

Л. Д. Тодоріко, І. О. Сем'янів
**АЛЕЛЬНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНІВ СИСТЕМИ ДЕТОКСИКАЦІЇ КСЕНОБІОТИКІВ,
 ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ЯДЕРНОГО ХРОМАТИНУ ГЕПАТОЦИТІВ
 ПРИ ТУБЕРКУЛЬОЗІ ЛЕГЕНЬ ЗАЛЕЖНО ВІД ВАРІАНТУ РЕЗИСТЕНТНОСТІ**

ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет»

**АЛЕЛЬНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНОВ СИСТЕМИ ДЕТОКСИКАЦІЇ
 КСЕНОБІОТИКІВ, ФУНКЦІОНАЛЬНЕ СОСТАННЯ ЯДЕРНОГО
 ХРОМАТИНА ГЕПАТОЦИТІВ ПРИ ТУБЕРКУЛЬОЗІ ЛЕГКИХ
 В ЗАВИСІМОСТІ ОТ ВАРІАНТА РЕЗИСТЕНТНОСТІ**

Л. Д. Тодоріко, І. А. Семьянив

Резюме

Цель работы — установить аллельный полиморфизм генов системы детоксикации ксенобиотиков и функциональное состояние ядерного хроматина гепатоцитов у больных туберкулезом (ТБ) в зависимости от варианта резистентности микобактерии туберкулеза (МБТ).

Материалы и методы. Обследовано 100 больных туберкулезом легких (ВДТБ) и 50 практически здоровых лиц. Геномную ДНК выделяли из цельной венозной крови. Полиморфные участки глутатион-S-трансферазы (GST) выделяли с помощью мультикомплексной полимеразной цепной реакции согласно протоколу для одномоментного анализа полиморфизма по M. Arana et al. (1996). Для изучения состояния ядерного хроматина в гепатоцитах проведено проспективное патоморфологическое исследование 28 случаев смерти больных туберкулезом легких.

Результаты. Мутация в промоторной зоне исследуемых генов GST имеет место у 39,99 % обследованных (у 20,55 % больных ТБ и у 16,44 % практически здоровых), среди них больше половины (64,81 %) являются носителями патологического 0/0-генотипа гена GSTM1 в гаплотипе, тогда как комбинация гомозиготной мутации гена GSTT1 0/0 встречается в 2,33 раза реже и наблюдается почти у каждого третьего (27,78 %) обследованного. 4,17 % больных ТБ легких являются носителями патологических генотипов обоих изоформ генов GST.

Благоприятная комбинация функциональных аллелей в гаплотипе сопряжена с более легким клиническим течением ВДТБ на фоне редкой ко- и полиморбидности и лучшей эффективности лечения — достоверно чаще наблюдалось частичное и полное рассасывание очагово-инфильтративных изменений, заживление полостей распада, прекращение бактериовыделения. В основной группе был достоверно выше коэффициент вариации оптической плотности ядерного хроматина гепатоцитов I, II и III зонах ацинуса.

Выводы. У всех носителей мутантных генотипов по обоим генам (GSTT1 0/0 / GSTM1 0/0) отсутствует динамика под влиянием лечения, или имеют место негативные изменения, что подтверждает недостаточную ферментативную активность системы детоксикации с негативным ответом на антимикобактериальную терапию. При ХРТБ средний показатель коэффициента вариации оптической плотности ядерного хроматина был выше аналогичного показателя в подгруппе чувствительного ТБ, что указывает не только на нарушение баланса между эу- и гетерохроматином, но и свидетельствует в пользу снижения активности ядер этих клеток относительно вовлечения ДНК в синтетические процессы и является субстратом для развития гепатоцелюлярной дисфункции.

Ключевые слова: туберкулез, гепато-панкреато-билиарная система, GSTT1, GSTM1, ядерный хроматин.

Укр. пульмонол. журнал. 2017, № 3, С.29–33.

Тодоріко Лілія Дмитрівна

ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет»

Завідувач кафедри фтизіатрії та пульмонології

Доктор мед. наук, професор,

25, вул. Українська, м. Чернівці, 58000, Україна

Тел.: +380506607959, pulmonology@bsmu.edu.ua

**POLYMORPHISM OF ALLELIC GENES OF XENOBIOTICS
 DETOXIFICATION SYSTEM, HEPATOCYTES NUCLEAR CHROMATIN
 FUNCTIONAL STATUS IN PULMONARY TUBERCULOSIS,
 DEPENDING ON RESISTANCE TYPE**

L. D. Todoriko, I. O. Semianiv

Abstract

Objective — to establish allelic gene polymorphism of xenobiotics detoxification system and nuclear chromatin functional condition of hepatocytes in patients with tuberculosis (TB) depending on resistance of Mycobacteria (MBT).

