I2	kodola receptoru 1. apakšsaimes I grupas 2. loceklis (angl. <i>nuclear receptor subfamily 1 group I member 2</i>)
OATP1B1	organisko anjonu transporta polipeptīds 1B1 (angl. <i>organic anion transporting polypeptide 1B1</i>)
OATP1B3	organisko anjonu transporta polipeptīds 1B3 (angl. <i>organic anion transporting polypeptide 1B3</i>)
Pgp	P glikoproteīns
PGx	farmakoģenētika (angl. <i>pharmacogenetics</i>)
PVO	Pasaules Veselības organizācija
PXR	pregnāna X receptors
PZA	pirazīnamīds (angl. <i>pyrazinamide</i>)
RIF	rifampicīns (angl. <i>rifampicin</i>)
SLCO1B1	izšķīdušo vielu nesēju virssaimes organisko anjonu transportvielu saimes 1B1 loceklis (angl. <i>solute carrier organic anion transporter family member 1B1</i>)
SLCO1B3	izšķīdušo vielu nesēju virssaimes organisko anjonu transportvielu saimes 1B3 loceklis (angl. <i>solute carrier organic anion transporter family member 1B3</i>)
TB	tuberkuloze
TDM	terapeitiskā zāļu uzraudzība (angl. <i>therapeutic drug monitoring</i>)
TNF- α	tumora nekrozes faktors alfa
tSCC	laiks līdz negatīvai krēpu uzsējuma atradei (angl. <i>time to sputum culture conversion</i>)

Ievads

Lai gan tuberkuloze (TB) šķietami ir novēršama un ārstējama infekcijas slimība, pēdējā desmitgadē pasaulē ik gadu tiek reģistrēti aptuveni 10–12 miljoni jaunu TB gadījumu un 1–2 miljoni ar to saistītu nāves gadījumu (World Health Organization, 2024). Tādējādi arī medicīnas tehnoloģiju inovāciju laikmetā TB joprojām uzskatāma par nozīmīgu sabiedrības veselības problēmu. Vairumam pacientu sākotnēji tiek diagnosticēta zāļu jutīga tuberkuloze (angl. *drug-susceptible tuberculosis*, DS-TB) un, vadoties pēc Pasaules Veselības organizācijas (PVO) rekomendācijām, tiek nozīmēta četru vai sešu mēnešu terapijas shēma (World Health Organization, 2022a, 2024). Ņemot vērā zāļu pieejamības ierobežojumus, PVO Eiropas reģiona valstīs, tai skaitā Latvijā, priekšroka pārsvarā tiek dota sešu mēnešu shēmai ar četriem medikamentiem — rifampicīnu (angl. *rifampicin*, RIF), pirazinamīdu (angl. *pyrazinamide*, PZA), izoniazīdu (angl. *isoniazid*, INH) un etambutolu (angl. *ethambutol*, ETB) (Masini et al., 2022; Günther et al., 2023). Šīs terapijas shēmas efektivitāte sasniedz līdz pat 88 % (World Health Organization, 2024).

Līdz šim vairākos pētījumos ir konstatēts, ka pacientu vidū pastāv būtiskas četru iepriekš minēto prettuberkulozes zāļu farmakokinētikas (FK) atšķirības, lietojot standarta devas (Fahimi et al., 2013; Pasipanodya et al., 2013; Prahl et al., 2014; Kloprogge et al., 2020; Ramachandran et al., 2020). Prettuberkulozes zāļu koncentrācijas uzturēšana terapeitiskā diapazona robežās ir nozīmīga, jo katram no šiem medikamentiem ir specifisks darbības mehānisms un atšķirīga spēja iekļūt heterogēnajos infekcijas perēkļos, tādējādi nodrošinot iedarbību uz *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) dažādos replikācijas posmos (Sirgel et al., 2000; Prideaux et al., 2015; Strydom et al., 2019; Ignatius & Dooley, 2023). Likumsakarīgi, ka zemāka prettuberkulozes zāļu koncentrācija literatūrā tiek saistīta ar novēlotu atbildes reakciju un terapijas neveiksmi, tai skaitā sarežģīti ārstējamas zāļu rezistentās slimības formas attīstību, kuras dēļ nepieciešams pārskatīt terapiju, nozīmējot garākas shēmas ar otrās izvēles medikamentiem (Pasipanodya et al., 2013; Prahl et al., 2014; Kloprogge et al., 2020; Ramachandran et al., 2020).

Prettuberkulozes zāļu koncentrācijas ietekme ir pētīta arī no cita aspekta. Kādā avotā aprakstīta saistība starp INH koncentrāciju un TB izraisītā iekaisuma apmēru pirmajos divos prettuberkulozes terapijas mēnešos, t. i., intensīvās ārstēšanas fāzē (Prahl et al., 2014). Diagnozes noteikšanas brīdī seruma C reaktīvā proteīna (CRP) koncentrācija parasti atbilst slimības smaguma pakāpei, bet pirmo terapijas nedēļu laikā tā sāk samazināties, atspoguļojot pakāpenisku *M. tuberculosis* skaita samazināšanos (Djoba et al., 2008; Miranda et al., 2017; Wilson et al., 2018; Azam et al., 2022). Vairāki autori iepriekš ir norādījuši, ka CRP varētu būt daudzsološs biomarķieris, lai uzraudzītu bakterioloģisko atbildes reakciju un prognozētu

terapijas neveiksmi (Djoba et al., 2008; Miranda et al., 2017; Wilson et al., 2018; Azam et al., 2022). Neskatoties uz to, prettuberkulozes zāļu koncentrācijas ietekme uz šī biomarkķiera koncentrācijas izmaiņu dinamiku un šīs saistības klīniskā nozīme nav sīkāk pētīta.

Runājot par DS-TB ārstēšanai paredzētās sešu mēnešu terapijas shēmas drošumu, gandrīz trešdaļai pacientu attīstās zāļu izraisīti aknu bojājumi (angl. *drug-induced liver injury*, DILI), kas vieglākos gadījumos izpaužas kā asimptomātiska, pārejoša aknu enzīmu līmeņa paaugstināšanās, bet smagākos gadījumos iespējama akūta aknu mazspēja vai letāls iznākums (Devarbhavi et al., 2013; Chen et al., 2015a; Zhuang et al., 2022). Šīs nevēlamās blakusparādības pamatā ir RIF, PZA un INH hepatotoksiskās īpašības, kas izpaužas, lietojot šos medikamentus gan monoterapijas, gan kombinētās terapijas veidā (Chen et al., 2015a; Zhuang et al., 2022). Lai gan ir zināms, ka augstākas zāļu devas (nepārsniedzot ieteicamā devu diapazona augšējo robežu) un augstāka zāļu koncentrācija sekmē prettuberkulozes zāļu izraisītu aknu bojājumu (angl. *anti-tuberculosis drug-induced liver injury*, anti-TB DILI) attīstību, šīs nevēlamās blakusparādības mehānismi joprojām nav pilnībā izprasti (Satyaraddiet al., 2014; Chen et al., 2015a; Zheng et al., 2021; Zhuang et al., 2022).

Papildus tādiem pacienta faktoriem kā vecumam, bioloģiskajam dzimumam un blakusslimībām, kas bieži tiek pieminēti saistībā ar prettuberkulozes zāļu koncentrācijas svārstībām un DILI attīstību, nozīmīgs faktors ir gēnu varianti, kas ietekmē zāļu vielu metabolizējošo enzīmu un transportvielu darbību (McIlleron et al., 2006; Nijland et al., 2006; Yimer et al., 2011; Chen et al., 2015a; Zhuang et al., 2022). Farmakoģenētiskās (angl. *pharmacogenetics*, PGx) mainības ietekme uz zāļu efektivitāti un drošumu ir plaši aprakstīta citās terapeitiskajās jomās. Tā, piemēram, ir aprēķināts, ka citohroma P450 2. saimes C apakšsaimes 9. locekli un K vitamīna epoksīdreduktāzes kompleksa 1. apakšvienību kodējošo gēnu varianti var ietekmēt nepieciešamās varfarīna devas lielumu, kas var svārstīties par 35–50 % (Manolopoulos et al., 2010). Līdzīgi, vairāk nekā 60 % gadījumu statīnu izraisītas miopātijas cēlonis ir varianti izšķīdušo vielu nesēju virssaimes organisko anjonu transportvielu saimes 1B1 locekļa (angl. *solute carrier organic anion transporter family member 1B1*, *SLCO1B1*) gēnā, kas kodē organisko anjonu transporta polipeptīdu 1B1 (angl. *organic anion transporting polypeptide 1B1*, OATP1B1) (SEARCH Collaborative Group et al., 2008). Šī promocijas darba kontekstā par PGx nozīmīgu tiek uzskatīts tikai N-acetiltransferāzi 2 (NAT2) kodējošais gēns, jo ir iegūti plaši pierādījumi par genotipa–fenotipa saistību, kas ļauj daļēji izskaidrot INH izraisīto hepatotoksicitāti (McDonagh et al., 2014; Chen et al., 2015a; Zhuang et al., 2022; Ulanova et al., 2024). Citi pierādījumi par pacienta ģenētiskā fona ietekmi uz prettuberkulozes zāļu koncentrāciju un to izraisīto hepatotoksicitāti joprojām ir pretrunīgi (Chigutsa et al., 2011; Wang et al., 2019; Zhang et al., 2019; Weiner et al., 2021).

Darba mērķis

Izpētīt RIF farmakogēnos esošo variantu saistību ar tā koncentrāciju plazmā un anti-TB DILI attīstību, kā arī raksturot agrīnās seruma CRP koncentrācijas izmaiņas un tās ietekmējošos faktorus Latvijas pacientiem ar DS-TB.

Darba uzdevumi

Promocijas darba mērķa sasniegšanai izvirzīti šādi uzdevumi:

1. Izstrādāt un validēt šķidrums hromatogrāfijas–tandēma masspektrometrijas (angl. *liquid chromatography-tandem mass spectrometry*, LC-MS/MS) metodi RIF, PZA, INH un ETB kvantificēšanai cilvēka plazmā.
2. Izstrādāt mērķētās nākamās paaudzes sekvencēšanas (angl. *next-generation sequencing*, NGS) protokolu interesējošo gēnu fragmentu analīzei.
3. Izpētīt, vai varianti gēnos, kuri kodē RIF FK procesos iesaistītos enzīmus (gēns: arilacetamīda deacetilāze [*AADAC*]), transportvielas (gēni: *SLCO1B1* un izšķīdušo vielu nesēju virssaimes organisko anjonu transportvielu saimes 1B3 loceklis [angl. *solute carrier organic anion transporter family member 1B3*, *SLCO1B3*], adenozīna trifosfātu saistošās kasetes B apakšsaimes 1. loceklis [angl. *adenosine triphosphate-binding cassette subfamily B member 1*, *ABCB1*]) un kodola receptorus (gēns: kodola receptoru 1. apakšsaimes I grupas 2. loceklis [angl. *nuclear receptor subfamily 1 group 1 member 2*, *NR1I2*]), ietekmē RIF koncentrāciju plazmā un ir saistīti ar prettuberkulozes terapijas izraisītu hepatotoksicitāti.
4. Izpētīt, kā ar pacientu un slimību saistīti faktori, tai skaitā prettuberkulozes zāļu koncentrācija plazmā, ietekmē seruma CRP koncentrācijas samazināšanos 10–12 terapijas dienu laikā un izvērtēt, vai šīs agrīnās izmaiņas var prognozēt bakterioloģisko atbildes reakciju.

Darba hipotēze

1. Viens vai vairāki varianti piecos pētītajos gēnos, kuri kodē RIF metabolizējošos enzīmus, transportvielas un ar to saistītos regulatoros proteīnus, ietekmē RIF koncentrāciju plazmā un ir saistīti ar anti-TB DILI attīstību.
2. Augstāka seruma CRP koncentrācija 10–12 dienas pēc prettuberkulozes terapijas uzsākšanas, kā arī mazāk nekā divkārtšs samazinājums salīdzinājumā ar sākumstāvokli, ir saistīts ar zemāku vienu vai vairāku prettuberkulozes zāļu koncentrāciju plazmā.

Darba novitāte

Šajā darbā tika analizēta prettuberkulozes zāļu koncentrācija un ar RIF saistītie ģenētiskie faktori no dažādiem skatpunktiem, iezīmējot to lomu attiecībā uz DS-TB terapijas efektivitāti un drošumu.

Izstrādātā LC-MS/MS metode ir pirmā, kas ļauj vienlaikus kvantificēt RIF, PZA, INH un ETB, kā arī to sešus galvenos metabolītus cilvēka plazmā, būtiski paplašinot FK izpētes tvērumu. Šī metode ir pielāgojama terapeitiskajai zāļu uzraudzībai (angl. *therapeutic drug monitoring*, TDM), lai klīniskajā vidē īstenotu personalizētu pieeju TB ārstēšanai. Turpretī NGS balstītais protokols mērķtiecīgai ģenētiskai analīzei ir piemērots un viegli pielāgojams variantu noteikšanai vairākos interesējošos gēnos vai gēnu fragmentos. Abas metodoloģijas tika izmantotas divos turpmākajos pētījumos.

Pirmais pētījums, kurā raksturota RIF FK procesos iesaistīto enzīmu (*AADAC* gēns), transportvielu (*SLCO1B1*, *SLCO1B3* un *ABCB1* gēni) un kodola receptoru (*NR1I2* gēns) kodējošo gēnu (kopā saukti par RIF farmakogēniem) variantu ietekme uz RIF koncentrāciju plazmā un prettuberkulozes terapijas izraisītas hepatotoksicitātes attīstību, sniedz vērtīgus datus par genotipa–fenotipa saistību Eiropas izcelsmes pacientiem (eiropēdiem). Lai gan iegūtie rezultāti lielā mērā apstiprina pieņēmumu, ka analizēto gēnu variantu izraisītajām proteīnu darbības izmaiņām ir ierobežota nozīme, tika atklāts, ka *NR1I2* gēna variants (rs3732357) ietekmē RIF koncentrāciju plazmā. Jāuzsver, ka šī varianta ietekme pacientiem ar TB iepriekš nav aprakstīta.

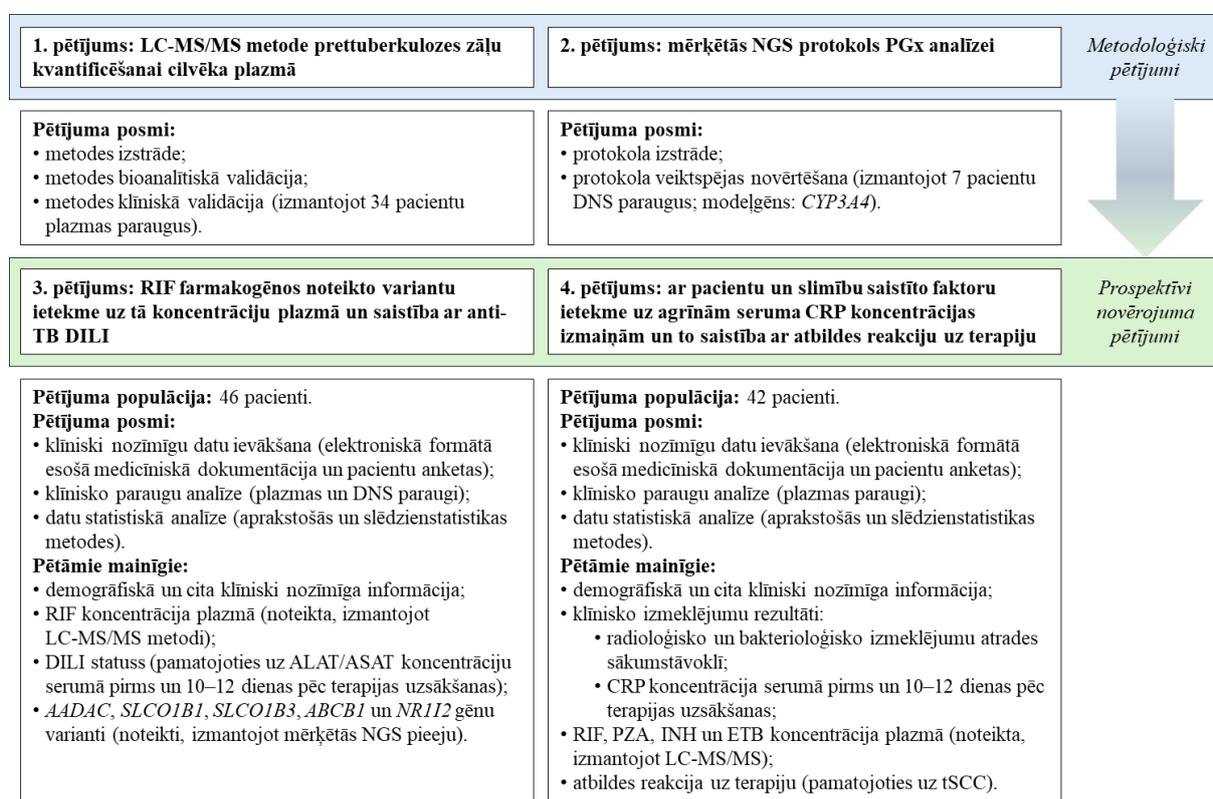
Otrs pētījums paplašina izpratni par faktoru, kas saistīti ar pacientu un slimību, ietekmi uz seruma CRP koncentrācijas izmaiņām īsi pēc prettuberkulozes terapijas uzsākšanas. Rezultāti arī norāda, ka šī biomarķiera koncentrācijas noteikšanai terapijas 10.–12. dienā ir ierobežota klīniskā nozīme, jo novērotās izmaiņas nespēja prognozēt bakterioloģisko atbildes reakciju.

