



УДК 616.24-002.5-008:577.152.2:579.873.21

Ю. І. Бажора, М. М. Чеснокова, В. В. Шишкін

## ВПЛИВ НА СТАН МІСЦЕВОГО ГОМЕОСТАЗУ ДИХАЛЬНИХ ШЛЯХІВ ХВОРИХ НА ТУБЕРКУЛЬОЗ ГЕНЕТИЧНИХ ЧИННИКІВ ГЛУТАТІОН-S-ТРАНСФЕРАЗ ТА ОСОБЛИВОСТЕЙ ГЕНОТИПУ *M. TUBERCULOSIS*

Одеський національний медичний університет

У попередніх публікаціях нами було показано, що при дослідженні конденсату вологи видихуваного повітря (КВВП) за допомогою методу лазерної кореляційної спектроскопії (ЛКС) виявляються певні зрушення в ЛК-спектрах порівняно з такими в КВВП здорових людей [1; 2]. Зважаючи на високу чутливість ЛКС до змін кількості та розміру частинок, що дають внесок у розсіювання світла, цей метод дозволяє оцінювати зміни гомеостазу біологічних рідин, які відбуваються в результаті дії різних чинників [3]. При туберкульозній інфекції перебіг хвороби залежить від дії значної кількості чинників хазяїна, патогену та навколишнього середовища [4]. Суттєву роль при цьому відіграють генетичні чинники як хворого, так і патогену [5].

Прикладом можуть слугувати дані літератури про вплив поліморфізму генів детоксикації ксенобіотиків на схильність до розвитку хвороб різного генезу, тяжкість перебігу захворювання та ефективність лікарських засобів [6].

**Метою** роботи було вивчення напряму і ступеня зсувів

місцевого гомеостазу дихальних шляхів хворих на туберкульоз залежно від генотипу *M. tuberculosis* та генотипу *GSTT* і *GSTM* хазяїна.

### Матеріали та методи дослідження

До дослідження були залучені хворі на туберкульоз легенів, що були госпіталізовані для стаціонарного лікування в Одеську обласну протитуберкульозну клінічну лікарню і дали згоду на участь у дослідженні (79 осіб). Культури *M. tuberculosis* було отримано від 56 (70,8 %) пацієнтів. Посів, культивування та ідентифікація мікобактерій були проведені у бактеріологічній лабораторії Одеської клінічної протитуберкульозної лікарні. Виявлення штамів родини *Beijing* проводили за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) за наявності IS6110 інсерції в міжгенній *dnaA* - *dnaD* ділянці [7]. Виділяли ДНК хворих із крові хворих за допомогою реагентів комерційного набору «ДНК-сорб-В» («Амплісенс», Москва). Поліморфні ділянки *GSTM1*, *GSTT1* ампліфікували за допомогою мульти-

плексної ПЛР на ампліфікаторі «Терцик» («ДНК-технологія», Москва) з використанням локусспецифічних олігонуклеотидних праймерів («Литех», Москва) згідно з протоколом для одномоментного аналізу поліморфізму *GSTM1* і *GSTT1* за M. Arand et al. (1996) [8]. На початку лікування отримували КВВП для ЛКС дослідження за допомогою стандартизованої методики [9], результати аналізували з використанням «семіотичного» класифікатора [3]. Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програм Microsoft Excel та «Bio-stat» з визначенням критерію  $\chi^2$  та відносного ризику (RR).

### Результати дослідження та їх обговорення

У 56 хворих, у яких спостерігалось бактеріовиділення, проведено молекулярно-генетичне дослідження отриманих ізолятів. Штами родини *Beijing* ідентифіковано у 14 (25 %) хворих на туберкульоз, штами інших генетичних груп — у 42 (75 %) пацієнтів (табл. 1).