Materials and methods. The study involved 100 patients with pulmonary TB and 50 apparently healthy individuals. Genomic DNA was isolated from whole venous blood. Polymorphic sites of glutathione-S-transferase (GST) were isolated by polymerase chain reaction, according to the protocol for instantaneous analysis of polymorphism by M. Arana et al (1996). Nuclear chromatin of hepatocytes was studied at 28 autopsy cases of patients deceased TB patients.

Results. A mutation in the promoter area of GST genes was revealed in 39,99 % of the patients (in 20,55 % of TB patients and in 16,44 % healthy subjects). More than half (64,81 %) of the examined were the carriers of pathological GSTM1 gene in haplotype, whereas the combination of GSTT1 homozygous mutations was 2,33 times rarer, present in almost each third (27,78 %) patient. 4,17 % of pulmonary TB patients were the carriers of the abnormal gene genotypes of both GST isoforms.

A favorable combination of functional alleles in the haplotype was characterized by less severe clinical course, less comorbidity, better treatment effectiveness in terms of partial and complete resolution of lung lesions, cavity healing, sputum smears negativation.

Conclusions. All carriers of mutant genotypes for both genes (GSTT1 0/0 / GSTM1 0/0) were treatment resistant due to the lack of enzymatic activity of detoxification system.

In drug-resistant TB mean nuclear chromatin optical density variation coefficient was higher, than in susceptible TB, indicating the imbalance between eu- and heterochromatin, reduced activity of hepatocyte nuclei and possible development of hepatic cellular dysfunction.

Key words: tuberculosis, hepatic-pancreatic-biliary system, GSTT1, GSTM1, nuclear chromatin.

Ukr. Pulmonol. J. 2017; 3: 29–33.

Lilia D. Todoriko

HSEI of Ukraine "Bucovinian state medical university"

Chief of Department of tuberculosis and pulmonology

D.M., PhD, professor

58000, Ukraine, Chernivtsi, Ukrainian str., 25

Tel.: +380506607959, pulmonology@bsmu.edu.ua

Одним з основних принципів антибактеріальної терапії туберкульозу є тривалий і безперервний прийом антимікобактеріальних препаратів (АМБП), що зумовлює підвищення токсичного впливу їх метаболі-

тів [1]. Ступінь вираженості гепатотоксичності значною мірою зумовлений індивідуальним поліморфізмом хворого за генами біотрансформації ксенобіотиків [2, 3, 4].

Існують окремі дослідження, які свідчать, що у хворих на туберкульоз (ТБ) ланка біотрансформації ксено-

біотиків працює зі значним навантаженням, оскільки в організмі внаслідок вираженого катаболізму накопичується значна кількість агресивних радикалів ендogenous походження [5]. Суттєвий внесок додають компоненти оксидативного вибуху при включенні імунної системи хазяїна у відповідь на агресію мікобактерії туберкульозу (МБТ). Комплексна специфічна та тривала антимікобактеріальна терапія (АМБТ) здійснює значний тиск на процеси біотрансформації, у тому числі, і на глутатіон. У такій ситуації наявність нульового генотипу глутатіон-S-трансферази M1 (GSTM-null) і глутатіон-S-трансферази T1 (GSTT-null) генотипів у хворих на ТБ негативно впливає на процеси детоксикації та сприяє накопиченню в організмі активних метаболітів, які зумовлюють прогресування інтоксикації та алергізацію організму [6]. Очевидно, це зумовлено адаптацією організму до ліків, а також тим, що інфільтративна фаза туберкульозного процесу є стадією алергійного налаштування і сприяє посиленню неспецифічної алергії до АМБП.

В останні роки все частіше з'являються повідомлення про поєднання туберкульозу і уражень печінки [1, 7]. Взаємно обтяжуючий вплив захворювань, необхідність тривалого використання антимікобактеріальних препаратів (АМБП), кожен з яких та їх метаболіти можуть призвести до змін в системі детоксикації і метаболізму печінки, створюють умови для розвитку побічних реакцій та ускладнень [2]. Дані більшості клінічних досліджень свідчать про високу частоту ускладнень у хворих на туберкульоз, які супроводжуються маніфестацією з клінічно вираженою супутньої патології печінки [6, 7].

Виходячи з вищевказаного, поставили за мету встановити алельний поліморфізм генів системи детоксикації ксенобіотиків та функціональний стан ядерного хроматину гепатоцитів у хворих на ТБ залежно від варіанту резистентності МБТ.