Darba ētiskie aspekti

Visi šajā darbā aprakstītie pētījumi tika veikti, ievērojot Helsinku deklarācijā noteiktos principus. Pētījumu protokolus, ja piemērojams, apstiprināja Latvijas Centrālā medicīnas ētikas komiteja (atzinuma Nr. 01-29.1/1 un Nr. 01-29.1.2/1736), Rīgas Stradiņa universitātes Pētījumu ētikas komiteja (lēmuma Nr. 6-3/1/6), Rīgas Austrumu klīniskās universitātes slimnīcas atbalsta fonda Medicīnisko un biomedicīnisko pētījumu Ētikas komiteja (atzinuma Nr. 24-A/15) un Rīgas Austrumu klīniskās universitātes slimnīcas Zinātnes daļa (atļaujas Nr. ZD/08-06/01-21/187).

Diskusija

Atbilstoši iepriekš iezīmētajai problemātikai šī promocijas darba pirmajā daļā ir aprakstīta tādu ģenētisko faktoru analīze, kas, domājams, varētu ietekmēt RIF koncentrāciju plazmā un veicināt anti-TB DILI attīstību. Kopumā tika analizēti pieci RIF farmakogēni: *AADAC*, *SLCO1B1*, *SLCO1B3*, *ABCB1* un *NR1I2*. Otrajā darba daļā ir apkopoti galvenie rezultāti, kas iegūti pētījumā par prettuberkulozes terapijas izraisītām agrīnām iekaisuma izmaiņām, īpašu uzmanību pievēršot zāļu plazmas koncentrācijas ietekmei. Papildus tam šajā darbā ir aprakstīta LC-MS/MS un NGS metožu, kas bija nepieciešamas abu minēto pētījumu īstenošanai, izstrāde. Promocijas darbā iekļauto pētījumu dizaina shematiskais attēlojums ir parādīts 1. attēlā.



1. attēls. Pētījumu dizaina shematiskais attēlojums*

*Laika posmā no 2017. gada aprīļa līdz 2023. gada maijam visos pētījumos kopā tika iesaistīti 64 praktiski veseli pieauguši pacienti, kuriem bija diagnosticēta zāļu jutīga plaušu TB un kuri bija stacionēti Rīgas Austrumu universitātes slimnīcas Tuberkulozes un plaušu slimību centrā (Latvija). Visi pacienti bija Eiropas izcelsmes (eiropeīdi). Klīnisko paraugu ievākšanas brīdī pacienti bija sešu mēnešu terapijas shēmas intensīvajā fāzē un 10–12 dienas bija saņēmuši RIF (8–12 mg/kg), PZA (20–30 mg/kg), INH (4–6 mg/kg) un ETB (15–25 mg/kg) saskaņā ar PVO izdotajām vadlīnijām DS-TB ārstēšanai (World Health Organization, 2022a).
 Saīsinājumi: LC-MS/MS, šķidrums hromatogrāfija–tandēma masspektrometrija; NGS, nākamās paaudzes sekvencēšana; PGx, farmakoģenētika; DNS, dezoksiribonukleīnskābe; *CYP3A4*, citohroma P450 3. saimes A apakšsaimes 4. locekļa gēns; RIF, rifampicīns; anti-TB DILI, prettuberkulozes zāļu izraisīti aknu bojājumi; DILI, zāļu izraisīti aknu bojājumi; ALAT, alanīna aminotransferāze; ASAT, aspartāta aminotransferāze; *AADAC*, arilacetamīda deacetilāzes gēns; *SLCO1B1*, izšķīdušo vielu nesēju virssaimes organisko anjonu transportvielu saimes 1B1 locekļa gēns; *SLCO1B3*, izšķīdušo vielu nesēju virssaimes organisko anjonu transportvielu saimes 1B1 locekļa gēns; *ABCB1*, adenoziņa trifosfātu saistošās kasetes B apakšsaimes 1. locekļa gēns; *NR1I2*, kodola receptoru 1. saimes I grupas 2. locekļa gēns; CRP, C reaktīvais proteīns; PZA, pirazinamīds; INH, izoniazīds; ETB, etambutols; tSCC, laiks līdz negatīvai krēpu uzspējuma atradei.

Metodes izstrāde: LC-MS/MS metode prettuberkulozes zāļu kvantificēšanai cilvēka plazmā

Kopumā LC-MS/MS ir kļuvusi par izvēles metodi zāļu kvantificēšanai dažādās bioloģiskās matricēs gan pētniecībā, gan TDM klīniskajā vidē. Literatūrā pieejamā informācija liecina, ka viens no galvenajiem izaicinājumiem, vienlaicīgi analizējot vairākas prettuberkulozes zāles un to metabolītus, ir šo savienojumu atšķirīgās fizikālķīmiskās īpašības, kas sarežģī piemērotas paraugu sagatavošanas metodikas izvēli un hromatogrāfisko apstākļu pielāgošanu (Zhou et al., 2013; Kim et al., 2015; Shah et al., 2016; Wang et al., 2020). Šī darba ietvaros veikto eksperimentu laikā, izmantojot iepriekš publicētās metodes, tika novērota neapmierinoša analītu aizturēšanās uz hromatogrāfiskās kolonnas un hromatogrāfisko joslu kropļojumi, kā arī jonizācijas traucējumi (Kim et al., 2015; Luyen et al., 2018; Sundell et al., 2019). Būtiski atzīmēt, ka atsevišķu metožu darba koncentrāciju diapazons neaptvēra terapeitiskā zāļu diapazona vidējo un augšējo daļu, tāpēc pirms analīzes bija nepieciešams papildu paraugu atšķaidīšanas solis, lai nodrošinātu to atbilstību kalibrēšanas diapazonam (Zhou et al., 2013; Gao et al., 2018; Wu et al., 2020). Praktisku apsvērumu dēļ šajā darbā netika izskatīta iespēja pielietot komplicētas paraugu sagatavošanas metodes un katram savienojumam izmantot citu analītisko metodi, jo šāda pieeja būtu laikietilpīga, prasītu relatīvi lielus paraugu tilpumus un ietvertu tehniski sarežģītus risinājumus.

Aprakstītās problēmas tika novērsta, izstrādājot jaunu metodi, kas paredzēta vienlaicīgai RIF, PZA, INH un ETB kvantificēšanai cilvēka plazmā. Salīdzinot ar citām metodēm, tā ļauj vienas analīzes ietvaros noteikt arī 25-desacetilrifampicīna, acetilizoniazīda, izonikotīnskābes, pirazīn-2-karbonskābes, 5-hidroksipirazinamīda un 5-hidroksipirazīn-2-karbonskābes koncentrāciju, kas ir pētīto zāļu seši galvenie metabolīti. Metodes pamatā ir vienkārša paraugu sagatavošana, veicot viensoļa proteīnu izgulsnēšanu ar metanolu, kam seko vielu maisījuma hromatogrāfiska sadalīšana uz apgrieztās fāzes C8 kolonnas, izmantojot mobilās fāzes gradientu (0,1 % skudrskābes ūdens šķīdums (A) un metanols (B); A no 99 % līdz 2 %); viena parauga analīzes laiks ir 10 minūtes. Analīti tika noteikti un kvantificēti, izmantojot izvēlēto reakciju režīmu. Papildu paraugu pirmapstrādes soli nebija nepieciešami, jo darba koncentrāciju diapazoni tika izvēlēti, balstoties uz RIF, PZA, INH un ETB sagaidāmo maksimālo koncentrāciju plazmā 2 stundas pēc zāļu devas lietošanas (angl. *peak concentration 2 hours post-dose*, C_{max}) (Alsultan & Peloquin, 2014).

Izstrādātās metodes validācija tika veikta atbilstoši Eiropas Zāļu aģentūras vadlīnijām par bioanalītisko metožu validāciju (European Medicines Agency, 2012). Tās laikā iegūtie rezultāti norādīja uz apmierinošu metodes veiktspēju, apliecinot iegūto datu kvalitāti un ticamību. Validācijas ietvaros veiktajos stabilitātes testos, kuros tika imitēti dažādi paraugu

uzglabāšanas apstākļi, konstatēta ierobežota RIF, INH un to metabolītu stabilitāte, kas atbilst arī citu autoru ziņojumiem (Sturkenboom et al., 2015; Luyen et al., 2018; Wu et al., 2020). Šī iemesla dēļ plazmas paraugi jāapstrādā 4 stundu laikā pēc to ievākšanas vai arī tos ir pieļaujams īslaicīgi (līdz 24 stundām) uzglabāt $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūrā.

Metodes klīniskais pielietojums tika izvērtēts, analizējot plazmas paraugus no 34 pacientiem, kuri bija uzsākuši prettuberkulozes terapiju. Šajā paraugu kopā vidējā C_{\max} atbilda terapeitiskajam diapazonam PZA (faktiskā: $38,4\text{ }\mu\text{g/ml}$, sagaidāmā: $20\text{--}60\text{ }\mu\text{g/ml}$) un ETB (faktiskā: $2,7\text{ }\mu\text{g/ml}$, sagaidāmā: $2\text{--}6\text{ }\mu\text{g/ml}$) gadījumā, bet RIF un INH gadījumā vidējā C_{\max} nerasniedza terapeitiskā diapazona apakšējo robežu (RIF faktiskā: $2,3\text{ }\mu\text{g/ml}$, sagaidāmā: $8\text{--}24\text{ }\mu\text{g/ml}$; INH faktiskā: $2,8\text{ }\mu\text{g/ml}$, sagaidāmā: $3\text{--}6\text{ }\mu\text{g/ml}$) (Alsultan & Peloquin, 2014). Iegūtie rezultāti atbilst citās populācijās aprakstītajiem novērojumiem un uzsver nepieciešamību pēc turpmākas izpētes, lai noskaidrotu faktoros, kas nosaka prettuberkulozes zāļu koncentrācijas svārstības plazmā un to klīnisko nozīmi (Fahimi et al., 2013; Prahl et al., 2014; Niward et al., 2018; Kloprogge et al., 2020; Ramachandran et al., 2020).

Lai gan prettuberkulozes zāļu metabolītu analīze pacientu plazmas paraugos bija ārpus promocijas darbā iekļauto pētījumu tvēruma, klīniskās validācijas posmā iegūtie dati par INH un tā metabolītiem tika izmantoti citā pētījumā, kurā tika raksturota INH FK un vērtēta ģenētisko faktoru ietekme (Ulanova et al., 2024). Līdz ar to papildu metabolītu noteikšana paplašina izstrādātās metodes pielietojamību turpmākajos FK pētījumos.

Metodes izstrāde: mērķētās NGS protokols PGx analīzei

Salīdzinājumā ar konvencionālajām pirmās paaudzes sekvencēšanas metodēm, piemēram, Sangera sekvencēšanu, otrās paaudzes jeb NGS tehnoloģijas ir revolucionizējušas genomikas pētījumus, nodrošinot ātru un izmaksu ziņā efektīvu ģenētiskās mainības lielapjoma izpēti. Atbilstoši PGx pētījuma iecerei mērķētās NGS pieeja tika uzskatīta par piemērotāko, salīdzinot ar pilna genoma un eksoma sekvencēšanas metodēm, kas parasti tiek izmantotas plašākai ģenētiskai raksturošanai. Sekvencēšanas eksperimenta plānošanas laikā komerciāli pieejamie mērķētās sekvencēšanas paneļi aptvēra ierobežotu skaitu variantu gēnos, kuri kodē enzīmus, transportvielas un regulatoros proteīnus, kas iesaistīti RIF un citu prettuberkulozes zāļu FK procesos.

Izstrādātais mērķētās NGS protokols ietver soļu secību, sākot no amplifikācijas un sekvencēšanas bibliotēku sagatavošanas līdz iegūto sekvencēšanas datu bioinformātiskai analīzei. Veicot izmaiņas amplifikācijas un bioinformātiskās analīzes solī, tehniski to var pielāgot vairāku interesējošo gēnu vai gēnu fragmentu analīzei, kas ir uzskatāma par šī protokola būtiskāko priekšrocību.

Izmantojot citohroma P450 3. saimes A apakšsaimes 4. locekļa (*CYP3A4*) gēnu kā modeļģēnu, tika pierādīts, ka izstrādātais sekvencēšanas protokols nolasījumu pāru ģenerēšanai uz Illumina platformas nodrošina augstas kvalitātes datus (piemēram, vidējais bāzu kvalitātes rādītājs $Q > 30$, vidējais nolasījumu dziļums > 100) analizētajiem pacientu dezoksiribonukleīnskābes (DNS) paraugiem (pacientu skaits, $N = 7$). Vienlaikus nejaušas izlases veidā tika atlasīti 10 *CYP3A4* gēna varianti un veikta atkārtota paraugu sekvencēšana, izmantojot references metodi – Sanger sekvencēšanu. Ar abām metodēm iegūtie rezultāti pilnībā sakrita, tādējādi apstiprinot izstrādātā protokola piemērotību paredzētajam pielietojumam.

Tomēr diviem no analizētajiem paraugiem tika novērots nepilnīgs mērķa sekvences pārklājums (iztrūka līdz pat 16 %), ko var skaidrot ar atsevišķu amplikonu zemo kvalitāti, jo citos sekvences reģionos nebija būtisku nolasījumu dziļuma svārstību. Zināms, ka sekvencēšanas bibliotēku sagatavošanai izmantojamo reaģentu veiktspēju var ietekmēt zems (< 50 %) guanīna/citozīna saturs mērķa sekvencē (Seth-Smith et al., 2019). Tādējādi, pielāgojot protokolu citu gēnu vai gēnu fragmentu analīzei, jāņem vērā abi faktori, lai nodrošinātu tā darbības robustumu.

Analizējot piecu pacientu paraugus ar pilnīgu mērķa sekvences pārklājumu, tika identificēts viens *CYP3A4**22 (rs35599367) alēles nēsātājs un viens *CYP3A4**1G (rs2242480) alēles nēsātājs; jāatzīmē, ka otrā alēle vairs neietilpst nesēn pārskatītajā *CYP3A4* alēļu klasifikatorā (Gaedigk et al., 2021). Literatūrā norādīts, ka abi minētie *CYP3A4* gēna varianti var ietekmēt, piemēram, takrolīma FK, tomēr konkrētā darba ietvaros šī farmakogēna sīkāka izpēte nebija paredzēta (Elens et al., 2013; Pallet et al., 2015; Liu et al., 2017; Dong et al., 2022).

RIF farmakogēnos noteikto variantu ietekme uz tā koncentrāciju plazmā un saistība ar anti-TB DILI

RIF tiek uzskatīts par vienu no spēcīgākajiem DS-TB ārstēšanai paredzētās sešu mēnešu shēmas komponentiem, pateicoties tā spējai iekļūt dažāda veida infekcijas perēkļos un iedarboties gan uz metaboliski aktīvām, gan metaboliski neaktīvām *M. tuberculosis* formām (Dickinson & Mitchison, 1981; Prideaux et al., 2015; Rifat et al., 2018).

Tajā pašā laikā RIF piemīt izteikta FK mainība, salīdzinot ar citām prettuberkulozes zālēm. Lietojot standarta devas, nepietiekama RIF koncentrācija novērota aptuveni 42–93 % pacientu (McIlleron et al., 2006; Fahimi et al., 2013; Prahel et al., 2014; Niward et al., 2018; Ramachandran et al., 2020). Arī šajā pētījumā ($N = 46$) LC-MS/MS analīzes rezultāti norādīja uz līdzīgu tendenci – 91 % pacientu RIF C_{max} plazmā nesasniedza terapeitisko diapazonu (Alsultan & Peloquin, 2014). Pacientiem ar nepietiekamu RIF koncentrāciju plazmā bija lielāka

ķermeņa masa, līdz ar to mazāka no ķermeņa masas atkarīgā RIF deva salīdzinājumā ar pacientiem, kuriem bija optimāla RIF koncentrācija plazmā. Citu literatūrā aprakstīto faktoru ietekme netika novērota, kas, iespējams, skaidrojams ar pētāmās populācijas struktūras īpatnībām, t. i., praktiski veseli pieauguši pacienti, no kuriem 76 % bija vīrieši un 11 % bija 60 gadu veci vai vecāki (Walubo et al., 1991; McIlleron et al., 2006; Nijland et al., 2006; Weiner et al., 2010; Milán Segovia et al., 2013).

Kā jau iepriekš tika norādīts, DILI ir plaši dokumentēta nevēlamā blakusparādība pacientiem, kuri saņem terapiju DS-TB ārstēšanai (Chen et al., 2015a; Zhuang et al., 2022). Aplēses liecina, ka aptuveni pusē gadījumu hepatotoksicitātes simptomi parādās pirmo divu terapijas nedēļu laikā. Zīmīgi, ka RIF izraisītās hepatotoksicitātes simptomi var parādīties agrāk nekā tie, kas saistīti ar PZA un INH toksicitāti (Durand et al., 1996; Abbara et al., 2017). Šajā pētījumā 10–12 dienas pēc prettuberkulozes terapijas uzsākšanas 13 % pacientu attīstījās DILI, kas atbilst datiem no citiem pētījumiem, kuros šī nevēlamā blakusparādība reģistrēta līdz pat 28 % pacientu (Chen et al., 2015a). Stratificējot pacientus pēc DILI statusa, DILI grupā tika novērots augstāks alanīna aminotransferāzes un aspartāta aminotransferāzes līmenis serumā 10.–12. terapijas dienā; citas būtiskas atšķirības pacientu raksturojumā netika konstatētas, kas atkārtoti apliecina pētāmās populācijas homogenitāti.

