

УДК 616.37-002.2-037:616.24-002.5-07

Л.Д. Тодоріко<sup>1</sup>, І.О. Сем'янів<sup>1</sup>, Е.В. Леснік<sup>2</sup>

## ЧАСТОТА НУЛЬОВОГО ГЕНОТИПУ ГЕНА GSTT1 У ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ ЛЕГЕНЬ ЗАЛЕЖНО ВІД ВАРІАНТА РЕЗИСТЕНТНОСТІ МІКОБАКТЕРІЇ ТУБЕРКУЛЬОЗУ

<sup>1</sup>Вищий державний навчальний заклад України «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці<sup>2</sup>Державний медичний і фармацевтичний університет ім. М. Тестеміцану, м. Кишинів, республіка Молдова

**Резюме.** Проведений аналіз частоти алелів і генотипів гена GSTT1 у хворих на туберкульоз (ТБ) легень з урахуванням варіанта резистентності мікобактерії туберкульозу (МБТ) установив, що у хворих на вперше діагностований туберкульоз (ВДТБ) та полірезистентний туберкульоз (ПРТБ) вірогідно частіше (в 14,3 і 6,5 раза;  $p < 0,001$ ) спостерігали відсутність 0-генотипу (наявний функціональний алель), ніж гомозиготну делецію. І алель виявляли відносно частіше в пацієнтів із

ВДТБ і ПРТБ, ніж у таких із мультирезистентним туберкульозом (МРТБ) у 3,07 ( $p < 0,001$ ) і 1,86 раза ( $p = 0,046$ ), із вагомим превалюванням осіб із ВДТБ над хворими на ПРТБ - у 1,65 раза ( $p = 0,012$ ). Стосовно носіїв DD-генотипу, то їх було більше серед пацієнтів із МРТБ, ніж серед таких із ВДТБ у два рази ( $p = 0,018$ ).

**Ключові слова:** туберкульоз, делеційний поліморфізм, GSTT1, резистентність, МБТ.

**Вступ.** Сьогодні відомо вісім класів розчинних цитоплазматичних ізоформ ферменту GST:  $\alpha$ -,  $\zeta$ -,  $\theta$ -,  $\kappa$ -,  $\mu$ -,  $\pi$ -,  $\sigma$ -, і  $\omega$ -, які належать до цитозольної, мітохондріальної і мікросомальної фракцій [4]. З активністю II фази детоксикації асоціює ген  $\theta$  (тета)-1 GST (GSTT1), який експресується на хромосомі 22q11.23 і кодує амінокислотну послідовність відповідного ферменту тета, бере участь в "очищенні" організму від ксенобіотиків [3]. Клас тета (T) GSTs включає ферменти GSTT1 і GSTT2, з яких функціонально важливим є GSTT1. Ген GSTT1 (22q11.2) займає близько 8000 п.н. і складається з п'яти екзонів і чотирьох інтронів [2].

У випадку делеції функціональної зони гена GSTT1, за даними ряду досліджень, фермент тета-1 глутатіон-S-трансфераза не утворюється, через що здатність організму звільнитися від "шкідливих" сполук значно зменшується, що підвищує ризик розвитку хронічних захворювань печінки, недостатньої активності дезінтоксикаційних систем (низької активності кон'югації сульфгідрильних груп), різних форм раку, неплідності в чоловіків, ішемічної хвороби серця, невиношування вагітності [1], спричинює дисфункцію внутрішньоклітинної системи протиоксидантного захисту в пацієнтів із гострою та хронічною печінковою недостатністю за вірусно-гепатиту В тощо [5].

**Мета дослідження.** Встановити частоту нульового поліморфізму гена GSTT1 у хворих на туберкульоз залежно від варіанта резистентності мікобактерії туберкульозу (МБТ).

**Матеріал і методи.** Обстежено 100 хворих на вперше діагностований туберкульоз (ВДТБ), які перебували на стаціонарному лікуванні в Чернівецькому обласному протитуберкульозному диспансері. Контрольну групу склали 50 практично здорових осіб. Геномну ДНК виділяли з лейкоцитів цільної венозної крові. Поліморфні ділянки GSTT1 виділяли за допомогою мультикомплексної полімеразної ланцюгової реакції, згідно з протоколом для одномоментного аналізу полі-

морфізму за М. Agana et al. (1996). Делеції гена відповідає відсутність відповідної смужки на електрофореграмі. Успішне генотипування виконали для 96 хворих на туберкульоз. Для статистичного аналізу даних використовували програму STATISTICA, версія 10.0.228.8 (StatSoft, Inc.). Різницю в розподілі частот генотипів між групами розраховували за допомогою критерію  $\chi^2$ . Відмінності розглядали як достовірні при рівнях значимості  $p < 0,05$ .