Матеріали та методи

Обстежено 100 хворих на туберкульоз легень (ВДТБ), які знаходились на стаціонарному лікуванні в Чернівецькому обласному протитуберкульозному диспансері. Контрольну групу склали 50 практично здорових осіб. Геномну ДНК виділяли з цільної венозної крові. Поліморфні ділянки GST виділяли за допомогою мультикомплексної полімеразної ланцюгової реакції, згідно з протоколом для одномоментного аналізу поліморфізму за M. Arana et al (1996). Делеції гена відповідає відсутність відповідної смужки на електрофорограмі.

Для статистичного аналізу даних використовували програму STATISTICA, версія 10.0.228.8 (StatSoft, Inc.). Різницю у розподілі частот генотипів та їх поєднань між групами розраховували за допомогою критерію χ^2 . Відмінності розглядали як достовірні при рівнях значимості $p < 0,05$. Про асоціацію генотипів з схильністю до туберкульозу легень судили за величиною відношення шансів (odds ratio, OR).

Для вивчення стану ядерного хроматину в гепатоцитах, проведено проспективне патоморфологічне дослідження 28 випадків смерті хворих, що померли від різних причин, у яких в заключному клінічному та патологоанатомічному діагнозах в якості основного захворю-

вання фігурував туберкульоз легень.

Вивчалась первинна медична облікова документація: медичні карти стаціонарного хворого (ф. № 003/о) та протоколи патологоанатомічних досліджень (ф. № 103/о).

Збір автопсійного матеріалу (груп порівняння та основної) проводився на базі ОКМУ «Патологоанатомічне бюро», м Чернівці за 2014-2015 рр. з урахуванням «Закону України про поховання та похоронну справу із змінами внесеними згідно Закону № 2246-IV від 16.02.2004, ВВР, 2005, № 4, ст. 105». Для проведення гістологічного дослідження у кожному випадку забиралось 6 зразків тканини печінки (по 3 з різних ділянок правої та лівої долі).

При виконанні гістологічних досліджень використовували мікроскоп біологічний Delta Optical Evolution 300 Trino Plan LED; збільшення $\times 40$, $\times 100$, $\times 400$, $\times 600$, $\times 1000$ (окуляр $\times 10$; об'єктиви $\times 4$, $\times 10$, $\times 40$, $\times 60$, $\times 100$). Цифрові копії оптичного зображення ділянок мікроскопічних препаратів отримували за допомогою цифрового фотоапарата Olympus C740UZ при використанні різних об'єктивів мікроскопа залежно від мети аналізу.

Залежно від клінічних форм та варіантів туберкульозу основна група була поділена на три підгрупи. Так, першу підгрупу основної групи склали 10 випадків, у яких клінічно був встановлений діагноз ВДТБ, до другої підгрупи увійшло 10 випадків ПРТБ та до третьої — 8 випадків МРТБ. Групу порівняння склали 10 трупів осіб без патології гепатобіліарної системи та морфологічних ознак туберкульозної інфекції.

Статистичну обробку матеріалів проводили із використанням пакета програмного забезпечення IBM SPSS Statistics для Windows.

Результати

Одним із важливих чинників належного функціонування детоксикаційної функції печінки, є система ферментів глутатіон-S-трансферази, зокрема, основні гени даного сімейства M1 та T1 [8].

Аналіз результатів, наведених у таблиці 1, показав, що гаплотип нормальних функціональних алелей аналізованих генів (GSTM1+/GSTT1+) спостерігали у 63,01 % ($n = 92$) обстежених: 45,21 % ($n = 66$) — у хворих на ТБ, 17,81 % ($n = 26$) — у контролі ($\chi^2 = 3,96$, $p = 0,047$). «Несприятливий» делеційний варіант гена GSTM1 виявили майже в кожного четвертого (23,97 %, $n = 35$): у 11,64 % ($n = 17$) хворих на ТБ, та у 12,33 % ($n = 18$) ПЗО ($\chi^2 = 6,04$, $p = 0,014$). Натомість мутацію гена GSTT1 (0/0) фіксували у 2,33 рази рідше, ніж гена GSTM1: загалом у 10,27 % ($n = 15$) обстежених, серед них у 6,16 % ($n = 9$) хворих на ТБ та у 4,11 % ($n = 6$) осіб групи контролю ($p > 0,05$). Загалом, наявність мутаційного генотипу хоча б за одним геном виявляли майже у кожного третього обстеженого — 36,99 % ($n = 54$), серед них тільки у чотирьох осіб було поєднання гомозигот за мінорним алелем.