Ņemot vērā, ka arī pacienta ģenētiskais fons potenciāli var ietekmēt terapijas efektivitāti un drošumu, šajā darbā no četros RIF farmakogēnos identificētajiem variantiem tika atlasīti 10 varianti (*SLCO1B1*: rs2306283, rs11045819 un rs4149056; *SLCO1B3*: rs60140950; *ABCB1*: rs9282564 un rs1045642; *NR1H2*: rs3814055, rs3732357, rs2276707 un rs3732359) un analizēta to ietekme uz RIF koncentrāciju plazmā (raksturota ar C_{max} un laukumu zem laika un koncentrācijas līknes [angl. *area under the time-concentration curve*, AUC_{0-6h}]), kā arī vērtēta to saistība ar anti-TB DILI attīstību.

Sākotnēji pētāmo gēnu kopā tika iekļauts arī *AADAC* – gēns, kas kodē aknu mikrosomālo enzīmu, kas hidrolizē rifamicīnus par netoksiskiem 25-desacetil- atvasinājumiem –, un vairāki autori iepriekš ir norādījuši, ka šī enzīma aktivitāti ietekmē varianti attiecīgajā gēnā (Nakajima et al., 2011; Shimizu et al., 2012; Francis et al., 2019; Weiner et al., 2021; Ignatius & Dooley, 2023). Tomēr šī pētījuma laikā noteikto *AADAC* gēna variantu turpmāka analīze nebija iespējama nepietiekamas statistiskās jaudas dēļ, kas izrietēja no to ierobežotās izplatības pētāmajā populācijā.

Attiecībā uz *SLCO1B1* un *SLCO1B3* gēniem, tie kodē aknu specifiskas membrānas ieplūdes transportvielas OATP1B1 un organisko anjonu transporta polipeptīdu 1B3 (angl. *organic anion transporting polypeptide 1B3*, OATP1B3), kas tiek ekspresētas uz hepatocītu bazolaterālās membrānas (Nie et al., 2020). Abas transportvielas nodrošina dažādu

endogēnu un eksogēnu vielu, tai skaitā RIF, transportu no asinsrites uz aknām (Nie et al., 2020). Agrāk veiktajos *in vitro* eksperimentos noskaidrots, ka viens no šajā darbā pētītajiem *SLCO1B1* gēna eksoniskajiem variantiem rs4149056 (T>C) ir saistīts ar samazinātu RIF, atorvastatīna, gliklazīda un citu substrātu transportu, bet pārējo divu eksonisko variantu rs11045819 (C>A) un rs2306283 (A>G) ietekme atšķiras atkarībā no substrāta (Nie et al., 2020). Pētījumos klīniskajā vidē savukārt ziņots, ka rs4149056 ietekmē tādas RIF PK parametrus kā minimālo koncentrāciju plazmā pirms nākamās zāļu devas lietošanas (angl. *trough concentration*, C_{trough}) un C_{max} (Allegra et al., 2017). Raksturojot rs11045819, citos pētījumos atklāts, ka CA genotips apvienojumā ar afrikāņu izcelsmi un vīriešu dzimumu ir saistīts ar zemāku RIF koncentrāciju plazmā (Weiner et al., 2010; Kwara et al., 2014). Turpretī Ganā veiktā pētījumā pediatriem pacientiem ar rs2306283 GG genotipu reģistrēta augstāka RIF $AUC_{0-\infty}$ vērtība plazmā, bet atšķirības citu FK parametru gadījumā tuvojās statistiskai nozīmībai (Dompreh et al., 2018). Neraugoties uz iepriekš minēto, šajā un citos pētījumos netika apstiprināta trīs aplūkoto *SLCO1B1* gēna variantu ietekme uz RIF koncentrāciju (Chigutsa et al., 2011; Huerta-García et al., 2019; Naidoo et al., 2019; Medellin-Garibay et al., 2020; Weiner et al., 2021). Līdzīgi, šajā darbā netika konstatētas būtiskas izmaiņas *SLCO1B3* eksoniskā varianta rs60140950 (G>C) nēsātājiem, lai gan literatūrā ziņots, ka tas ir saistīts ar samazinātu OATP1B3 ekspresiju (bez ietekmes uz transportvielas aktivitāti *in vitro*) un veseliem indivīdiem izraisa telmisartāna FK izmaiņas (Schwarz et al., 2011; Hirvensalo et al., 2020; Nie et al., 2020).

Klīniski izšķir trīs DILI veidus – hepatocelulāru, holestātisku un jauktu; visi ir sastopami pacientiem, kuri saņem terapiju DS-TB ārstēšanai (David & Hamilton, 2010; Chen et al., 2015a). Pastāv uzskats, ka viens no iespējamiem holestāzes mehānismiem ir OATP1B1 un OATP1B3 konkurējoša inhibīcija, kur RIF konkurē ar citu substrātu – bilirubīnu – par piesaistes vietām, kā rezultātā samazinās bilirubīna transports uz aknām (Campbell et al., 2004; Nie et al., 2020). Lai gan atsevišķos pētījumos ir dokumentēta saistība starp *SLCO1B1**15 (rs2306283 + rs4149056) haplotipu un prettuberkulozes terapijas izraisītu hepatotoksicitāti, citviet, tai skaitā šajā pētījumā, abu variantu ietekme netika novērota (Li et al., 2012; Chen et al., 2015b; Yimer et al., 2011; Kim et al., 2012). Arī trešais analīzē iekļautais *SLCO1B1* gēna variants rs11045819 neveicināja šīs nevēlamās blakusparādības attīstību. Noteikti jāatzīmē, ka kādā citā avotā *SLCO1B1**15 haplotips veseliem brīvprātīgajiem bija saistīts ar augstāku bilirubīna koncentrāciju, kas pēc RIF lietošanas turpināja pieaugt, bet līdzīgā mērā kā indivīdiem bez šī haplotipa (Zhang et al., 2007). Šie novērojumi liecina, ka RIF var paasināt jau esošus aknu un žults izvades sistēmas traucējumus, taču maz ticams, ka tas būs to primārais cēlonis. Tajā pašā laikā vairums pieejamo publikāciju par *SLCO1B3* gēna variantu klīnisko nozīmi attiecināmas uz taksānu toksicitāti, un līdzšinējie pētījumi nav snieguši pārliecinošus

pierādījumus par konkrēta zāļu-gēna varianta saistību (Jabir et al., 2012; Mbatchi et al., 2015). Šajā pētījumā rs60140950 nebija saistīts ar DILI attīstību pacientiem, kuri saņēma prettuberkulozes terapiju. Jāuzsver, ka TB kontekstā šis ir pirmais šāda veida ziņojums par *SLCO1B3* gēnu.

Cits transportvielu kodējošais gēns *ABCB1* kodē adenozinā trifosfāta (ATF) atkarīgo membrānas transportvielu P glikoproteīnu (Pgp). Pgp tiek ekspresēts izvadorgānu sistēmas orgānos un hematoencefāliskajā barjerā, kur tas darbojas kā dabisks aizsargmehānisms, kavējot ksenobiotiku, piemēram, RIF, izplatīšanos un veicinot to izvadīšanu no intracelulārās vides (Cascorbi, 2011). Viens no šajā darbā pētītajiem *ABCB1* eksoniskajiem variantiem rs1045642 (A>G) iepriekš ir uzrādījis nekonekventu ietekmi uz matricas ribonukleīnskābes un Pgp ekspresiju, kā arī uz tā substrātu FK (Cascorbi, 2011). Kādā pētījumā ar meksikāņu pacientiem rs1045642 genotips atzīts par nozīmīgu ģenētisko faktoru, kas kopā ar bioloģisko dzimumu un lietoto RIF devu noteica RIF koncentrāciju plazmā (Huerta García et al., 2019). Tomēr šajā konkrētajā pētījumā netika novērota šāda likumsakarība, un par negatīviem rezultātiem ir ziņojuši arī citi autori (Weiner et al., 2010; Chigutsa et al., 2011; Allegra et al., 2017; Naidoo et al., 2019; Medellin-Garibay et al., 2020). Līdzīgi literatūrā aprakstīts, ka *ABCB1* gēna varianta rs2032582, kas ir nelīdzsvarotā saistībā ar rs1045642 un *in vitro* bija saistīts ar samazinātu Pgp aktivitāti, ietekme uz RIF perorālo klīrensu klīniskajā vidē bija tikai margināli nozīmīga (Cascorbi, 2011; Chigutsa et al., 2011). Arī otrs šajā darbā pētītais *ABCB1* eksoniskais variants rs9282564 (T>C) neietekmēja nevienu no noteiktajiem RIF FK parametriem, lai gan citā pētījumā aprakstīta tā saistība ar zemāku C_{trough} plazmā (Hu et al., 2018).

Izvērtējot pieejamo informāciju par abu pētīto *ABCB1* gēna variantu lomu DILI attīstībā, kādā avotā norādīts par paaugstinātu šīs nevēlamās blakusparādības attīstības risku rs1045642 GG genotipa nēsātājiem, kuri lietoja RIF un efavirenu saturošas shēmas TB un cilvēka imūndeficīta vīrusa (angl. *human immunodeficiency virus*, HIV) koinfekcijas ārstēšanai (Yimer et al., 2011). Interesanti, ka citās publikācijās pacientiem ar HIV monoinfekciju aprakstīts pretējs jeb protektīvs efekts, bet praktiski veseliem pacientiem ar TB saistība ar INH izraisītu hepatotoksicitāti netika atrasta (Ritchie et al., 2006; Chan et al., 2017). Šajā pētījumā, kurā tika iesaistīti pacienti bez blakusslimībām, saistība starp *ABCB1* gēna variantiem rs1045642 un rs9282564 un prettuberkulozes zāļu izraisītu hepatotoksicitāti netika noteikta.

Pēdējais no analizētajiem gēniem *NR1I2* kodē pregnāna X receptoru (PXR) – ligandatkarīgu transkripcijas faktoru, kas regulē daudzu I un II fāzes zāļu metabolismā iesaistīto enzīmu un transportvielu darbību (Ma et al., 2008). RIF, viens no spēcīgākajiem PXR ligandiem, augšupregulē PXR atkarīgo gēnu transkripciju, un pastāv uzskats, ka tas spēj inducēt

arī pats savu metabolismu, kas klīniski izpaužas kā tā plazmas koncentrācijas samazināšanās par aptuveni 40 % pirmo terapijas nedēļu laikā (Ma et al., 2008; Smythe et al., 2012). Tā kā *NR1I2* eksonisko variantu izplatība pētāmajā populācijā bija zema, tālāk tika pētīti introniskie varianti, kas atrodas \pm 500 bp attālumā no eksoniem (rs2276707 (C>T) un rs3732357 (G>A)), kā arī varianti 5' un 3' netranslējamajos reģionos (attiecīgi rs3814055 (C>T) un rs3732359 (G>A)). Piemērojot dominanto ģenētisko modeli (GG pret GA+AA genotipu), rs3732357 nēsātājiem tika konstatēta zemāka RIF AUC_{0-6h} vērtība plazmā, savukārt C_{max} gadījumā rezultāts tuvojās statistiskai nozīmībai. Līdzīga tendence tika novērota arī attiecībā uz rs3732359, taču statistiskā nozīmība netika sasniegta. Abu *NR1I2* gēna variantu iespējamā klīniskā nozīme ir aprakstīta arī agrāk, proti, izmantojot midazolāmu kā modeļvielu, divos pētījumos secināts, ka tie palielina citohroma P450 3. saimes A apakšsaimes (angl. *cytochrome P450 family 3 subfamily A*) enzīmu aktivitāti, lai gan efekts dokumentēts tikai afroamerikāņiem (He et al., 2006; Oleson et al., 2010). Ņemot vērā ierobežoto informāciju par rs3732357 un rs3732359 funkcionālo nozīmi, jo īpaši par to ietekmi uz RIF PK procesos iesaistīto enzīmu un transportvielu aktivitāti, šobrīd nav iespējams precīzi izskaidrot atklātās likumsakarības pamatā esošos mehānismus. Diviem citiem aplūkotajiem *NR1I2* gēna variantiem – rs3814055, kuram iepriekš pierādīta saistība ar palielinātu *NR1I2* promotera aktivitāti *in vitro*, un rs2276707, kura klātbūtnē novērota paaugstināta CYP3A enzīmu ekspresija zarnās, taču dati par ietekmi uz takrolīma FK bijuši pretrunīgi – šajā pētījumā nebija saistības ar analizētajiem RIF FK parametriem (Zhang et al., 2001; Barraclough et al., 2012; Rana et al., 2017; Lu et al., 2021).

Zināms, ka RIF iedarbības rezultātā mainās PXR bazālā transkripciju regulējošā aktivitāte, kas izraisa taukskābju absorbcijas palielināšanos un sekojošu uzkrāšanos aknās, INH izraisīta oksidatīvā stresa pastiprināšanos pārmērīgas hepatotoksisku INH metabolītu veidošanās dēļ un holestāzi, ko veicina pastiprināta hēma biosintēzes starpprodukta protoporfirīna IX uzkrāšanās (Metushi et al., 2011; Zhuang et al., 2022). Tādējādi pastāv ievērojama interese par to, vai *NR1I2* gēna varianti predisponē indivīdus prettuberkulozes terapijas izraisītai hepatotoksicitātei. Pārejot pie četriem šajā darbā analizētajiem variantiem (rs3814055, rs3732357, rs2276707 un rs3732359), neviens no tiem nebija nozīmīgi saistīts ar anti-TB DILI. Līdzīgos pētījumos, kas veikti aziātu populācijās, iegūti neviennozīmīgi rezultāti par rs3814055 – vienā avotā norādīts, ka pacientiem ar rs3814055 TT genotipu šī nevēlamā blakusparādība attīstījās biežāk, citā publikācijā precizēts, ka rs3814055 T alēles un NAT2 ātrā vai vidēji ātrā acetilatora statusa kombinācija varētu būt predisponējošs faktors (Zazuli et al., 2015; Wang et al., 2022). Vēl kādā pētījumā noteikts protektīvs efekts (Zhang et al., 2019). Iepriekš arī ziņots, ka recesīva ģenētiskā modeļa gadījumā rs2276707 bija saistīts ar zemāku

prettuberkulozes terapijas izraisītas hepatotoksicitātes risku, taču šī likumsakarība joprojām nav apstiprināta citās populācijās (Yang et al., 2020).

Šī pētījuma stiprā puse ir tā dizains, kas ļāva novērtēt atlasīto gēnu variantu klīnisko efektu, izslēdzot citu veselības stāvokļu ietekmi. Blakus slimību radītās fizioloģiskās izmaiņas un to ārstēšanai lietotie medikamenti varētu ietekmēt prettuberkulozes zāļu FK un to izraisīto nevēlamo blakusparādību attīstību. Vienlaikus, ņemot vērā, ka pētījums tika veikts valstī ar zemu TB izplatību (provizoriskā incidence 2024. gadā: 15 gadījumi uz 100 000 iedzīvotāju; kopējais iedzīvotāju skaits – 1,8 miljoni), izmantotie izslēgšanas kritēriji ievērojami samazināja pētījumā potenciāli iekļaujamo pacientu skaitu (Centre for Disease Prevention and Control of Latvia, 2025). Līdz ar to pētāmās populācijas lielums un izmantotais NGS protokols bija ierobežojošie faktori, kas noteica analizējamo gēnu variantu kopu. Šī iemesla dēļ arī nebija iespējams pārbaudīt, piemēram, vai *SLCO1B1* gēna variants rs4149032, kas atrodas dziļi intronā jeb > 2 kb attālumā no eksona–intronu robežas, ir saistīts ar pazeminātu RIF koncentrāciju plazmā, kā norādīts kādā avotā (Chigutsa et al., 2011). Jāatzīmē, ka šie ierobežojumi neattiecas uz reti sastopamiem gēnu variantiem, piemēram, *AADAC* variantu rs61733692, kurš izraisa terminējošā kodona zudumu un kura retāk sastopamās alēles biežums Eiropas populācijā ir < 1 %. Šādos gadījumos pētāmās populācijas paplašināšana, visticamāk, nepalielinātu statistisko jaudu, kas citkārt ļautu pārbaudīt, vai ar *AADAC*3* (rs1803155 + rs61733692)/*AADAC*3* diplotipu saistītā enzīma aktivitātes samazināšanās, kas novērota *in vitro* eksperimentos, ir klīniski nozīmīga (Shimizu et al., 2012). Neskatoties uz šiem ierobežojumiem un uzsverot šī darba novitāti, daži no analizētajiem gēnu variantiem iepriekš nav pētīti pacientiem ar TB. Visbeidzot, novērtējot asins bioķīmiskos parametrus tikai vienā laika punktā īsi pēc prettuberkulozes terapijas uzsākšanas, pastāv risks neatklāt DILI gadījumus, kas attīstījušies vēlāk terapijas laikā. Tomēr jāņem vērā, ka pētījuma centrālā interese bija RIF izraisīta hepatotoksicitāte, kuras pazīmes un simptomi parasti izpaužas analizētajā laikposmā (Durand et al., 1996; Abbara et al., 2017).