**Результати дослідження та їх обговорення.** Оскільки генетично детерміновані зміни продукції ферменту GSTT1 можуть викликати дизрегуляцію детоксикаційних процесів, нами проведено визначення частот I алеля і DD-генотипу гена GSTT1 (табл. 1) у хворих на туберкульоз легень.

Відсутність делеції в картованій ділянці гена GSTT1 (rs17856199) спостерігали в 127 (86,99 %) випадків зі 292 виділених алелів ( $n = 146$ ). Гомозиготний варіант делеції 0/0 загалом виявляли у 6,68 раза рідше, ніж функціональний алель – у 19 осіб (13,01 %) ( $p < 0,001$ ). Аналогічну частотну тенденцію розподілу спостерігали як у дослідній, так і в контрольній групах (табл. 1), де вірогідно превалював функціональний алель, над мутантним генотипом: 83 (86,46 %) проти 13 (13,54 %) у дослідній групі ( $\chi^2 = 99,19$ ,  $p < 0,001$ ) та 44 (88,0 %) проти 6 (12,0 %) ( $\chi^2 = 57,76$ ,  $p < 0,001$ ) у контролі, відповідно. Відносна частота відсутності чи наявності делеції між хворими на туберкульоз легень та здоровими вірогідно не відрізнялась.

Частота зустрічальності несприятливого 0/0 генотипу гена GSTT1 у наших дослідженнях (у хворих на туберкульоз 13,54 %, у контролі – 12,0 %) відповідає такій у середньому в європеїдів ( $P_{DD} = 0,13-0,23$ ,  $p > 0,05$ ), будучи вірогідно меншою, ніж у представників екваторіальної ( $P_{DD} = 0,25-0,29$ ,  $p < 0,05$ ) і, особливо, монголоїдної рас ( $P_{DD} = 0,35-0,52$ ,  $p < 0,05$ ) [3].

Розподіл генотипів серед обстежуваних загалом відповідав очікуваній популяційній рівновазі Hardy-Weinberg (табл. 2).

Таблиця 1

**Розподіл делеційного поліморфізму гена глутатіон S-трансферази класу T1 (GSTT1)  
в обстежених групах**

Групи дослідження	Дослідна група, n=96	Контрольна група, n=50	c <sup>2</sup> p	Загалом, n=146 (%)
Відсутність 0-генотипу, n (%)	83 (86,46)	44 (88,0)	c <sup>2</sup> <1,0 p>0,05	127 (86,99)
0-генотип, n (%)	13 (13,54)	6 (12,0)	c <sup>2</sup> <1,0 p>0,05	19 (13,01)
c <sup>2</sup> p	c <sup>2</sup> =99,19 p<0,001	c <sup>2</sup> =57,76 p<0,001	-	p<0,001

Таблиця 2

**Аналіз гетерозиготності нульового поліморфізму гена глутатіон S-трансферази класу T1 (GSTT1)**

Групи	Генотипи, алелі, n (%)		P <sub>D</sub>	P <sub>1</sub>	H <sub>0</sub>	H <sub>E</sub>	F	c <sup>2</sup>	P
	DD	I <sub>алель</sub>							
Дослідна група, n=96	13 (13,54)	83 (86,46)	0,37	0,63	0,47	0,47	-0,006	-	>0,05
Контрольна група, n=50	6 (12,0)	44 (88,0)	0,38	0,62	0,52	0,47	-0,10	3,62	>0,05
Всього, n=146	19 (13,01)	127 (86,99)	0,37	0,63	0,49	0,47	0,24	<1,0	>0,05

Примітка. 1. P<sub>1</sub> – відносна частота I алеля; P<sub>D</sub> – відносна частота делеційного алеля D. 2. H<sub>0</sub> – фактична гетерозиготність; H<sub>E</sub> – очікувана гетерозиготність; F – коефіцієнт інбридингу. 3. c<sup>2</sup> p – критерій справедливості «нульової» гіпотези між фактичною і очікуваною гетерозиготністю

Таблиця 3

**Частота нульового генотипу гена GSTT1 у хворих на туберкульоз легень залежно від варіанта резистентності мікобактерії туберкульозу**