Зміни в макромолекулах субфракції КВВП, отриманого від хворих, інфікованих *M. tuber-*



**Особливості субфракційного складу КВВП  
залежно від генетичних особливостей МБТ та генотипу *GSTT* та *GSTM***

Характер гомеостатичних зсувів	Генетична родина <i>M. tuberculosis</i> , n=56		Генотип хворого за генами <i>GSTT</i> і <i>GSTM</i> , n=79			
	Beijing, n=14, 25 %	Інші генетичні групи, n=42, 75 %	<i>GSTT</i> +, n=65, 82,3 %	<i>GSTT</i> -, n=14, 17,7 %	<i>GSTM</i> +, n=38, 48,1 %	<i>GSTM</i> -, n=41, 51,9 %
Катаболічно-спрямовані зсуви (всього)	7 (50 %)	25 (59,5 %)	39* (60 %)	6 (42,8 %)	20 (52,6 %)	25* (61 %)
— інтоксикаційні	2 (14,3 %)	6 (14,3 %)	8 (12,3 %)	1 (7,1 %)	5 (13,1 %)	4 (9,8 %)
— дистрофічні	5 (35,7 %)	19 (45,2 %)	31 (47,7 %)	5 (35,7 %)	15 (39,5 %)	21 (51,2 %)
Синтетично-спрямовані зсуви (всього)	7 (50 %)	8 (19,0 %)	17 (26,2 %)	5 (35,8 %)	12 (31,6 %)	10 (24,4 %)
— автоімунні	5 (35,7 %)	6 (14,3 %)	2 (3,2 %)	2 (14,3 %)	2 (16,6 %)	2 (4,9 %)
— алерго-автоімунні	—	—	1 (1,5 %)	1 (7,2 %)	1 (8,3 %)	1 (2,4 %)
— алергічні	2 (14,3 %)	2 (5,7 %)	14 (21,5 %)	2 (14,3 %)	9 (23,6 %)	7 (17,1 %)
Змішані	—	6 (14,3 %)	9 (13,8 %)	3 (21,4 %)	6 (15,8 %)	6 (14,6 %)
Нормоподібний стан	—	3 (7,2 %)	—	—	—	—
	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %

*Примітка.* \* — відмінності між синтетично- та катаболічно-спрямованими зрушеннями в межах групи вірогідні за критерієм  $\chi^2$ ,  $p \leq 0,001$ .

*culosis* штаму *Beijing*, мали катаболічне (дистрофічні та інтоксикаційні зрушення) спрямування у 7 (50 %) осіб, алергоподібні ще у 7 (50 %) хворих.

У групі хворих, інфікованих мікобактеріями інших генетичних груп, катаболічноподібні зрушення в ЛК-спектрах також переважають (59,5 % випадків). Поряд з цим реєструються також змішані (14,3 %) та нормоподібні ЛК-спектри, але статистично значущих відмінностей між цими групами хворих немає.

Серед 79 обстежених хворих на туберкульоз делецію *GSTT* спостерігали у 14 (17,7 %), а делецію *GSTM* — у 41 (51,9 %) пацієнта. У групі хворих із *GSTM-null* генотипом переважали зсуви катаболічного напрямку. Так, дистрофічні зсуви трапляються частіше (51,2 %), ніж синтетично-спрямовані (24,4 %) ( $\chi^2 = 6,3$ ,  $p = 0,01$ , RR 2,1, CI 1,13–3,89).

При генотипі *GSTM+* дистрофічні й синтетично-спрямовані зміни в ЛК-спектрах КВВП реєструвалися приблизно з однаковою частотою (39,5 і 31,6 % відповідно). Частота змін у ЛК-спектрах інтоксикаційного характеру не залежала від наяв-

ності або відсутності *GSTM* (13,2 та 9,8 % відповідно). Аналогічні зміни були в співвідношенні змішаних (14,6 та 15,8 %) ЛК-спектрів у КВВП хворих як з відсутністю, так і наявністю гена.

Субфракційний склад КВВП у хворих на туберкульоз із різними *GSTT* генотипами був іншим. Так, у групі хворих із *GSTT-null* генотипом дистрофічноподібні й алергоподібні зміни траплялися майже з однаковою частотою. У 21,4 % хворих реєструвалися змішані зсуви в ЛК-спектрах, а у 7,1 % — зсуви інтоксикаційного напрямку.