Kopumā pašreizējie pierādījumi liecina, ka aplūkoto variantu, kas atrodas četros RIF farmakogēnos (*SLCO1B1*, *SLCO1B3*, *ABCB1* un *NR1I2*), būtiski neietekmē RIF koncentrāciju plazmā un nav saistīti ar prettuberkulozes zāļu izraisītas hepatotoksicitātes attīstību. Novērotās neatbilstības starp *in vitro* un *in vivo* pētījumu rezultātiem liecina, ka šo gēnu variantu bioloģisko efektu, iespējams, mazina dažādi kompensācijas mehānismi vai ietekmē citi ar pacientu saistīti faktori. Turklāt *in vivo* pētījumu rezultātu neatbilstība, visticamāk, ir saistīta ar pētījumu dizaina un pētāmo populāciju atšķirībām. Svarīgi piebilst, ka šajā pētījumā tika identificēta iepriekš nedokumentēta saistība starp *NR1I2* gēna variantu rs3732357 un RIF

koncentrāciju plazmā. Tādējādi var uzskatīt, ka šī promocijas darba pirmā hipotēze daļēji apstiprinājās.

Ar pacientu un slimību saistīto faktoru ietekme uz agrīnām seruma CRP koncentrācijas izmaiņām un to saistība ar atbildes reakciju uz terapiju

Ņemot vērā prettuberkulozes terapijas sarežģītību un laiku, kas nepieciešams infekcijas pilnīgai izskaušanai, terapijas atbildes reakcijas uzraudzībai un agrīnai to pacientu identificēšanai, kuriem ir terapijas neveiksmes risks, ir izšķiroša nozīme terapeitisko mērķu sasniegšanā. Saskaņā ar PVO vadlīnijām pacientiem, kuri saņem terapiju DS-TB ārstēšanai, līdz otrā terapijas mēneša beigām būtu jānovēro klīnisks uzlabojums, bet krēpu iztriepes mikroskopijas un krēpu uzsējuma atradēm būtu jābūt negatīvām (WHO, 2022b). Aplēses liecina, ka aptuveni 20 % pacientu nerasniedz šo īstermiņa mērķi un piedzīvo novēlotu bakterioloģisko atbildes reakciju, kas norāda uz ierobežotu antibakteriālo efektu un paaugstinātu terapijas neveiksmes vai recidīva risku turpmākajos mēnešos (Calderwood et al., 2021).

Seruma CRP koncentrācijas noteikšana ir plaši izmantota pieeja iekaisuma novērtēšanai un uzraudzībai dažādu akūtu un hronisku stāvokļu gadījumā (Sproston & Ashworth, 2018). Pastiprināta CRP veidošanās ir dabiska organisma reakcija uz infekciju vai audu bojājumiem, ko mediē makrofāgi (Sproston & Ashworth, 2018). Aktivācijas rezultātā makrofāgi izdala proinflatamos citokīnus interleikīnu 1 beta (IL-1 β), interleikīnu 6 (IL-6) un tumora nekrozes faktoru alfa (TNF- α), kas stimulē šī akūtās fāzes proteīna sintēzi cilvēka hepatocītos (Sproston & Ashworth, 2018). TB kontekstā CRP izmantošana nesen tika apstiprināta aktīvas infekcijas skrīningam personām ar HIV, un joprojām tiek izvērtēta tā potenciālā lietderība terapijas atbildes reakcijas uzraudzībai pacientiem, kuri saņem prettuberkulozes terapiju (Djoba et al., 2008; Miranda et al., 2017; Sigal et al., 2017; Musteikienė et al., 2021; WHO, 2021). Jāņem vērā, ka CRP raksturīga nespecifiska ekspresija un tā seruma koncentrācija sešu mēnešu terapijas laikā var ievērojami svārstīties, kas norāda uz šī biomarķiera piemērotību īstermiņa, nevis ilgtermiņa, efektu prognozēšanai (Sproston & Ashworth, 2018).

Šajā darbā vispirms tika analizēta dažādu pacienta faktoru ietekme uz seruma CRP koncentrāciju, kas tika noteikta pirms prettuberkulozes terapijas uzsākšanas (CRP_b) (Wener et al., 2000; Khera et al., 2005; Ohsawa et al., 2005; Wyczalkowska Tomasik et al., 2016). Pētāmajā populācijā (N = 42) bioloģiskajam dzimumam, vecumam un smēķēšanas statusam tika konstatēta niecīga ietekme, bet ķermeņa masas indekss (ĶMI) uzrādīja vidēju negatīvu korelāciju ar šī biomarķiera koncentrāciju. Lai gan rezultāts tikai tuvojās statistiskai nozīmībai, CRP_b koncentrācija starp pacientiem ar nepietiekamu ķermeņa masu un tiem, kuriem bija lieka ķermeņa masa vai aptaukošanās, atšķīrās 10 reizes. Literatūrā norādīts, ka pacientiem bez TB

parasti tiek novērots pretējs efekts – CRP koncentrācija serumā paaugstinās proporcionāli KMI (Onwubalili, 1988; Visser et al., 1999; Lönnroth et al., 2010). Uzturs ietekmē gan iedzimto, gan iegūto imunitāti un TB gadījumā nosaka organisma uzņēmību pret infekciju, kā arī spēju ierobežot jau esošu infekciju (Gupta et al., 2009; Chandrasekaran et al., 2017; Cho et al., 2022). Pacientiem ar TB bieži novēro apetītes zudumu un ķermeņa masas samazināšanos, un izteikti zema ķermeņa masa ir saistīta ar smagāku slimības norisi, novēlotu atbildes reakciju un terapijas neveiksmi (Hoyt et al., 2019; Diktanas et al., 2018; Kornfeld et al., 2020; Sinha et al., 2023).

Raksturojot TB klīnisko pazīmju saistību ar seruma CRP_b koncentrāciju, vairāki autori ir ziņojuši, ka šī biomarkiera koncentrācija atspoguļo slimības smaguma pakāpi un atbilst radioloģiskajām un bakterioloģiskajām atradēm diagnozes noteikšanas brīdī (Djoba et al., 2008; Furuhashi et al., 2012; Brown et al., 2016; Sigal et al., 2017; Azam et al., 2022). Arī šajā pētījumā plaušu kavitācijas radioloģiskajos izmeklējumos un pozitīva krēpu iztriepes mikroskopijas atrade, kas potenciāli norāda uz smagiem plaušu bojājumiem ar lielu baktēriju slodzi, bija saistīta ar augstāku seruma CRP_b koncentrāciju. Papildus atsevišķos avotos norādīts, ka šī biomarkiera koncentrācija var atšķirties atkarībā no infekcijas skartās plaušu zonas izmēra, taču ne šajā, ne līdzīgos pētījumos šāda likumsakarība netika novērota (Djoba et al., 2008; Furuhashi et al., 2012; Mendy et al., 2016; Kumar et al., 2019; Musteikienie et al., 2021). Iespējamais šo neatbilstību skaidrojums ir metodoloģiskas atšķirības, izvērtējot TB skarto plaušu zonu.

Pēc tam šajā pētījumā tika analizētas seruma CRP koncentrācijas izmaiņas 10–12 dienas pēc prettuberkulozes terapijas uzsākšanas un to spēja prognozēt bakterioloģisko atbildes reakciju. Šāds laikposms tika izvēlēts, jo citā pētījumā secināts, ka šī biomarkiera koncentrācijas samazinājums mazāk par 55 % pirmo divu terapijas nedēļu laikā bija saistīts ar hospitalizāciju un nāvi pacientiem ar TB-HIV koinfekciju (Wilson et al., 2018). Papildus tam 10.–12. terapijas diena ir agrākais brīdis, kad iespējams objektīvi novērtēt prettuberkulozes zāļu koncentrāciju plazmā, jo ir sasniegta līdzsvara koncentrācija (Tostmann et al., 2013).

Pēc 10–12 dienām seruma CRP koncentrācijas mediāna pētāmajā populācijā samazinājās no 21,9 līdz 6,4 mg/l, sasniedzot pētījuma centrā izmantoto references diapazonu < 8 mg/l. Šie rezultāti atbilst citu autoru ziņojumiem par ievērojamu seruma CRP koncentrācijas kritumu laikā starp pirmo un piekto prettuberkulozes terapijas nedēļu (Djoba et al., 2008; Miranda et al., 2017; Wilson et al., 2018; Musteikienė et al., 2021). Turpmāko analīžu gaitā tika noskaidrots, ka pacientiem ar nepietiekamu ķermeņa masu, smēķētājiem, kā arī pacientiem, kuriem sākotnējās izmeklēšanas laikā tika konstatētas plaušu kavitācijas un pozitīva krēpu iztriepes mikroskopijas atrade, bija nozīmīgs šī biomarkiera koncentrācijas samazinājums salīdzinājumā ar sākumstāvokli; vienlaikus seruma CRP

koncentrācija 10–12 dienas pēc prettuberkulozes terapijas uzsākšanas (CRP_{10–12d}) saglabājās virs mērķa diapazona. Kā jau tika minēts iepriekš, nepietiekama ķermeņa masa un smēķēšana pastiprina TB izraisīto iekaisumu, savukārt norādītās radioloģiskās un bakterioloģiskās atrades, kas raksturīgas smagai TB, parasti pavada ievērojams iekaisums (Djoba et al., 2008; Furuhashi et al., 2012; Chandrasekaran et al., 2017; Opolot et al., 2017; Sigal et al., 2017). Turklāt literatūras dati liecina, ka šie paši faktori ir saistīti ar lēnāku baktēriju slodzes samazināšanos krēpās (Nijenbandring de Boer et al., 2014; Kanda et al., 2015; Diktanas et al., 2018; Hernandez-Romieu et al., 2019; Kornfeld et al., 2020). Likumsakarīgi, ka pacientiem ar šo faktoru kombināciju var būt nepieciešams ilgāks laiks, lai atveseļotos un seruma CRP koncentrācija normalizētos. Tikmēr pētāmās populācijas struktūras īpatnību dēļ (81 % pacientu bija jaunāki par 60 gadiem), iespējams, netika novērota saistība starp vecumu un šī biomarkķiera koncentrāciju. Vienlaikus jāatzīmē interesanta tendence, ka 60 gadu veciem un vecākiem pacientiem pētītajā laika posmā šī biomarkķiera koncentrācija būtiski nesamazinājās. Atšķirīgo seruma CRP koncentrācijas izmaiņu dinamiku gados vecākiem pacientiem varētu skaidrot ar novecošanās ietekmi uz imūnsistēmu (angl. *immunosenescence*) un iekaisumu (angl. *inflammaging*) (Li et al., 2023). Citi pētījumi liecina, ka gados vecākiem indivīdiem iekaisuma stimuli izraisa intensīvāku un ilgstošāku IL-1 β , IL-6 un TNF- α sekrēciju, kas attiecīgi pastiprina šī biomarkķiera sintēzi (Li et al., 2023). Novecošanās ietekmē arī imūnsistēmas šūnu, piemēram, makrofāgu un CD4+ T limfocītu (galveno šūnu, kas īsteno aizsardzību pret *M. tuberculosis*), darbību, tādējādi samazinot organisma spēju ātri ierobežot un izskaust infekciju (O'Garra et al., 2013; Li et al., 2023).

Pašlaik nav klīnisko vadlīniju, kas noteiktu vēlamo seruma CRP koncentrācijas samazinājuma modeli vai laikposmu, kurā šī biomarkķiera koncentrācijai būtu jāatgriežas normas robežās pēc prettuberkulozes terapijas uzsākšanas. Šī iemesla dēļ pacientu stratificēšana un šī biomarkķiera koncentrācijas izmaiņu kategorizēšana pētījumā paredzētajām apakšgrupu analīzēm tika īstenota, pielāgojot citā avotā piedāvāto pieeju (Wilson et al., 2018). Konkrētāk, 31,7 % pacientu seruma CRP koncentrācija abos laika punktos bija mērķa diapazonā (A grupa), 34,1 % pacientu seruma CRP koncentrācija samazinājās ≥ 2 reizes, salīdzinot ar sākotnējo koncentrāciju, vai sasniedza mērķa diapazonu (B grupa), bet atlikušie 34,1 % nesasniedza izvirzīto mērķi, t. i., šī biomarkķiera koncentrācija samazinājās < 2 reizes vai pieauga (C grupa). Veicot grupu savstarpēju salīdzināšanu, tika noteikts, ka C grupas pacientiem biežāk nekā A un B grupas pacientiem diagnozes noteikšanas brīdī bija plaušu kavitācijas un pozitīva krēpu iztriepes mikroskopijas atrade. Iegūtie rezultāti atkārtoti apstiprina primāro analīžu laikā novēroto, ka slimības smagums ietekmē agrīnās iekaisuma izmaiņas.

Vēl viens faktors, kas tika pētīts TB izraisītā iekaisuma kontekstā, bija prettuberkulozes zāļu koncentrācija plazmā, kuras raksturošanai tika izmantoti C_{\max} un AUC_{0-6h} parametri. Veicot LC-MS/MS analīzi, tika noskaidrots, ka ievērojamai daļai pacientu prettuberkulozes zāļu C_{\max} plazmā nerasniedza terapeitisko diapazonu. Vislielākais pacientu īpatsvars ar nepietiekamu zāļu koncentrāciju plazmā tika reģistrēts RIF gadījumā (92,5 %), kam sekoja INH (54,8 %), ETB (26,2 %) un PZA (9,5 %). Šie rezultāti ir salīdzināmi ar citu autoru ziņoto un atkārtoti apliecinā, ka pašlaik izmantotie terapeitiskie zāļu diapazoni ievērojami atšķiras no klīniskajā vidē dokumentētās prettuberkulozes zāļu koncentrācijas plazmā (Alsultan & Peloquin, 2014; Fahimi et al., 2013; Pasipanodya et al., 2013; Prahl et al., 2014; Kloprogge et al., 2020; Ramachandran et al., 2020). Interesanti, ka šajā pētījumā acīmredzot zāļu koncentrācija infekcijas perēkļos bija pietiekama, lai nodrošinātu agrīnu antibakteriālu efektu, uz ko norāda nozīmīgais seruma CRP koncentrācijas samazinājums. Šo novērojumu varētu skaidrot ar zāļu izplatīšanās atšķirībām dažādos ķermeņa nodaļumos. Iepriekš vairākos pētījumos ir dokumentēta prettuberkulozes zāļu uzkrāšanās plaušu epitēlija šķidrums un alveolārajās šūnās dažādā apjomā, vienlaikus konstatējot salīdzinoši zemāku koncentrāciju plazmā un serumā, kas nereti pat nerasniedza terapeitisko diapazonu (Ziglam et al., 2002; McCallum et al., 2021; McCallum et al., 2022).

Turpmākajās analīzēs netika konstatēta saistība starp četrus pētīto prettuberkulozes zāļu koncentrāciju plazmā un seruma CRP_{10-12d} koncentrāciju. Papildus tam, stratificējot pacientus pēc divkārsā seruma CRP koncentrācijas samazinājuma kritērija izpildes, analizētie FK parametri A, B un C grupā būtiski neatšķīrās. Turpretim agrāk veiktā pētījumā ziņots par apgrieztu korelāciju starp INH C_{\max} un CRP koncentrāciju serumā (Prahl et al., 2014). Iegūto rezultātu neatbilstības cēlonis varētu būt ievērojamas pētījumu dizaina un pētāmo populāciju atšķirības. Šajā pētījumā laikposms starp terapijas uzsākšanu un paraugu ņemšanu FK analīzēm bija konstants un pētāmā populācija bija homogēna etniskās piederības, rases, TB formas, blakusslimību, ārstēšanas režīma un izmantotās zāļu formas ziņā. Turklāt literatūras dati liecina, ka vairāki no minētajiem faktoriem ietekmē prettuberkulozes zāļu FK (Walubo et al., 1991; McIlleron et al., 2006; Nijland et al., 2006; Weiner et al., 2010; Milán Segovia et al., 2013).

Visbeidzot, analizējot laiku līdz negatīvai krēpu uzsējuma atradei (angl. *time to sputum culture conversion*, tSCC), šajā darbā tika izvērtēts, vai seruma CRP_{10-12d} koncentrācija un seruma CRP koncentrācijas samazinājuma modelis prettuberkulozes terapijas agrīnajā posmā spēj prognozēt bakterioloģisko atbildes reakciju. Pētāmās populācijas struktūra un blakusslimību neesamība, visticamāk, noteica relatīvi īsu tSCC (tSCC mediāna: 56 dienas) arī pacientiem, kuriem noteiktajā laikposmā netika novērota strauja seruma CRP koncentrācijas samazināšanās (tSCC mediāna: 66 dienas C grupā salīdzinājumā ar 46 dienām A un B grupā).