Групи дослідження		Відсутність 0-генотипу, n=83 (%)	0-генотип, n=13 (%)	ВШ [95% ДІ]	c <sup>2</sup> p
Вперше діагностований туберкульоз легень, n=46 (%)		43 (93,48)	3 (6,52)	22,56 [7,67-66,3]	c <sup>2</sup> =39,13 p<0,001
Мультирезистентний туберкульоз легень, n=20 (%)		14 (70,0)	6 (30,0)	3,45 [0,94-12,6]	c <sup>2</sup> =3,60 p=0,056
Полірезистентний туберкульоз легень, n=30 (%)		26 (86,67)	4 (13,33)	16,0 [4,51-56,7]	c <sup>2</sup> =21,60 p<0,001
c <sup>2</sup> p	ВДТБ-МРТБ	c <sup>2</sup> =22,47 p<0,001	p=0,018	-	-
	ВДТБ-ПРТБ	c <sup>2</sup> =6,35 p=0,012	c <sup>2</sup> <1,0 p>0,05		
	МРТБ-ПРТБ	c <sup>2</sup> =3,99 p=0,046	p>0,05		
Контроль, n=50 (%)		44 (88,0)	6 (12,0)	53,78 [16,09-179,7]	c <sup>2</sup> =57,76 p<0,001

Примітка. ВШ – відношення шансів; ДІ – довірчий інтервал; p – вірогідність різниць показників; ВДТБ – вперше діагностований туберкульоз легень; МРТБ – мультирезистентний туберкульоз легень; ПРТБ – полірезистентний туберкульоз легень

Частотний розподіл функціонального алеля та нульового генотипу гена GSTT1 з урахуванням варіанта резистентності МБТ наведено у таблиці 3. У хворих на ВДТБ та ПРТБ вірогідно частіше (у 14,3 і 6,5 раза; p<0,001) спостерігали відсутність 0-генотипу (наявний функціональний алель), ніж гомозиготну делецію. I алель виявляли відносно частіше у пацієнтів із ВДТБ і ПРТБ, ніж у таких із МРТБ у 3,07 (p<0,001) і 1,86 раза (p=0,046), із вагомим превалюванням осіб із ВДТБ над хворими на ПРТБ – у 1,65 раза

(p=0,012). Стосовно носіїв DD-генотипу, то їх було більше серед пацієнтів із МРТБ, ніж серед таких із ВДТБ у два рази (p=0,018) (табл. 3).

Аналіз гетерозиготності засвідчив нормальний алельний розподіл поліморфізму аналізованого гена GSTT1 (rs17856199) незалежно від варіанта резистентності МБТ, без відхилення від шкали популяційної рівноваги *Hardy-Weinberg* (табл. 4). У кількісному відношенні у хворих на ВДТБ і ПРТБ та загалом у дослідній групі домінував функціональний I-алель.

Таблиця 4

**Аналіз гетерозиготності нульового поліморфізму гена глутатіон S-трансферази класу T1 (GSTT1) залежно від варіанта резистентності мікобактерії туберкульозу**

Групи	Генотипи, алелі, n (%)		P <sub>D</sub>	P <sub>1</sub>	H <sub>O</sub>	H <sub>E</sub>	F	c <sup>2</sup>	P
	DD	I <sub>алель</sub>							
ВДТБ, n=46 (%)	3 (6,52)	43 (93,48)	0,33	0,67	0,52	0,44	-0,19	2,87	>0,05
МРТБ, n=20 (%)	6 (30,0)	14 (70,0)	0,53	0,47	0,35	0,50	0,30	2,12	>0,05
ПРТБ, n=30 (%)	4 (13,33)	26 (86,67)	0,37	0,63	0,47	0,46	-0,005	<1,0	>0,05
Всього дослід, n=96	13 (13,54)	83 (86,46)	0,37	0,63	0,47	0,47	-0,006	-	>0,05

**Висновки**

1. Серед хворих на туберкульоз легень жителів Буковини несприятливий гомозиготний делеційний генотип гена GSTT1 (rs17856199) наявний у 13,54 % випадків, частіше серед пацієнтів із мультирезистентним туберкульозом (у 2 рази; p=0,018).

2. За характером алельного розподілу гена GSTT1 домінує функціональний I алель (86,99 %), без статистично значимого дефіциту гетерозиготності при мультирезистентному туберкульозі (F=0,30, p>0,05), що загалом не порушує популяційної очікуваної рівноваги *Hardy-Weinberg*.

**Перспективою подальших досліджень** є вивчення ефективності лікування хворих на туберкульоз легень залежно від алельного стану гена GSTT1.