При генотипі *GSTT+* ЛК-спектри дистрофічноподібного характеру становили 47,7 % випадків, синтетично-спрямовані — 26,1 % ( $\chi^2 = 6,4$ ,  $p = 0,01$ , RR 1,8, CI 1,13–2,95), інтоксикаційні — 12,3 %, змішані — 13,8 % випадків.

При аналізі характеру змін у ЛК-спектрах КВВП при різних комбінаціях *GSTT* та *GSTM* генотипів встановлено таке. В групі хворих, ЛК-спектри яких мали дистрофічноподібні зміни, переважало поєднання *GSTT+* і *GSTM-* генотипів. При алергоподібних зсувах у субфракцій-

ному складі КВВП найчастішою була комбінація *GSTT+* і *GSTM+* генотипів (45,5 % випадків).

Суттєві відмінності між частотою виявлення варіантів наявності/відсутності ферментів *GSTT* та *GSTM* при різних типах гомеостатичних зсувів КВВП знайдені лише для комбінації *GSTT+* і *GSTM-* ( $n = 34$ ). У хворих із такою комбінацією дистрофічні зсуви в ЛК-спектрах відзначалися суттєво частіше (55,9 %), ніж алергоподібні (20,6 %) ( $\chi^2 = 8,9$ ,  $p = 0,003$ , RR 2,7, CI 1,32–5,6).

### Дискусія

Як і слід було очікувати, при інфікуванні хворих штамами *Beijing* спостерігаються певні особливості в макромолекулярному складі КВВП. У всіх випадках констатуються або інтоксикаційні, або алергоподібні зсуви, що свідчить про глибокі порушення в місцевому гомеостазі дихальної системи хворих на туберкульоз легенів. При інфікуванні штамами інших генетичних груп характер ЛК-спектрів більш різноспрямований: при переважанні дистрофічноподібних та інтоксикаційних зсувів у значної кіль-



кості виявляються ЛК-спектри змішаного типу та ті, що мають нормоподібний тип. Зазначені зміни збігаються з результатами як наших досліджень, так і даними літератури про більш тяжкий перебіг туберкульозу, що зумовлений штамами родини *Beijing* [10; 11].

Результати зіставлення варіантів гістограм якісного розподілу макромолекул залежно від гідродинамічного радіуса з варіантами генотипів *GSTM* і *GSTT* дозволили виявити певні відмінності в ЛК-спектрах КВВП хворих на туберкульоз.

У цілому, незалежно від варіантів генотипів *GSTM* і *GSTT* у КВВП переважають ЛК-спектри, характерні для катаболічних (дистрофічних, інтоксикаційних) та алергоподібних симптомкомплексів, тобто відзначається домінування зсувів, характерних для туберкульозного процесу. Однак певні особливості макромолекулярного складу КВВП спостерігаються як при *GSTT+*, *GSTM+*, так і при *GSTT-*, *GSTM-* генотипах хворих. При деяких поєднаннях генотипів *GSTM* і *GSTT* тенденція відмінностей більш виражена та досягає статистично значущих величин.

Отримані результати можна пояснити роллю, яку відіграють ферменти *GSTM* і *GSTT* в обміні глутатіону — одного з основних учасників як першої, так і другої фаз біотрансформації ксенобіотиків [12]. У хворих на туберкульоз ця ланка біотрансформації ксенобіотиків працює зі значним навантаженням, оскільки в організмі внаслідок вираженого катаболізму нагромаджується значна кількість агресивних радикалів ендogenous походження. Суттєвий внесок додають компоненти оксидативного вибуху при включенні імунної системи хазяїна у відповідь на агресію *M. tuberculosis*. Комплексна специфічна та тривала хіміотерапія зумовлює значний тиск на процеси біотрансформації, в тому числі і на глутатіон. Не-

обхідно мати на увазі, що хворі на туберкульоз в Одеському регіоні мешкають в екологічно небезпечному районі, де в організм людини потрапляють різні за походженням ксенобіотики, які потребують біотрансформації в організмі.