Lai gan pacientiem ar novēlotu bakterioloģisko atbildes reakciju ($tSCC \geq 60$ dienas) tika dokumentēta augstāka seruma CRP_{10-12d} koncentrācija salīdzinājumā ar pacientiem, kuri uzrādīja ātru atbildes reakciju ($tSCC < 60$ dienas), šī atšķirība nebija statistiski nozīmīga. Līdzīgi arī Koksa regresijas analīzes rezultāti neliecināja, ka kāds no pētītajiem parametriem varētu kalpot par neatkarīgu $tSCC$ prognostisko faktoru. Domājams, ka seruma CRP koncentrācijas izmaiņas spēj atspoguļot terapijas ietekmi, taču CRP nespecifiskās ekspresijas dēļ tās ir pārāk dinamiskas, lai ticami prognozētu bakterioloģisko atbildes reakciju uz prettuberkulozes terapiju (Sproston & Ashworth, 2018). Divos līdzīgos pētījumos secināts, ka pacientiem ar $tSCC > 30$ dienām iespējama augstāka seruma CRP_b koncentrācija, taču šī biomarkiera spēja prognozēt krēpu uzsējuma statusu vai terapijas iznākumu ir ierobežota (Musteikienė et al., 2017; Musteikienė et al., 2021). Vēl kādā publikācijā norādīts, ka seruma CRP koncentrācijas attiecība starp 8. un 0. nedēļu bija ciešāk saistīta ar krēpu uzsējuma statusu 8. nedēļā nekā 12. nedēļā, taču, analizējot dažādas CRP saturošas biomarkieru kombinācijas, nevienai no tām nekonstatēja pietiekami augstu prognostisko vērtību (Sigal et al., 2017). Citā pētījumā, izvērtējot dažādas biomarkieru kombinācijas, identificēja biomarkieru kombināciju, kas ietvēra seruma CRP koncentrāciju sākumstāvoklī un 1. nedēļā un ļāva prognozēt krēpu uzsējuma statusu 2. mēnesī ar vairāk nekā 80 % precizitāti (Djoba et al., 2008). Jāatzīmē, ka zāļu rezistentās TB gadījumā arī ir aprakstīta biomarkieru kombinācija ar CRP, kas spēj prognozēt novēlotu bakterioloģisko atbildes reakciju, taču tās veiktspēja pagaidām nav pārbaudīta citos pētījumos (Ferrian et al., 2017).

Šī pētījuma stiprā puse ir dažādu datu avotu izmantošana, kas ļāva padziļināti raksturot saistību starp vairākiem ar pacientu un slimību saistītiem faktoriem un TB izraisītu iekaisumu. Turklāt, iesaistot pētījumā pacientus bez blakusslimībām, bija iespējams precīzāk novērtēt seruma CRP koncentrācijas izmaiņu dinamiku un uzsvērt citu veselības stāvokļu iespējamo ietekmi.

Par šī pētījuma ierobežojumu uzskatāms relatīvi nelielais izlases apjoms, par ko jau tika diskutēts iepriekš aprakstītajā pētījumā, kurā vērtēta PGx faktoru loma RIF FK un anti-TB DILI attīstībā. Šajā pētījumā izlases apjoma īpatnību dēļ tika novērots datu asimetrisks sadalījums un nevienmērīgs sadalījums pētītajās apakškategoriās, kas prasīja sarežģītu datu statistiskās apstrādes pieeju izmantošanu. Tāpat jāatzīmē, ka pētāmajā populācijā netika konstatēti terapijas neveiksmes gadījumi vai nopietni nevēlami notikumi, tāpēc analizēto CRP parametru prognostiskā vērtība šajā kontekstā netika izvērtēta. Papildus nebija pieejami dati par pacientu *M. tuberculosis* izolātiem, tai skaitā par minimālo inhibējošo koncentrāciju (MIK), kas ļautu ņemt vērā celma īpašības un izolātu jutību pret zālēm. Iepriekš citi autori norādījuši, ka kombinētie parametri, piemēram, C_{max}/MIK , varētu būt lietderīgi bakterioloģiskās atbildes

reakcijas un terapijas iznākuma prognozēšanai pacientiem ar DS-TB (Chigutsa et al., 2011; Fahimi et al., 2013; Zheng et al., 2021).

Rezumējot, šajā pētījumā tika identificēti ar pacientu un slimību saistīti faktori, kas ietekmē seruma CRP koncentrācijas samazināšanos īsi pēc prettuberkulozes terapijas uzsākšanas. Lai gan pētītajā laikposmā netika konstatēta nepietiekamas prettuberkulozes zāļu plazmas koncentrācijas ietekme, nevar izslēgt negatīvu klīnisko seku iespējamību terapijas vēlākajos posmos. Visbeidzot, ne seruma CRP_{10-12d} koncentrācija, ne seruma CRP koncentrācijas samazinājuma modeļi, salīdzinot CRP_b un CRP_{10-12d}, nespēja prognozēt bakterioloģisko atbildes reakciju, apšaubot šī biomarķiera koncentrācijas novērtēšanas klīnisko nozīmi terapijas agrīnajā posmā, vismaz praktiski veseliem pieaugušiem pacientiem ar TB. No tā izriet, ka šī promocijas darba otrā hipotēze neapstiprinājās.

Secinājumi

1. Saskaņā ar analītiskās un klīniskās validācijas rezultātiem izstrādātā LC-MS/MS metode ir piemērota vienlaicīgai RIF, PZA, INH un ETB kvantificēšanai cilvēka plazmas paraugos ar iespēju papildus noteikt sešus šo zāļu primāros metabolītus vienas analīzes ietvaros, tādējādi paplašinot FK analīzes iespējas.
2. Izstrādātais NGS balstītais mērķtiecīgās ģenētiskās analīzes protokols ļauj iegūt kvalitatīvus un uzticamus datus un ir piemērots PGx izpētei, ko apliecina *CYP3A4* gēna un piecu RIF farmakogēnu analīze.
3. Izvērtējot 10 variantus, kas identificēti četros RIF farmakogēnos (*SLCO1B1*, *SLCO1B3*, *ABCB1* un *NR1I2*), tika konstatēts, ka *NR1I2* gēna introniskais variants rs3732357 ietekmē RIF koncentrāciju plazmā. Vienlaikus pētījuma rezultāti neliecināja par šo variantu saistību ar anti-TB DILI attīstību pētāmajā populācijā.
4. Vairāki ar pacientu saistīti faktori un slimības smaguma pakāpe diagnozes noteikšanas brīdī, bet ne prettuberkulozes zāļu koncentrācija plazmā, ietekmēja seruma CRP koncentrācijas samazināšanos pirmajās 10–12 terapijas dienās. Agrīnās seruma CRP koncentrācijas izmaiņas nespēja prognozēt bakterioloģisko atbildes reakciju uz prettuberkulozes terapiju.

Priekšlikumi

1. Pamatojoties uz rezultātiem, kas iegūti pētījumā par ģenētisko faktoru ietekmi uz RIF koncentrāciju plazmā un anti-TB DILI attīstību, turpmākajos pētījumos jāapsver:
 - a) *NR112* introniskā varianta rs3732357 *in vitro* funkcionāla raksturošana, lai izskaidrotu mehānismu, kādā veidā šis variants ietekmē RIF PK;
 - b) papildu aknu specifisko biomarķieru, piemēram, sārmainās fosfatāzes, noteikšana, lai precizētu vienlaicīgas RIF, PZA un INH lietošanas izraisīto aknu bojājumu veidu un noskaidrotu, vai ģenētiskie faktori veicina tieši RIF izraisīto aknu bojājumu attīstību.
2. Pētījuma par agrīnām seruma CRP koncentrācijas izmaiņām pēc prettuberkulozes terapijas uzsākšanas rezultāti liecina, ka šī biomarķiera koncentrācijas noteikšana 10.–12. terapijas dienā var būt lietderīga TB izraisītā iekaisuma dinamikas novērtēšanai, taču seruma CRP koncentrācijas samazinājuma modeļi šajā agrīnajā terapijas posmā nespēj prognozēt bakterioloģisko atbildes reakciju. Turpmākajiem pētījumiem jābūt vēršoties uz uzticama biomarķiera vai multimodālu biomarķieru kombināciju identificēšanu, kam būtu cieša saistība ar nozīmīgiem klīniskiem, radioloģiskiem un/vai bakterioloģiskiem mērķa kritērijiem un kas ļautu laikus identificēt pacientus, kuriem pastāv terapijas neveiksmes risks.
3. Ievērojamais pacientu īpatsvars ar nepietiekamu prettuberkulozes zāļu koncentrāciju plazmā, kā arī skaidras saistības neesamība starp zāļu koncentrāciju un agrīnām TB izraisītā iekaisuma izmaiņām, kas tika novērota veiktajos pētījumos, uzsvēr nepieciešamību pēc papildu izpētes, lai labāk izprastu, kā zāļu koncentrācija plazmā atspoguļo situāciju infekcijas perēklī. Iegūtā informācija varētu sekmēt terapeitisko zāļu koncentrāciju precizēšanu, kas pašlaik tiek uzskatītas par pārāk augstām. Turklāt klīniski nozīmīgu robežvērtību noteikšana palielinātu TDM lietderību prettuberkulozes terapijas efektivitātes un drošības novērtēšanā.

Publikāciju un ziņojumu saraksts par promocijas darba tēmu

Publikācijas:

1. **Kivrane, A.**, Grinberga, S., Sevostjanovs, E., Igumnova, V., Pole, I., Viksna, A., Bandere, D., Krams, A., Cīrule, A., Pugovics, O., & Ranka, R. (2021). LC-MS/MS method for simultaneous quantification of the first-line anti-tuberculosis drugs and six primary metabolites in patient plasma: Implications for therapeutic drug monitoring. *Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences*, 1185, 122986. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2021.122986>
2. **Kivrane, A.**, Igumnova, V., Kimsis, J., Freimane, L., Sadovska, D., Viksna, A., Pole, I., & Ranka, R. (2021). Implementation of a next-generation sequencing-based targeted approach for full-length CYP3A4 gene sequencing. *Pharmacogenomics*, 22(9), 519–527. <https://doi.org/10.2217/pgs-2020-0128>
3. **Kivrane, A.**, Ulanova, V., Grinberga, S., Sevostjanovs, E., Viksna, A., Ozere, I., Bogdanova, I., Zolovs, M., & Ranka, R. (2024). Exploring Variability in Rifampicin Plasma Exposure and Development of Anti-Tuberculosis Drug-Induced Liver Injury among Patients with Pulmonary Tuberculosis from the Pharmacogenetic Perspective. *Pharmaceutics*, 16(3), 388. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16030388>
4. **Kivrane, A.**, Ulanova, V., Grinberga, S., Sevostjanovs, E., Viksna, A., Ozere, I., Bogdanova, I., Simanovica, I., Norvaisa, I., Pahirko, L., Bandere, D., & Ranka, R. (2024). Identification of Factors Determining Patterns of Serum C-Reactive Protein Level Reduction in Response to Treatment Initiation in Patients with Drug-Susceptible Pulmonary Tuberculosis. *Antibiotics*, 13(12), 1216. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13121216>

Ziņojumi un tēzes:

1. **Kivrane, A.**, Igumnova, V., Kimsis, J., Freimane, L., Sadovska, D., Viksna, A., Pole, I., & Ranka, R. (2021, March 24–26). *Next-generation sequencing-based targeted-sequencing approach for the full-length CYP3A4 gene sequencing* [Poster abstract]. RSU International Conference on Medical and Health Care Sciences: Knowledge for Use in Practice, Riga, Latvia. Hybrid event. Abstract book, 442.
2. **Kivrane, A.**, Igumnova, I., Grinberga, S., Sevostjanovs, E., Viksna, A., Ozere, I., Bandere, D., & Ranka, R. (2021, October 19–22). *First-line anti-tuberculosis drug exposure in newly diagnosed TB patients: Latvian perspective* [Poster abstract]. 52nd World Conference on Lung Health of the International Union Against Tuberculosis and Lung Diseases: TBScience 2021. Virtual event. In: *Int J Tuberc Lung Dis*, 25(S2), S425.
3. **Kivrane, A.**, Igumnova, V., Viksna, A., Simanovica, I., Ozere, I., Pole, I., Bandere, D., & Ranka, R. (2022, March 25–26). *Assessment of complete blood count-derived marker association with pulmonary tuberculosis severity and treatment response* [Oral presentation]. International Scientific Conference on Medicine organized within the frame of the 80th International Scientific Conference of the University of Latvia. Virtual event. In: *Medicina (Kaunas)*, 58(S1), 48.
4. **Kivrane, A.**, Igumnova, V., Viksna, A., Simanovica, I., Ozere, I., Pole, I., Bandere, D., & Ranka, R. (2022, July 9–14). *The utility of complete blood count-derived markers for characterising pulmonary tuberculosis severity and prediction of treatment response* [Poster abstract]. The Biochemistry Global Summit Lisbon, The 46th FEBS congress, Lisbon, Portugal. In: *FEBS Open Bio*, 12(S1), 160.
5. **Kivrane, A.**, Ulanova, V., Grinberga, S., Sevostjanovs, E., Viksna, A., Pole, I., Ozere, I., Bogdanova, I., Zolovs, M., Bandere, D., & Ranka, R. (2023, March 27–31). *Assessment of rifampicin exposure in Latvian pulmonary tuberculosis patients in the context with the AADAC genetic polymorphisms* [Poster abstract]. RSU International Conference on Medical and Health Care Sciences: Knowledge for Use in Practice, Riga, Latvia. In: *Medicina (Kaunas)*, 59(S2), 351.

6. **Kivrane, A.**, Ulanova, V., Grinberga, S., Sevostjanovs, E., Viksna, A., Pole, I., Ozere, I., Bogdanova, I., Zolovs, M., Bandere, D., & Ranka, R. (2023, June 14–16). *Assessment of four first-line anti-tuberculosis drug exposure in pulmonary tuberculosis patients with drug-induced hepatotoxicity* [Poster abstract]. Second Nordic Conference Personalized Medicine, Turku, Finland. In: *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, 132(S1), 19–20.
7. **Kivrane, A.**, Ulanova, V., Grinberga, S., Sevostjanovs, E., Viksna, A., Bogdanova, I., Pahirko, L., Bandere, D., & Ranka, R. (2024, June 8–11). *Identification of factors determining patterns of serum CRP level reduction in response to anti-tuberculosis treatment initiation* [Poster abstract]. 16th congress of the European Association for Clinical Pharmacology and Therapeutics: WHO Step 6. Monitoring outcome and compliance, Rotterdam, Netherlands. Abstract book, 273–274.
8. **Kivrane, A.**, Ulanova, V., Sadovska, D., Viksna, A., Ozere, I., Bogdanova, I., Simanovica, I., Norvaisa, I., & Ranka, R. (2025, June 22–15). *Exploring patterns of serum CRP level reduction in response to treatment initiation in Latvian patients with pulmonary tuberculosis: the impact of Mycobacterium tuberculosis genotype* [Poster abstract]. 45th annual congress of the European Society of Mycobacteriology, Lisbon, Portugal. Abstract book, 59.

Literatūras un avotu saraksts

1. Abbara, A., Chitty, S., Roe, J. K., Ghani, R., Collin, S. M., Ritchie, A., Kon, O. M., Dzvova, J., Davidson, H., Edwards, T. E., Hateley, C., Routledge, M., Buckley, J., Davidson, R. N., & John, L. (2017). Drug-induced liver injury from antituberculous treatment: a retrospective study from a large TB centre in the UK. *BMC infectious diseases*, *17*(1), 231. <https://doi.org/10.1186/s12879-017-2330-z>
2. Allegra, S., Fatiguso, G., Calcagno, A., Baietto, L., Motta, I., Favata, F., Cusato, J., Bonora, S., Di Perri, G., & D'Avolio, A. (2017). Role of vitamin D pathway gene polymorphisms on rifampicin plasma and intracellular pharmacokinetics. *Pharmacogenomics*, *18*(9), 865–880. <https://doi.org/10.2217/pgs-2017-0176>
3. Alsultan, A., & Peloquin, C. A. (2014). Therapeutic drug monitoring in the treatment of tuberculosis: an update. *Drugs*, *74*(8), 839–854. <https://doi.org/10.1007/s40265-014-0222-8>
4. Azam, K., Khosa, C., Viegas, S., Massango, I., Bhatt, N., Jani, I., Heinrich, N., Hoelscher, M., Gillespie, S. H., Rachow, A., & Sabiiti, W. (2022). Reduction of blood C-reactive protein concentration complements the resolution of sputum bacillary load in patients on anti-tuberculosis therapy. *Frontiers in immunology*, *13*, 1005692. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1005692>
5. Barraclough, K. A., Isbel, N. M., Lee, K. J., Bergmann, T. K., Johnson, D. W., McWhinney, B. C., Ungerer, J. P., Campbell, S. B., Leary, D. R., Bialasiewicz, S., Rockett, R. J., & Staats, C. E. (2012). NR1I2 polymorphisms are related to tacrolimus dose-adjusted exposure and BK viremia in adult kidney transplantation. *Transplantation*, *94*(10), 1025–1032. <https://doi.org/10.1097/TP.0b013e31826c3985>
6. Brown, J., Clark, K., Smith, C., Hopwood, J., Lynard, O., Toolan, M., Creer, D., Barker, J., Breen, R., Brown, T., Cropley, I., & Lipman, M. (2016). Variation in C - reactive protein response according to host and mycobacterial characteristics in active tuberculosis. *BMC infectious diseases*, *16*, 265. <https://doi.org/10.1186/s12879-016-1612-1>
7. Calderwood, C. J., Wilson, J. P., Fielding, K. L., Harris, R. C., Karat, A. S., Mansukhani, R., Falconer, J., Bergstrom, M., Johnson, S. M., McCreesh, N., Monk, E. J. M., Odayar, J., Scott, P. J., Stokes, S. A., Theodorou, H., & Moore, D. A. J. (2021). Dynamics of sputum conversion during effective tuberculosis treatment: A systematic review and meta-analysis. *PLoS medicine*, *18*(4), e1003566. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1003566>
8. Campbell, S. D., de Morais, S. M., & Xu, J. J. (2004). Inhibition of human organic anion transporting polypeptide OATP 1B1 as a mechanism of drug-induced hyperbilirubinemia. *Chemico-biological interactions*, *150*(2), 179–187. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2004.08.008>
9. Cascorbi I. (2011). P-glycoprotein: tissue distribution, substrates, and functional consequences of genetic variations. *Handbook of experimental pharmacology*, (201), 261–283. https://doi.org/10.1007/978-3-642-14541-4_6
10. Centre for Disease Prevention and Control of Latvia. (2025). Tuberculosis Incidence, Absolute Numbers and per 100,000 Population (Years 2005–2024). Retrieved from <https://www.spkc.gov.lv/lv/tuberkuloze-0#saslimstiba-ar-tuberkulozi-absolutais-skaitis-un-uz-100-000-iedzivotaju-2005-2024-gads> (accessed 25 September 2025)
11. Chan, S. L., Chua, A. P. G., Aminkeng, F., Chee, C. B. E., Jin, S., Loh, M., Gan, S. H., Wang, Y. T., & Brunham, L. R. (2017). Association and clinical utility of NAT2 in the prediction of isoniazid-induced liver injury in Singaporean patients. *PloS one*, *12*(10), e0186200. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186200>
12. Chandrasekaran, P., Saravanan, N., Bethunaickan, R., & Tripathy, S. (2017). Malnutrition: Modulator of Immune Responses in Tuberculosis. *Frontiers in immunology*, *8*, 1316. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01316>
13. Chen, R., Wang, J., Zhang, Y., Tang, S., & Zhan, S. (2015a). Key factors of susceptibility to anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity. *Archives of toxicology*, *89*(6), 883–897. <https://doi.org/10.1007/s00204-015-1473-1>