**Література**

1. Поліморфізм генів біотрансформації ксенобіотиків GSTM1, GSTT1, CYP2D6, вероятних маркерів ризику

онкологических заболеваний, в популяциях коренных этносов и русских Северной Сибири / Р.П. Корчагина, Л.П. Осипова, Н.А. Вавилова [и др.] // Вавил. ж. генетики и селекции. – 2011. – Т. 15, № 3. – С. 448-461.

2. A multiplex real-time PCR method for detection of GSTM1 and GSTT1 copy number / M. Timofeeva, B. Jager, A. Rosenberg [et al.] // Clin. Biochem. – 2009. – Vol. 42. – P. 500-509.
3. Genetic variants of glutathione S-transferase as possible risk factors for hepatocellular carcinoma: a HuGE systematic review and meta-analysis / D.L. White, D. Li, Z. Nurgalieva [et al.] // Am. J. Epidemiol. – 2008. – № 4. – P. 377-389.
4. Glutathione transferases in bacteria / N. Allocati, L. Federici, M. Masulli [et al.] // FEBS J. – 2009. – № 276 (1). – P. 58-75.
5. Methylation of the glutathione-S-transferase M3 gene promoter is associated with oxidative stress in acute-on-chronic hepatitis B liver failure / Q. Li, Z-Q. Zou, L-Y. Wang [et al.] // The Tohoku Journal of Experimental Medicine. – 2012. – № 228. – P. 43-51.

**ЧАСТОТА НУЛЕВОГО ГЕНОТИПА ГЕНА GSTT1 У БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВАРИАНТА РЕЗИСТЕНТНОСТИ МИКОБАКТЕРИИ ТУБЕРКУЛЕЗА**

*Л.Д. Тодорико<sup>1</sup>, И.А. Семьянив<sup>1</sup>, Е.В. Лесник<sup>2</sup>*

**Резюме.** Проведенный анализ частоты аллелей и генотипов гена GSTT1 у больных туберкулезом (ТБ) легких с учетом варианта резистентности микобактерии туберкулеза (МБТ) установил, что у больных с впервые диагностированным туберкулезом (ВДТБ) и полерезистентным туберкулезом (ПРТБ) достоверно чаще (в 14,3 и 6,5 раза; p<0,001) наблюдали отсутствие 0-генотипа (имеющийся функциональный аллель), чем гомозиготную делецию. I аллель выявляли относительно чаще у пациентов с ВДТБ и ПРТБ, чем у таких с мультирезистентным туберкулезом (МРТБ) в 3,07 (p<0,001) и 1,86 раз (p=0,046), с весомым превалированием лиц с ВДТБ над больными с ПРТБ – в 1,65 раз (p=0,012). Относительно носителей DD-генотипа, то их было больше среди пациентов с МРТБ, чем среди таких с ВДТБ в два раза (p=0,018).

**Ключевые слова:** туберкулез, делеционный полиморфизм, GSTT1, резистентность, МБТ.

**ANALYSIS OF THE GSTT1 GENE POLYMORPHISM IN PATIENTS WITH TUBERCULOSIS WITH REGARD TO THE VERSION OF MBT RESISTANCE**

*L.D. Todoriko<sup>1</sup>, I.O. Semianiv<sup>1</sup>, E.V. Lesnic<sup>2</sup>*

**Abstract.** An analysis of the occurrence of alleles and genotypes of GSTT1 gene in patients with pulmonary tuberculosis regarding the MBT resistance version allowed to establish that in patients with primary diagnosed tuberculosis (PDTB) and fieldresistant tuberculosis (PRTB) significantly more frequently in 14,3 and 6.5 times (p<0,001) were observed lack of genotype-0 (available functional allele) than homozygous deletions. I allele was detected relatively more frequently in patients with the PRTB and PDTB than those with MDRTB to 3,07 (p<0,001) and 1.86 times (p=0,046), with significant prevalence of persons with PDTB over patients with PRTB – 1,65 times (p=0,012). Regarding the DD-carrier genotypes, they were greater among patients with MDRTB than among those with PDTB 2-fold (p=0,018).

**Key words:** tuberculosis, deletion polymorphism, GSTT1, resistance, MBT.

<sup>1</sup>Higher State Educational Institution «Bukovinian State Medical University» (Chernivtsi)

<sup>2</sup>«Nicolae Testemitanu» State University of Medicine and Pharmacy, (Chisinau, republic of Moldova)