У такій ситуації наявність *GSTM-null* і *GSTT-null* генотипів у хворих на туберкульоз негативно впливає на процеси детоксикації та нагромадження в організмі активних метаболітів, які зумовлюють інтоксикацію та алергізацію організму. Подібне припущення узгоджується із характером ЛК-спектрів КВВП хворих на туберкульоз.

Подальші дослідження у цьому напрямку дозволять встановити нові ланки патогенезу туберкульозної інфекції, знання яких може мати значення для розробки методів профілактики та більш ефективного лікування хворих на туберкульоз.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. *Комлевий О. М.* Добові зміни складу конденсату вологи видихуваного повітря в юнаків та дівчат, отримані за допомогою методу лазерної кореляційної спектроскопії / *О. М. Комлевий, М. М. Чеснокова* // Буковинський медичний вісник. — 2006. — Т. 10, № 4. — С. 74–76.
2. *Бажора Ю. І.* Біофізичні особливості конденсату видихуваного повітря, плазми та сечі хворих на легеневий туберкульоз / *Ю. І. Бажора; М. М. Чеснокова, О. О. Сметюк* // Розвиток наукових досліджень-2009 : 5-та міжнар. НПК. Полтава, 23–25 листопада 2009 р. : матеріали — Полтава : ІнтерГрафіка, 2009. — Т. 7. — С. 13–15.
3. *Бажора Ю. І.* Лазерная корреляционная спектроскопия в медицине / *Ю. І. Бажора, Л. А. Носкин*. — Одесса : Друк, 2002. — 400 с.
4. *Бажора Ю. І.* Патогенетичні особливості взаємодії у системі «паразит-хазяїн» при інфікуванні *M. tuberculosis* родини *Beijing* / *Ю. І. Бажора, М. М. Чеснокова, Н. А. Левицька* // Одеський медичний журнал. — 2009. — № 1. — С. 33–36.
5. *Молекулярна епідеміологія* / *В. М. Запорожан, Ю. І. Бажора, В. І. Кресюн* [та ін.] ; за ред. *В. М. Запорожана*. — Одеса : Одес. держ. мед. ун-т, 2010. — 316 с.

6. *Кресюн В. І.* Фармакогенетические основы взаимодействия организма и лекарств / *В. І. Кресюн, Ю. І. Бажора*. — Одеса : Одес. держ. мед. ун-т, 2007. — 164 с.

7. *Методика генотипування збудника туберкульозу людини (належності *M. tuberculosis* до родини *Beijing*)* : метод. рекомендації / уклад. *В. І. Кресюн* [та ін.]. — Одеса, 2010. — 18 с.

8. *Multiplex Polymerase Chain Reaction Protocol for the Simultaneous Analysis of the Glutathione S-Transferase *GSTM1* and *GSTT1* Polymorphisms* / *M. Arand, R. Muhlbauer, J. Hengstler* [et al.] // *Analytical biochemistry*. — 1996. — Vol. 236. — P. 184–186.

9. *Пат. 47117* Україна, МПК<sup>51</sup> А 61 В 10/00. Пристрій для збирання конденсату вологи видихнутого повітря / *Комлевой О. М., Бажора Ю. І.* ; заявник та патентовласник Одес. держ. мед. ун-т. — № у 2009 11258 ; заявл. 06.11.09 ; опубл. 11.01.10, Бюл. № 1.

10. *Чеснокова М. М.* Особливості перебігу туберкульозу при інфікуванні штамами *M. tuberculosis* родини *Beijing* / *М. М. Чеснокова* // Досягнення біології та медицини. — 2009. — № 1 (13). — С. 39–43.

11. *Parwati I.* Possible underlying mechanisms for successful emergence of the *Mycobacterium tuberculosis Beijing* genotype strains / *I. Parwati, R. van Crevel, D. van Soolingen* // *Lancet infection diseases*. — 2010. — Vol. 10. — P. 103–111.

12. *Коржов В. І.* Роль системы глутатиона в процессах детоксикации и антиоксидантной защиты (обзор литературы) / *В. І. Коржов, В. Н. Жадан, М. В. Коржов* // *Журнал АМН України*. — 2007. — Т. 13, № 1. — С. 3–19.