14. Chen, R., Wang, J., Tang, S., Zhang, Y., Lv, X., Wu, S., Xia, Y., Deng, P., Ma, Y., Tu, D., Chen, D., & Zhan, S. (2015b). Association of polymorphisms in drug transporter genes (SLCO1B1 and SLC10A1) and anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity in a Chinese cohort. *Tuberculosis (Edinburgh, Scotland)*, *95*(1), 68–74. <https://doi.org/10.1016/j.tube.2014.11.004>
15. Chigutsa, E., Visser, M. E., Swart, E. C., Denti, P., Pushpakom, S., Egan, D., Holford, N. H., Smith, P. J., Maartens, G., Owen, A., & McIlleron, H. (2011). The SLCO1B1 rs4149032 polymorphism is highly prevalent in South Africans and is associated with reduced rifampin concentrations: dosing implications. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *55*(9), 4122–4127. <https://doi.org/10.1128/AAC.01833-10>
16. Cho, S. H., Lee, H., Kwon, H., Shin, D. W., Joh, H. K., Han, K., Park, J. H., & Cho, B. (2022). Association of underweight status with the risk of tuberculosis: a nationwide population-based cohort study. *Scientific reports*, *12*(1), 16207. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-20550-8>
17. David, S., & Hamilton, J. P. (2010). Drug-induced Liver Injury. *US gastroenterology & hepatology review*, *6*, 73–80.
18. Devarbhavi, H., Singh, R., Patil, M., Sheth, K., Adarsh, C. K., & Balaraju, G. (2013). Outcome and determinants of mortality in 269 patients with combination anti-tuberculosis drug-induced liver injury. *Journal of gastroenterology and hepatology*, *28*(1), 161–167. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1746.2012.07279.x>
19. Dickinson, J. M., & Mitchison, D. A. (1981). Experimental models to explain the high sterilizing activity of rifampin in the chemotherapy of tuberculosis. *The American review of respiratory disease*, *123*(4 Pt 1), 367–371. <https://doi.org/10.1164/arrd.1981.123.4.367>
20. Diktanas, S., Vasiliauskiene, E., Polubenko, K., Danila, E., Celedinaite, I., Boreikaite, E., & Misiunas, K. (2018). Factors Associated with Persistent Sputum Positivity at the End of the Second Month of Tuberculosis Treatment in Lithuania. *Tuberculosis and respiratory diseases*, *81*(3), 233–240. <https://doi.org/10.4046/trd.2017.0096>
21. Djoba Siawaya, J. F., Bapela, N. B., Ronacher, K., Veenstra, H., Kidd, M., Gie, R., Beyers, N., van Helden, P., & Walzl, G. (2008). Immune parameters as markers of tuberculosis extent of disease and early prediction of anti-tuberculosis chemotherapy response. *The Journal of infection*, *56*(5), 340–347. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2008.02.007>
22. Dompok, A., Tang, X., Zhou, J., Yang, H., Topletz, A., Adu Ahwireng, E., Antwi, S., Enimil, A., Langae, T., Peloquin, C. A., Court, M. H., & Kwara, A. (2018). Effect of Genetic Variation of *NAT2* on Isoniazid and *SLCO1B1* and *CES2* on Rifampin Pharmacokinetics in Ghanaian Children with Tuberculosis. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *62*(3), e02099-17. <https://doi.org/10.1128/AAC.02099-17>
23. Dong, Y., Xu, Q., Li, R., Tao, Y., Zhang, Q., Li, J., Ma, Z., Shen, C., Zhong, M., Wang, Z., & Qiu, X. (2022). CYP3A7, CYP3A4, and CYP3A5 genetic polymorphisms in recipients rather than donors influence tacrolimus concentrations in the early stages after liver transplantation. *Gene*, *809*, 146007. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2021.146007>
24. Durand, F., Jebrak, G., Pessayre, D., Fournier, M., & Bernuau, J. (1996). Hepatotoxicity of antitubercular treatments. Rationale for monitoring liver status. *Drug safety*, *15*(6), 394–405. <https://doi.org/10.2165/00002018-199615060-00004>
25. Elens, L., Capron, A., van Schaik, R. H., De Meyer, M., De Pauw, L., Eddour, D. C., Latinne, D., Wallemacq, P., Mourad, M., & Haufroid, V. (2013). Impact of CYP3A4*22 allele on tacrolimus pharmacokinetics in early period after renal transplantation: toward updated genotype-based dosage guidelines. *Therapeutic drug monitoring*, *35*(5), 608–616. <https://doi.org/10.1097/FTD.0b013e318296045b>
26. European Medicines Agency. (2012). Guideline on bioanalytical method validation, EMEA/CHMP/EWP/192217/2009 Rev. 1 Corr. 2**. Retrieved from https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-bioanalytical-method-validation_en.pdf. (accessed 16 July 2024)

27. Fahimi, F., Tabarsi, P., Kobarfard, F., Bozorg, B. D., Goodarzi, A., Dastan, F., Shahsavari, N., Emami, S., Habibi, M., & Salamzadeh, J. (2013). Isoniazid, rifampicin and pyrazinamide plasma concentrations 2 and 6 h post dose in patients with pulmonary tuberculosis. *The international journal of tuberculosis and lung disease: the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease*, *17*(12), 1602–1606. <https://doi.org/10.5588/ijtld.13.0019>
28. Ferrian, S., Manca, C., Lubbe, S., Conradie, F., Ismail, N., Kaplan, G., Gray, C. M., & Fallows, D. (2017). A combination of baseline plasma immune markers can predict therapeutic response in multidrug resistant tuberculosis. *PloS one*, *12*(5), e0176660. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176660>
29. Francis, J., Zvada, S. P., Denti, P., Hatherill, M., Charalambous, S., Mungofa, S., Dawson, R., Dorman, S., Gupte, N., Wiesner, L., Jindani, A., Harrison, T. S., Olagunju, A., Egan, D., Owen, A., & McIlleron, H. M. (2019). A Population Pharmacokinetic Analysis Shows that Arylacetamide Deacetylase (AADAC) Gene Polymorphism and HIV Infection Affect the Exposure of Rifapentine. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *63*(4), e01964-18. <https://doi.org/10.1128/AAC.01964-18>
30. Furuhashi, K., Shirai, T., Suda, T., & Chida, K. (2012). Inflammatory markers in active pulmonary tuberculosis: association with Th1/Th2 and Tc1/Tc2 balance. *Kekkaku: [Tuberculosis]*, *87*(1), 1–7.
31. Gaedigk, A., Casey, S. T., Whirl-Carrillo, M., Miller, N. A., & Klein, T. E. (2021). Pharmacogene Variation Consortium: A Global Resource and Repository for Pharmacogene Variation. *Clinical pharmacology and therapeutics*, *110*(3), 542–545. <https://doi.org/10.1002/cpt.2321>
32. Gao, S., Wang, Z., Xie, X., You, C., Yang, Y., Xi, Y., & Chen, W. (2018). Rapid and sensitive method for simultaneous determination of first-line anti-tuberculosis drugs in human plasma by HPLC-MS/MS: Application to therapeutic drug monitoring. *Tuberculosis (Edinburgh, Scotland)*, *109*, 28–34. <https://doi.org/10.1016/j.tube.2017.11.012>
33. Günther, G., Guglielmetti, L., Leu, C., Lange, C., van Leth, F., & Tuberculosis Network European Trials group (2023). Availability and costs of medicines for the treatment of tuberculosis in Europe. *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, *29*(1), 77–84. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2022.07.026>
34. Gupta, K. B., Gupta, R., Atreja, A., Verma, M., & Vishvkarma, S. (2009). Tuberculosis and nutrition. *Lung India: official organ of Indian Chest Society*, *26*(1), 9–16. <https://doi.org/10.4103/0970-2113.45198>
35. He, P., Court, M. H., Greenblatt, D. J., & von Moltke, L. L. (2006). Human pregnane X receptor: genetic polymorphisms, alternative mRNA splice variants, and cytochrome P450 3A metabolic activity. *Journal of clinical pharmacology*, *46*(11), 1356–1369. <https://doi.org/10.1177/0091270006292125>
36. Hee, K. H., Seo, J. J., & Lee, L. S. (2015). Development and validation of liquid chromatography tandem mass spectrometry method for simultaneous quantification of first line tuberculosis drugs and metabolites in human plasma and its application in clinical study. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, *102*, 253–260. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2014.09.019>
37. Hernandez-Romieu, A. C., Little, B. P., Bernheim, A., Schechter, M. C., Ray, S. M., Bizune, D., & Kempker, R. (2019). Increasing Number and Volume of Cavitory Lesions on Chest Computed Tomography Are Associated With Prolonged Time to Culture Conversion in Pulmonary Tuberculosis. *Open forum infectious diseases*, *6*(6), ofz232. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofz232>
38. Hirvensalo, P., Tornio, A., Launiainen, T., Paile-Hyvärinen, M., Tapaninen, T., Neuvonen, M., Backman, J. T., & Niemi, M. (2020). UGT1A3 and Sex Are Major Determinants of Telmisartan Pharmacokinetics-A Comprehensive Pharmacogenomic Study. *Clinical pharmacology and therapeutics*, *108*(4), 885–895. <https://doi.org/10.1002/cpt.1928>
39. Hoyt, K. J., Sarkar, S., White, L., Joseph, N. M., Salgame, P., Lakshminarayanan, S., Muthaiah, M., Vinod Kumar, S., Ellner, J. J., Roy, G., Horsburgh, C. R., Jr, & Hochberg, N. S. (2019). Effect of malnutrition on radiographic findings and mycobacterial burden in pulmonary tuberculosis. *PloS one*, *14*(3), e0214011. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0214011>

40. Hu, R., Barratt, D. T., Coller, J. K., Sallustio, B. C., & Somogyi, A. A. (2018). CYP3A5*3 and ABCB1 61A>G Significantly Influence Dose-adjusted Trough Blood Tacrolimus Concentrations in the First Three Months Post-Kidney Transplantation. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, *123*(3), 320–326. <https://doi.org/10.1111/bcpt.13016>
41. Huerta-García, A. P., Medellín-Garibay, S. E., Salazar-González, R. A., Ortiz-Álvarez, A., Magaña-Aquino, M., Rodríguez-Pinal, C. J., Portales-Pérez, D. P., Romano-Moreno, S., & Milán-Segovia, R. D. C. (2019). Anthropometric and Genetic Factors Associated With the Exposure of Rifampicin and Isoniazid in Mexican Patients With Tuberculosis. *Therapeutic drug monitoring*, *41*(5), 648–656. <https://doi.org/10.1097/FTD.0000000000000631>
42. Ignatius E.H., & Dooley K.E. (2023). Chemotherapy of tuberculosis and nontuberculous mycobacteria, including leprosy. Brunton L.L., & Knollmann B.C.(Eds.), Goodman & Gilman's: *The Pharmacological Basis of Therapeutics, 14th Edition*. McGraw-Hill Education. <https://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?bookid=3191§ionid=269172224>
43. Jabir, R. S., Naidu, R., Annuar, M. A., Ho, G. F., Munisamy, M., & Stanslas, J. (2012). Pharmacogenetics of taxanes: impact of gene polymorphisms of drug transporters on pharmacokinetics and toxicity. *Pharmacogenomics*, *13*(16), 1979–1988. <https://doi.org/10.2217/pgs.12.165>
44. Kanda, R., Nagao, T., Tho, N. V., Ogawa, E., Murakami, Y., Osawa, M., Saika, Y., Doi, K., & Nakano, Y. (2015). Factors Affecting Time to Sputum Culture Conversion in Adults with Pulmonary Tuberculosis: A Historical Cohort Study without Censored Cases. *PLoS one*, *10*(11), e0142607. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0142607>
45. Khera, A., McGuire, D. K., Murphy, S. A., Stanek, H. G., Das, S. R., Vongpatanasin, W., Wians, F. H., Jr, Grundy, S. M., & de Lemos, J. A. (2005). Race and gender differences in C-reactive protein levels. *Journal of the American College of Cardiology*, *46*(3), 464–469. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2005.04.051>
46. Kim, S. H., Kim, S. H., Lee, J. H., Lee, B. H., Kim, Y. S., Park, J. S., & Jee, Y. K. (2012). Polymorphisms in drug transporter genes (ABCB1, SLCO1B1 and ABCC2) and hepatitis induced by antituberculosis drugs. *Tuberculosis (Edinburgh, Scotland)*, *92*(1), 100–104. <https://doi.org/10.1016/j.tube.2011.09.007>
47. Kim, H. J., Seo, K. A., Kim, H. M., Jeong, E. S., Ghim, J. L., Lee, S. H., Lee, Y. M., Kim, D. H., & Shin, J. G. (2015). Simple and accurate quantitative analysis of 20 anti-tuberculosis drugs in human plasma using liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, *102*, 9–16. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2014.08.026>
48. Kloprogge, F., Mwandumba, H. C., Banda, G., Kamdolozi, M., Shani, D., Corbett, E. L., Kontogianni, N., Ward, S., Khoo, S. H., Davies, G. R., & Sloan, D. J. (2020). Longitudinal Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Biomarkers Correlate With Treatment Outcome in Drug-Sensitive Pulmonary Tuberculosis: A Population Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Analysis. *Open forum infectious diseases*, *7*(7), ofaa218. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofaa218>
49. Kornfeld, H., Sahukar, S. B., Procter-Gray, E., Kumar, N. P., West, K., Kane, K., Natarajan, M., Li, W., Babu, S., & Viswanathan, V. (2020). Impact of Diabetes and Low Body Mass Index on Tuberculosis Treatment Outcomes. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, *71*(9), e392–e398. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa054>
50. Kumar, N. P., Moideen, K., Bhootra, Y., Nancy, A., Viswanathan, V., Shruthi, B. S., Sivakumar, S., Natarajan, M., Kornfeld, H., & Babu, S. (2019). Elevated circulating levels of monocyte activation markers among tuberculosis patients with diabetes co-morbidity. *Immunology*, *156*(3), 249–258. <https://doi.org/10.1111/imm.13023>
51. Kwara, A., Cao, L., Yang, H., Poethke, P., Kurpewski, J., Tashima, K. T., Mahjoub, B. D., Court, M. H., & Peloquin, C. A. (2014). Factors associated with variability in rifampin plasma pharmacokinetics and the relationship between rifampin concentrations and induction of efavirenz clearance. *Pharmacotherapy*, *34*(3), 265–271. <https://doi.org/10.1002/phar.1388>

52. Li, L. M., Chen, L., Deng, G. H., Tan, W. T., Dan, Y. J., Wang, R. Q., & Chen, W. S. (2012). SLCO1B1 *15 haplotype is associated with rifampin-induced liver injury. *Molecular medicine reports*, 6(1), 75–82. <https://doi.org/10.3892/mmr.2012.900>
53. Li, X., Li, C., Zhang, W., Wang, Y., Qian, P., & Huang, H. (2023). Inflammation and aging: signaling pathways and intervention therapies. *Signal transduction and targeted therapy*, 8(1), 239. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01502-8>
54. Liu, M. Z., He, H. Y., Zhang, Y. L., Hu, Y. F., He, F. Z., Luo, J. Q., Luo, Z. Y., Chen, X. P., Liu, Z. Q., Zhou, H. H., Shao, M. J., Ming, Y. Z., Xin, H. W., & Zhang, W. (2017). IL-3 and CTLA4 gene polymorphisms may influence the tacrolimus dose requirement in Chinese kidney transplant recipients. *Acta pharmacologica Sinica*, 38(3), 415–423. <https://doi.org/10.1038/aps.2016.153>
55. Lönnroth, K., Williams, B. G., Cegielski, P., & Dye, C. (2010). A consistent log-linear relationship between tuberculosis incidence and body mass index. *International journal of epidemiology*, 39(1), 149–155. <https://doi.org/10.1093/ije/dyp308>
56. Lu, Y., Xu, L., Cui, J., Shen, S., & Li, X. (2021). Effects of Postoperative Day and NR1I2 on Tacrolimus Clearance in Chinese Liver Transplant Recipients-A Population Model Approach. *Clinical pharmacology in drug development*, 10(11), 1385–1394. <https://doi.org/10.1002/cpdd.971>
57. Luyen, L.T., Hung, T.M., Huyen, L.T., Tuan, L.A., Huong, D.T.L., Duc, H.V., Tung, B.T. Simultaneous determination of Pyrazinamide, Rifampicin, Ethambutol, Isoniazid and Acetyl Isoniazid in human plasma by LC-MS/MS method. (2018). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 8(09), 061–073. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2018.8910>
58. Ma, X., Idle, J. R., & Gonzalez, F. J. (2008). The pregnane X receptor: from bench to bedside. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology*, 4(7), 895–908. <https://doi.org/10.1517/17425255.4.7.895>
59. Manolopoulos, V. G., Ragia, G., & Tavridou, A. (2010). Pharmacogenetics of coumarinic oral anticoagulants. *Pharmacogenomics*, 11(4), 493–496. <https://doi.org/10.2217/pgs.10.31>
60. Masini, T., Kanchar, A., Mirzayev, F., Viney, K., Yedilbayev, A., Zignol, M., & Falzon, D. (2022). Wider access to quality-assured rifampentine-based regimens is needed to accelerate tuberculosis prevention and care globally. *The European respiratory journal*, 60(2), 2201227. <https://doi.org/10.1183/13993003.01227-2022>
61. Mbatchi, L. C., Schmitt, A., Thomas, F., Cazaubon, Y., Robert, J., Lumbroso, S., Brouillet, J. P., Pourquier, P., Chatelut, E., Boyer, J. C., & Evrard, A. (2015). Polymorphisms in SLCO1B3 and NR1I2 as genetic determinants of hematotoxicity of carboplatin and paclitaxel combination. *Pharmacogenomics*, 16(13), 1439–1450. <https://doi.org/10.2217/pgs.15.84>
62. McCallum, A. D., Pertinez, H. E., Else, L. J., Dilly-Penchala, S., Chirambo, A. P., Sheha, I., Chasweka, M., Chitani, A., Malamba, R. D., Meghji, J. Z., Gordon, S. B., Davies, G. R., Khoo, S. H., Sloan, D. J., & Mwandumba, H. C. (2021). Intrapulmonary Pharmacokinetics of First-line Anti-tuberculosis Drugs in Malawian Patients With Tuberculosis. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 73(9), e3365–e3373. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa1265>
63. McCallum, A. D., Pertinez, H. E., Chirambo, A. P., Sheha, I., Chasweka, M., Malamba, R., Shani, D., Chitani, A., Mallewa, J. E., Meghji, J. Z., Ghany, J. F., Corbett, E. L., Gordon, S. B., Davies, G. R., Khoo, S. H., Sloan, D. J., & Mwandumba, H. C. (2022). High Intrapulmonary Rifampicin and Isoniazid Concentrations Are Associated With Rapid Sputum Bacillary Clearance in Patients With Pulmonary Tuberculosis. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 75(9), 1520–1528. <https://doi.org/10.1093/cid/ciac228>
64. McDonagh, E. M., Boukouvala, S., Aklillu, E., Hein, D. W., Altman, R. B., & Klein, T. E. (2014). PharmGKB summary: very important pharmacogene information for N-acetyltransferase 2. *Pharmacogenetics and genomics*, 24(8), 409–425. <https://doi.org/10.1097/FPC.0000000000000062>

65. McIlleron, H., Wash, P., Burger, A., Norman, J., Folb, P. I., & Smith, P. (2006). Determinants of rifampin, isoniazid, pyrazinamide, and ethambutol pharmacokinetics in a cohort of tuberculosis patients. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *50*(4), 1170–1177. <https://doi.org/10.1128/AAC.50.4.1170-1177.2006>
66. Medellín-Garibay, S. E., Huerta-García, A. P., Rodríguez-Báez, A. S., Magaña-Aquino, M., Ortiz-Álvarez, A., Portales-Pérez, D. P., Milán-Segovia, R. D. C., & Romano-Moreno, S. (2020). A population approach of rifampicin pharmacogenetics and pharmacokinetics in Mexican patients with tuberculosis. *Tuberculosis (Edinburgh, Scotland)*, *124*, 101982. <https://doi.org/10.1016/j.tube.2020.101982>
67. Mendy, J., Togun, T., Owolabi, O., Donkor, S., Ota, M. O., & Sutherland, J. S. (2016). C-reactive protein, Neopterin and Beta2 microglobulin levels pre and post TB treatment in The Gambia. *BMC infectious diseases*, *16*, 115. <https://doi.org/10.1186/s12879-016-1447-9>
68. Metushi, I. G., Cai, P., Zhu, X., Nakagawa, T., & Uetrecht, J. P. (2011). A fresh look at the mechanism of isoniazid-induced hepatotoxicity. *Clinical pharmacology and therapeutics*, *89*(6), 911–914. <https://doi.org/10.1038/clpt.2010.355>
69. Milán Segovia, R. C., Domínguez Ramírez, A. M., Jung Cook, H., Magaña Aquino, M., Vigna Pérez, M., Brundage, R. C., & Romano Moreno, S. (2013). Population pharmacokinetics of rifampicin in Mexican patients with tuberculosis. *Journal of clinical pharmacy and therapeutics*, *38*(1), 56–61. <https://doi.org/10.1111/jcpt.12016>
70. Miranda, P., Gil-Santana, L., Oliveira, M. G., Mesquita, E. D., Silva, E., Rauwerdink, A., Cobelens, F., Oliveira, M. M., Andrade, B. B., & Kritski, A. (2017). Sustained elevated levels of C-reactive protein and ferritin in pulmonary tuberculosis patients remaining culture positive upon treatment initiation. *PLoS one*, *12*(4), e0175278. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175278>
71. Musteikienė, G., Miliauskas, S., Zaveckienė, J., Žemaitis, M., & Vitkauskienė, A. (2017). Factors associated with sputum culture conversion in patients with pulmonary tuberculosis. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*, *53*(6), 386–393. <https://doi.org/10.1016/j.medici.2018.01.005>
72. Musteikienė, G., Miliauskas, S., Zaveckienė, J., Urbonienė, D., Vitkauskienė, A., Žemaitis, M., & Naudžiūnas, A. (2021). Is analysis of inflammatory biomarkers and lymphocyte subpopulations useful in prediction of tuberculosis treatment outcomes?. *Journal of clinical tuberculosis and other mycobacterial diseases*, *25*, 100275. <https://doi.org/10.1016/j.jctube.2021.100275>
73. Naidoo, A., Chirehwa, M., Ramsuran, V., McIlleron, H., Naidoo, K., Yende-Zuma, N., Singh, R., Ncgapu, S., Adamson, J., Govender, K., Denti, P., & Padayatchi, N. (2019). Effects of genetic variability on rifampicin and isoniazid pharmacokinetics in South African patients with recurrent tuberculosis. *Pharmacogenomics*, *20*(4), 225–240. <https://doi.org/10.2217/pgs-2018-0166>
74. Nakajima, A., Fukami, T., Kobayashi, Y., Watanabe, A., Nakajima, M., & Yokoi, T. (2011). Human arylacetamide deacetylase is responsible for deacetylation of rifamycins: rifampicin, rifabutin, and rifapentine. *Biochemical pharmacology*, *82*(11), 1747–1756. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2011.08.003>
75. Nie, Y., Yang, J., Liu, S., Sun, R., Chen, H., Long, N., Jiang, R., & Gui, C. (2020). Genetic polymorphisms of human hepatic OATPs: functional consequences and effect on drug pharmacokinetics. *Xenobiotica; the fate of foreign compounds in biological systems*, *50*(3), 297–317. <https://doi.org/10.1080/00498254.2019.1629043>
76. Nijenbandring de Boer, R., Oliveira e Souza Filho, J. B., Cobelens, F., Ramalho, D.deP., Campino Miranda, P. F., Logo, K.d, Oliveira, H., Mesquita, E., Oliveira, M. M., & Kritski, A. (2014). Delayed culture conversion due to cigarette smoking in active pulmonary tuberculosis patients. *Tuberculosis (Edinburgh, Scotland)*, *94*(1), 87–91. <https://doi.org/10.1016/j.tube.2013.10.005>
77. Nijland, H. M., Ruslami, R., Stalenhoef, J. E., Nelwan, E. J., Alisjahbana, B., Nelwan, R. H., van der Ven, A. J., Danusantoso, H., Aarnoutse, R. E., & van Crevel, R. (2006). Exposure to rifampicin is strongly reduced in patients with tuberculosis and type 2 diabetes. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, *43*(7), 848–854. <https://doi.org/10.1086/507543>

78. Niward, K., Davies Forsman, L., Bruchfeld, J., Chryssanthou, E., Carlström, O., Alomari, T., Carlsson, B., Pohanka, A., Mansjö, M., Jonsson Nordvall, M., Johansson, A. G., Eliasson, E., Werngren, J., Paues, J., Simonsson, U. S. H., & Schön, T. (2018). Distribution of plasma concentrations of first-line anti-TB drugs and individual MICs: a prospective cohort study in a low endemic setting. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, *73*(10), 2838–2845. <https://doi.org/10.1093/jac/dky268>
79. O'Garra, A., Redford, P. S., McNab, F. W., Bloom, C. I., Wilkinson, R. J., & Berry, M. P. (2013). The immune response in tuberculosis. *Annual review of immunology*, *31*, 475–527. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032712-095939>
80. Ohsawa, M., Okayama, A., Nakamura, M., Onoda, T., Kato, K., Itai, K., Yoshida, Y., Ogawa, A., Kawamura, K., & Hiramori, K. (2005). CRP levels are elevated in smokers but unrelated to the number of cigarettes and are decreased by long-term smoking cessation in male smokers. *Preventive medicine*, *41*(2), 651–656. <https://doi.org/10.1016/j.ypmed.2005.02.002>
81. Oleson, L., von Moltke, L. L., Greenblatt, D. J., & Court, M. H. (2010). Identification of polymorphisms in the 3'-untranslated region of the human pregnane X receptor (PXR) gene associated with variability in cytochrome P450 3A (CYP3A) metabolism. *Xenobiotica; the fate of foreign compounds in biological systems*, *40*(2), 146–162. <https://doi.org/10.3109/00498250903420243>
82. Onwubalili, J. K. (1988). Malnutrition among tuberculosis patients in Harrow, England. *European journal of clinical nutrition*, *42*(4), 363–366.
83. Opolot, J. O., Theron, A. J., MacPhail, P., Feldman, C., & Anderson, R. (2017). Effect of smoking on acute phase reactants, stress hormone responses and vitamin C in pulmonary tuberculosis. *African health sciences*, *17*(2), 337–345. <https://doi.org/10.4314/ahs.v17i2.7>
84. Pallet, N., Jannot, A. S., El Bahri, M., Etienne, I., Buchler, M., de Ligny, B. H., Choukroun, G., Colosio, C., Thierry, A., Vigneau, C., Moulin, B., Le Meur, Y., Heng, A. E., Subra, J. F., Legendre, C., Beaune, P., Alberti, C., Lorient, M. A., & Thervet, E. (2015). Kidney transplant recipients carrying the CYP3A4*22 allelic variant have reduced tacrolimus clearance and often reach supratherapeutic tacrolimus concentrations. *American journal of transplantation: official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*, *15*(3), 800–805. <https://doi.org/10.1111/ajt.13059>
85. Pasipanodya, J. G., McIlleron, H., Burger, A., Wash, P. A., Smith, P., & Gumbo, T. (2013). Serum drug concentrations predictive of pulmonary tuberculosis outcomes. *The Journal of infectious diseases*, *208*(9), 1464–1473. <https://doi.org/10.1093/infdis/jit352>
86. Prah, J. B., Johansen, I. S., Cohen, A. S., Frimodt-Møller, N., & Andersen, Å. B. (2014). Clinical significance of 2 h plasma concentrations of first-line anti-tuberculosis drugs: a prospective observational study. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, *69*(10), 2841–2847. <https://doi.org/10.1093/jac/dku210>
87. Prideaux, B., Via, L. E., Zimmerman, M. D., Eum, S., Sarathy, J., O'Brien, P., Chen, C., Kaya, F., Weiner, D. M., Chen, P. Y., Song, T., Lee, M., Shim, T. S., Cho, J. S., Kim, W., Cho, S. N., Olivier, K. N., Barry, C. E., 3rd, & Dartois, V. (2015). The association between sterilizing activity and drug distribution into tuberculosis lesions. *Nature medicine*, *21*(10), 1223–1227. <https://doi.org/10.1038/nm.3937>
88. Ramachandran, G., Chandrasekaran, P., Gaikwad, S., Agibothu Kupparam, H. K., Thiruvengadam, K., Gupte, N., Paradkar, M., Dhanasekaran, K., Sivaramakrishnan, G. N., Kagal, A., Thomas, B., Pradhan, N., Kadam, D., Hanna, L. E., Balasubramanian, U., Kulkarni, V., Murali, L., Golub, J., Gupte, A., Shivakumar, S. V. B. Y., ... Cohort for Tuberculosis Research by the Indo-US Partnership (CTRIUMPh) Team (2020). Subtherapeutic Rifampicin Concentration Is Associated With Unfavorable Tuberculosis Treatment Outcomes. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, *70*(7), 1463–1470. <https://doi.org/10.1093/cid/ciz380>

89. Rana, M., Coshic, P., Goswami, R., & Tyagi, R. K. (2017). Influence of a critical single nucleotide polymorphism on nuclear receptor PXR-promoter function. *Cell biology international*, 41(5), 570–576. <https://doi.org/10.1002/cbin.10744>
90. Rifat, D., Prideaux, B., Savic, R. M., Urbanowski, M. E., Parsons, T. L., Luna, B., Marzinke, M. A., Ordonez, A. A., DeMarco, V. P., Jain, S. K., Dartois, V., Bishai, W. R., & Dooley, K. E. (2018). Pharmacokinetics of rifapentine and rifampin in a rabbit model of tuberculosis and correlation with clinical trial data. *Science translational medicine*, 10(435), eaai7786. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aai7786>
91. Ritchie, M. D., Haas, D. W., Motsinger, A. A., Donahue, J. P., Erdem, H., Raffanti, S., Rebeiro, P., George, A. L., Kim, R. B., Haines, J. L., & Sterling, T. R. (2006). Drug transporter and metabolizing enzyme gene variants and nonnucleoside reverse-transcriptase inhibitor hepatotoxicity. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 43(6), 779–782. <https://doi.org/10.1086/507101>
92. Satyaraddi, A., Velpandian, T., Sharma, S. K., Vishnubhatla, S., Sharma, A., Sirohiwal, A., Makharia, G. K., Sinha, S., Biswas, A., & Singh, S. (2014). Correlation of plasma anti-tuberculosis drug levels with subsequent development of hepatotoxicity. *The international journal of tuberculosis and lung disease: the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease*, 18(2), 188–iii. <https://doi.org/10.5588/ijtld.13.0128>
93. Schwarz, U. I., Meyer zu Schwabedissen, H. E., Tirona, R. G., Suzuki, A., Leake, B. F., Mokrab, Y., Mizuguchi, K., Ho, R. H., & Kim, R. B. (2011). Identification of novel functional organic anion-transporting polypeptide 1B3 polymorphisms and assessment of substrate specificity. *Pharmacogenetics and genomics*, 21(3), 103–114. <https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e328342f5b1>
94. SEARCH Collaborative Group, Link, E., Parish, S., Armitage, J., Bowman, L., Heath, S., Matsuda, F., Gut, I., Lathrop, M., & Collins, R. (2008). SLCO1B1 variants and statin-induced myopathy – a genomewide study. *The New England journal of medicine*, 359(8), 789–799. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0801936>
95. Seth-Smith, H. M. B., Bonfiglio, F., Cuénod, A., Reist, J., Egli, A., & Wüthrich, D. (2019). Evaluation of Rapid Library Preparation Protocols for Whole Genome Sequencing Based Outbreak Investigation. *Frontiers in public health*, 7, 241. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2019.00241>
96. Shah, P. A., Sharma, P., Shah, J. V., Sanyal, M., & Shrivastav, P. S. (2016). An improved LC-MS/MS method for the simultaneous determination of pyrazinamide, pyrazinoic acid and 5-hydroxy pyrazinoic acid in human plasma for a pharmacokinetic study. *Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences*, 1017–1018, 52–61. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2016.02.036>
97. Shimizu, M., Fukami, T., Kobayashi, Y., Takamiya, M., Aoki, Y., Nakajima, M., & Yokoi, T. (2012). A novel polymorphic allele of human arylacetamide deacetylase leads to decreased enzyme activity. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*, 40(6), 1183–1190. <https://doi.org/10.1124/dmd.112.044883>
98. Sigal, G. B., Segal, M. R., Mathew, A., Jarlsberg, L., Wang, M., Barbero, S., Small, N., Haynesworth, K., Davis, J. L., Weiner, M., Whitworth, W. C., Jacobs, J., Schorey, J., Lewinsohn, D. M., & Nahid, P. (2017). Biomarkers of Tuberculosis Severity and Treatment Effect: A Directed Screen of 70 Host Markers in a Randomized Clinical Trial. *EBioMedicine*, 25, 112–121. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2017.10.018>
99. Sinha, P., Ponnuraja, C., Gupte, N., Prakash Babu, S., Cox, S. R., Sarkar, S., Mave, V., Paradkar, M., Cintron, C., Govindarajan, S., Kinikar, A., Priya, N., Gaikwad, S., Thangakunam, B., Devarajan, A., Dhanasekaran, M., Tornheim, J. A., Gupta, A., Salgame, P., Christopher, D. J., ... Hochberg, N. S. (2023). Impact of Undernutrition on Tuberculosis Treatment Outcomes in India: A Multicenter, Prospective, Cohort Analysis. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 76(8), 1483–1491. <https://doi.org/10.1093/cid/ciac915>

100. Sirgel, F. A., Donald, P. R., Odhiambo, J., Githui, W., Umapathy, K. C., Paramasivan, C. N., Tam, C. M., Kam, K. M., Lam, C. W., Sole, K. M., & Mitchison, D. A. (2000). A multicentre study of the early bactericidal activity of anti-tuberculosis drugs. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, *45*(6), 859–870. <https://doi.org/10.1093/jac/45.6.859>
101. Smythe, W., Khandelwal, A., Merle, C., Rustomjee, R., Gninafon, M., Bocar Lo, M., Sow, O. B., Olliaro, P. L., Lienhardt, C., Horton, J., Smith, P., McIlleron, H., & Simonsson, U. S. (2012). A semimechanistic pharmacokinetic-enzyme turnover model for rifampin autoinduction in adult tuberculosis patients. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *56*(4), 2091–2098. <https://doi.org/10.1128/AAC.05792-11>
102. Sproston, N. R., & Ashworth, J. J. (2018). Role of C-Reactive Protein at Sites of Inflammation and Infection. *Frontiers in immunology*, *9*, 754. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00754>
103. Strydom, N., Gupta, S. V., Fox, W. S., Via, L. E., Bang, H., Lee, M., Eum, S., Shim, T., Barry, C. E., 3rd, Zimmerman, M., Dartois, V., & Savic, R. M. (2019). Tuberculosis drugs' distribution and emergence of resistance in patient's lung lesions: A mechanistic model and tool for regimen and dose optimization. *PLoS medicine*, *16*(4), e1002773. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002773>
104. Sturkenboom, M.G.G., Van der Lijke, H., Jongedijk, E.M., Kok, W.T., Greijdanus, B., Uges, D.R.A., Alffenaar, J.W. (2015). Quantification of isoniazid, pyrazinamide and ethambutol in serum using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Applied Bioanalysis*, *1*(3), 89–98. <https://doi.org/10.17145/jab.15.015>
105. Sundell, J., Bienvenu, E., Birgersson, S., Äbelö, A., Ashton, M., & Hoffmann, K. J. (2019). Simultaneous quantification of four first line antitubercular drugs and metabolites in human plasma by hydrophilic interaction chromatography and tandem mass spectrometry. *Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences*, *1105*, 129–135. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2018.10.027>
106. Tostmann, A., Mtabho, C. M., Semvua, H. H., van den Boogaard, J., Kibiki, G. S., Boeree, M. J., & Aarnoutse, R. E. (2013). Pharmacokinetics of first-line tuberculosis drugs in Tanzanian patients. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *57*(7), 3208–3213. <https://doi.org/10.1128/AAC.02599-12>
107. Ulanova, V., Kivrane, A., Viksna, A., Pahirko, L., Freimane, L., Sadovska, D., Ozere, I., Cirule, A., Sevostjanovs, E., Grinberga, S., Bandere, D., & Ranka, R. (2024). Effect of NAT2, GSTM1 and CYP2E1 genetic polymorphisms on plasma concentration of isoniazid and its metabolites in patients with tuberculosis, and the assessment of exposure-response relationships. *Frontiers in pharmacology*, *15*, 1332752. <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1332752>
108. Visser, M., Bouter, L. M., McQuillan, G. M., Wener, M. H., & Harris, T. B. (1999). Elevated C-reactive protein levels in overweight and obese adults. *JAMA*, *282*(22), 2131–2135. <https://doi.org/10.1001/jama.282.22.2131>
109. Walubo, A., Chan, K., Woo, J., Chan, H. S., & Wong, C. L. (1991). The disposition of antituberculous drugs in plasma of elderly patients. II. Isoniazid, rifampicin and pyrazinamide. *Methods and findings in experimental and clinical pharmacology*, *13*(8), 551–556.
110. Wang, N., Guo, S., Liu, H., Ding, Y., Yao, R., Liu, Z., Zhu, H., Chen, X., Yang, X., Chen, X., & Lu, Y. (2022). Relevance of gene polymorphisms of NAT2 and NR112 to anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity. *Xenobiotica; the fate of foreign compounds in biological systems*, *52*(5), 520–526. <https://doi.org/10.1080/00498254.2022.2092783>
111. Wang, X., Zhang, H., Han, Y., Huo, L., Cao, Y., Xu, X., & Ai, L. (2020). Rapid and simultaneous determination of ten anti-tuberculosis drugs in human plasma by UPLC-MS/MS with applications in therapeutic drug monitoring. *Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences*, *1152*, 122246. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2020.122246>
112. Wang, Y., Xiang, X., Huang, W. W., Sandford, A. J., Wu, S. Q., Zhang, M. M., Wang, M. G., Chen, G., & He, J. Q. (2019). Association of PXR and CAR Polymorphisms and Antituberculosis Drug-Induced Hepatotoxicity. *Scientific reports*, *9*(1), 2217. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-38452-z>

113. Weiner, M., Peloquin, C., Burman, W., Luo, C. C., Engle, M., Prihoda, T. J., Mac Kenzie, W. R., Bliven-Sizemore, E., Johnson, J. L., & Vernon, A. (2010). Effects of tuberculosis, race, and human gene SLCO1B1 polymorphisms on rifampin concentrations. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 54(10), 4192–4200. <https://doi.org/10.1128/AAC.00353-10>
114. Weiner, M., Gelfond, J., Johnson-Pais, T. L., Engle, M., Johnson, J. L., Whitworth, W. C., Bliven-Sizemore, E., Nsubuga, P., Dorman, S. E., Savic, R., & Pharmacokinetics/Pharmacodynamics Group of Tuberculosis Trials Consortium (2021). Decreased plasma rifapentine concentrations associated with AADAC single nucleotide polymorphism in adults with tuberculosis. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 76(3), 582–586. <https://doi.org/10.1093/jac/dkaa490>
115. Wener, M. H., Daum, P. R., & McQuillan, G. M. (2000). The influence of age, sex, and race on the upper reference limit of serum C-reactive protein concentration. *The Journal of rheumatology*, 27(10), 2351–2359.
116. Werngren, J., Paues, J., Simonsson, U. S. H., & Schön, T. (2018). Distribution of plasma concentrations of first-line anti-TB drugs and individual MICs: a prospective cohort study in a low endemic setting. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 73(10), 2838–2845. <https://doi.org/10.1093/jac/dky268>
117. Wilson, D., Moosa, M. S., Cohen, T., Cudahy, P., Aldous, C., & Maartens, G. (2018). Evaluation of Tuberculosis Treatment Response With Serial C-Reactive Protein Measurements. *Open forum infectious diseases*, 5(11), ofy253. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofy253>
118. World Health Organization. (2021). WHO operational handbook on tuberculosis. Module 2: Screening-Systematic Screening for Tuberculosis Disease. Retrieved from <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/340256/9789240022614-eng.pdf?sequence=1> (accessed 8 January 2025)
119. World Health Organization. (2022a). WHO consolidated guidelines on tuberculosis. Module 4: treatment – drug-susceptible tuberculosis treatment. Retrieved from <https://www.who.int/publications/i/item/9789240048126> (accessed 16 July 2024)
120. World Health Organization. (2022b). WHO operational handbook on tuberculosis. Module 4: Treatment – drug-susceptible tuberculosis treatment. Retrieved from <https://www.who.int/publications/i/item/9789240050761> (accessed 8 January 2025)
121. World Health Organization. (2024). Global tuberculosis report 2024. Retrieved from <https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports/global-tuberculosis-report-2023> (accessed 21 November 2024)
122. Wu, L., Ye, Z., Liu, H., Guo, H., Lin, J., Zheng, L., Chu, N., & Liu, X. (2020). Rapid and highly sensitive quantification of the anti-tuberculosis agents isoniazid, ethambutol, pyrazinamide, rifampicin and rifabutin in human plasma by UPLC-MS/MS. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 180, 113076. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2019.113076>
123. Wyczalkowska-Tomasik, A., Czarkowska-Paczek, B., Zielenkiewicz, M., & Paczek, L. (2016). Inflammatory Markers Change with Age, but do not Fall Beyond Reported Normal Ranges. *Archivum immunologiae et therapiae experimentalis*, 64(3), 249–254. <https://doi.org/10.1007/s00005-015-0357-7>
124. Yang, M., Pan, H., Chen, H., Liu, W., Lu, L., He, X., Yi, H., & Tang, S. (2020). Association between NR1I2 polymorphisms and susceptibility to anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity in an Eastern Chinese Han population: A case-control study. *Infection, genetics and evolution: journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*, 83, 104349. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2020.104349>
125. Yimer, G., Ueda, N., Habtewold, A., Amogne, W., Suda, A., Riedel, K. D., Burhenne, J., Aderaye, G., Lindquist, L., Makonnen, E., & Aklillu, E. (2011). Pharmacogenetic & pharmacokinetic biomarker for efavirenz based ARV and rifampicin based anti-TB drug induced liver injury in TB-HIV infected patients. *PloS one*, 6(12), e27810. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027810>

126. Zazuli, Z., Barliana, M. I., Mulyani, U. A., Perwitasari, D. A., Ng, H., & Abdullah, R. (2015). Polymorphism of PXR gene associated with the increased risk of drug-induced liver injury in Indonesian pulmonary tuberculosis patients. *Journal of clinical pharmacy and therapeutics*, *40*(6), 680–684. <https://doi.org/10.1111/jcpt.12325>
127. Zhang, J., Kuehl, P., Green, E. D., Touchman, J. W., Watkins, P. B., Daly, A., Hall, S. D., Maurel, P., Relling, M., Brimer, C., Yasuda, K., Wrighton, S. A., Hancock, M., Kim, R. B., Strom, S., Thummel, K., Russell, C. G., Hudson, J. R., Jr, Schuetz, E. G., & Boguski, M. S. (2001). The human pregnane X receptor: genomic structure and identification and functional characterization of natural allelic variants. *Pharmacogenetics*, *11*(7), 555–572. <https://doi.org/10.1097/00008571-200110000-00003>
128. Zhang, J., Zhao, Z., Bai, H., Wang, M., Jiao, L., Peng, W., Wu, T., Liu, T., Chen, H., Song, X., Wu, L., Hu, X., Wu, Q., Zhou, J., Song, J., Lyv, M., & Ying, B. (2019). Genetic polymorphisms in PXR and NF- κ B1 influence susceptibility to anti-tuberculosis drug-induced liver injury. *PloS one*, *14*(9), e0222033. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222033>
129. Zhang, W., He, Y. J., Gan, Z., Fan, L., Li, Q., Wang, A., Liu, Z. Q., Deng, S., Huang, Y. F., Xu, L. Y., & Zhou, H. H. (2007). OATP1B1 polymorphism is a major determinant of serum bilirubin level but not associated with rifampicin-mediated bilirubin elevation. *Clinical and experimental pharmacology & physiology*, *34*(12), 1240–1244. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2007.04798.x>
130. Zheng, X., Bao, Z., Forsman, L. D., Hu, Y., Ren, W., Gao, Y., Li, X., Hoffner, S., Bruchfeld, J., & Alffenaar, J. W. (2021). Drug Exposure and Minimum Inhibitory Concentration Predict Pulmonary Tuberculosis Treatment Response. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, *73*(9), e3520–e3528. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa1569>
131. Zhou, Z., Wu, X., Wei, Q., Liu, Y., Liu, P., Ma, A., & Zou, F. (2013). Development and validation of a hydrophilic interaction liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the simultaneous determination of five first-line antituberculosis drugs in plasma. *Analytical and bioanalytical chemistry*, *405*(19), 6323–6335. <https://doi.org/10.1007/s00216-013-7049-0>
132. Zhuang, X., Li, L., Liu, T., Zhang, R., Yang, P., Wang, X., & Dai, L. (2022). Mechanisms of isoniazid and rifampicin-induced liver injury and the effects of natural medicinal ingredients: A review. *Frontiers in pharmacology*, *13*, 1037814. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.1037814>
133. Ziglam, H. M., Baldwin, D. R., Daniels, I., Andrew, J. M., & Finch, R. G. (2002). Rifampicin concentrations in bronchial mucosa, epithelial lining fluid, alveolar macrophages and serum following a single 600 mg oral dose in patients undergoing fibre-optic bronchoscopy. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, *50*(6), 1011–1015. <https://doi.org/10.1093/jac/dkf214>

Pateicības

Pēc šiem pētniecībai veltītajiem gadiem ir daudz cilvēku, kuriem bijusi nozīmīga loma manā doktorantūras ceļā un kuriem esmu pateicīga par ieguldījumu šī promocijas darba tapšanā.

Pirmkārt, vēlos izteikt īpašu pateicību savai promocijas darba vadītājai profesorei **Renātei Rankai** par mana zinātniskā potenciāla attīstīšanu, pētnieciskās darbības virzīšanu un, pats galvenais, par iespēju augt kā profesionālim viņas vadībā.

Pateicos Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centra Molekulārās mikrobioloģijas laboratorijas kolēģiem **Darjai Sadovskai**, **Laumai Feimanei**, **Alisai Kazarinai**, **Valentīnai Čapliginai**, **Agnei Namiņai** un **Jānim Ķimsim** par veltīto laiku un dalīšanos ar zināšanām manas profesionālās karjeras pirmsākumos. Man ir bijis patīess prieks strādāt kopā ar **Viktoriju Ulanovu** – sākotnēji viņa bija mans mentors un galvenais atbalsts TB PGx projekta laikā, bet gadu gaitā šī sadarbība ir pāraugusi spēcīgā tandēmā, kas ļāvis attīstīt daudzas pētniecības idejas.

Šis darbs nebūtu bijis iespējams bez Tuberkulozes un plaušu slimību centra (Rīgas Austrumu universitātes slimnīca) administratīvā un klīniskā personāla ieguldījuma, īpaši pneimonoloģes **Andas Vīksnas**, kura demonstrēja augstu profesionalitāti pacientu aprūpē un klīnisko paraugu vākšanā, kā arī sniedza atbalstu klīnisko datu interpretācijā. Tāpat pateicos Valsts iedzīvotāju genoma datubāzei par klīnisko paraugu kolekciju nodrošināšanu, kas bija nepieciešamas atsevišķu eksperimentu veikšanai.

Attiecībā uz šī darba analītiskās ķīmijas daļu vēlos izteikt pateicību **Solveigai Grīnbergai** no Masspektrometrijas grupas (Fizikāli organiskās ķīmijas laboratorija, Latvijas Organiskās sintēzes institūts) par iespēju strādāt viņas vadībā, kā arī **Eduardam Sevostjanovam** par pacietību, skaidrojot LC-MS/MS teorētiskos principus un atbildot uz maniem nebeidzamajiem jautājumiem analītiskās ķīmijas prakses laikā.

Vēlos pateikties arī savai visnesenākajai sadarbības partnerei **Leonorai Pahirko** no Latvijas Universitātes Eksakto zinātņu un tehnoloģiju fakultātes par palīdzību ar datu statistisko analīzi, meklējot atbildes uz šajā darbā izvirzītajiem zinātniskajiem jautājumiem.

Paldies Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centram un Latvijas Organiskās sintēzes institūtam par mūsdienīgu pētniecības infrastruktūru, iekārtām un sniegtajiem pakalpojumiem. Atsevišķu pateicību vēlos izteikt Genoma centra kolektīvam (Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centra servisa centrs) par sekvencēšanas pakalpojumu nodrošināšanu.

Esmu pateicīga Rīgas Stradiņa universitātei, manai *Alma Mater*, par atbalstu doktorantūras studiju grantu veidā. Šis darbs ir saņēmis arī finansējumu no Fundamentālo un lietišķo pētījumu programmas projekta “Tuberkulozes ārstēšana: personalizētas terapijas perspektīvas izpēte” (Nr. lzp2020/1-0050), ko finansēja Latvijas Zinātnes padome, kā arī

projekta “RSU iekšējā un RSU ar LSPA ārējā konsolidācija” (Nr. 5.2.1.1.i.0/2/24/I/CFLA/005), kas tika finansēts no Eiropas Savienības Atveseļošanas fonda un Latvijas valsts budžeta līdzekļiem.

Visbeidzot vēlos pateikties savai **ģimenei un draugiem** par viņu neizsīkstošo pacietību, sapratni un elastību – gan piekrītot manam “vēl tikai viena stunda”, lai pabeigtu publikācijas nodaļu pirms vakariņām, gan ļaujot atvaļinājuma laikā atbildēt uz “pāris ārkārtīgi svarīgiem” e-pastiem. Jūs esat mans miers, mans atbalsts un mana iedvesma visos manas dzīves posmos.