Расовий і популяційний аналіз засвідчив, що частота виявлення делеційного генотипу із відсутністю обох ізоформ ферментів GST (GSTM1 0/0 / GSTT1 0/0) в обстеженій нами популяції ($P_D = 0,027$) є у 2,3 рази менша, ніж в осіб європеїдної раси ($P_D = 0,062-0,105$) і у 9,1 разів менша, ніж серед монголоїдів ($P_D = 0,246-0,248$), що можна трактувати особливостями регіону проживання.

Таблиця 1

Розподіл комбінацій ізоформ алельних варіантів генів *GSTM1* та *GSTT1* у хворих на туберкульоз легень

Комбінація ізоформ алельних варіантів генів <i>GSTM1</i> та <i>GSTT1</i> , n (%)	Групи спостереження		ВШ [95 % ДІ]	χ^2 р
	Дослідна група, n = 96 (%)	Конт-рольна група, n = 50 (%)		
<i>GSTM1</i> +/ <i>GSTT1</i> + n = 92 (%)	66 (68,75)	26 (52,0)	2,03 [1,0–4,10]	$\chi^2 = 3,96$ p = 0,047
<i>GSTM1</i> +/ <i>GSTT1</i> 0/0, n = 15 (%)	9 (9,37)	6 (12,0)	0,76 [0,25–2,27]	$\chi^2 < 1,0$ p > 0,05
<i>GSTT1</i> +/ <i>GSTM1</i> 0/0, n = 35 (%)	17 (17,71)	18 (36,0)	0,38 [0,17–0,83]	$\chi^2 = 6,04$ p = 0,014
<i>GSTT1</i> 0/0/ <i>GSTM1</i> 0/0, n = 4 (%)	4 (4,17)	0	–	–

Примітки: *GSTM1*+, *GSTT1*+ — наявність функціонального алеля генів глутатіон S-трансфераз *GSTM1*, *GSTT1*; *GSTM1* 0/0, *GSTT1* 0/0 — нульові генотипи; ВШ — відношення шансів; 95% ДІ — довірчий інтервал; p — вірогідність різниць показників; n (%) — кількість (відсоток) спостережень.

Розподіл гаплотипів генів *GSTM1* та *GSTT1* у хворих на туберкульоз легень залежно від варіанту резистентності МБТ наведено в таблиці 2. У хворих на ВДТБ вірогідно частіше спостерігали сприятливу комбінацію функціональних алелей аналізованих генів (*GSTM1*+ / *GSTT1*+), ніж у таких із МРТБ — на 26,09 % ($\chi^2 = 4,37$ p = 0,037). За рештою гаплотипів вірогідних відмінностей у частоті виявлення з урахуванням варіанту резистентності МБТ не встановили.

Епідеміологічний аналіз гаплотипів алельних варіантів генів *GSTM1* та *GSTT1*, як факторів ризику ТБ, засвідчив, що гаплотип *GSTM1*+ / *GSTT1*+ підвищує ризик ВДТБ легень у 1,46 рази за відношення шансів 2,94 [95 % CI: 1,22–7,05, p = 0,014] (табл. 3). Окрім того, у хворих на ТБ легень, носіїв мутаційного генотипу гена *GSTM1* (*GSTT1*+ / *GSTM1* 0/0 варіант) найнижчий ризик появи ВДТБ в обстеженій популяції — 0,48 [95 % CI RR: 0,23–1,0], із ймовірністю — 0,37 [95 % CI OR: 0,14–0,97, p = 0,04].

Таблиця 2

Розподіл гаплотипів генів *GSTM1* та *GSTT1* у хворих на туберкульоз легень залежно від варіанту резистентності МБТ

Комбінація ізоформ алельних варіантів генів <i>GSTM1</i> та <i>GSTT1</i> , n (%)	ВДТБ, n = 46 (%)	МРТБ, n = 20 (%)	ПРТБ, n = 30 (%)	χ^2 р
<i>GSTM1</i> +/ <i>GSTT1</i> +, n=66 (%)	35 (76,09)	10 (50,0)	21 (70,0)	$\chi^2 = 4,90$ p = 0,086
<i>GSTM1</i> +/ <i>GSTT1</i> 0/0, n = 9 (%)	3 (6,52)	3 (15,0)	3 (10,0)	$\chi^2 < 1,0$ p > 0,05
<i>GSTT1</i> +/ <i>GSTM1</i> 0/0, n = 17 (%)	8 (17,39)	4 (20,0)	5 (16,67)	$\chi^2 = 1,61$ p > 0,05
<i>GSTT1</i> 0/0/ <i>GSTM1</i> 0/0, n = 4 (%)	0	3 (15,0)	1 (3,33)	–

Примітки: 1. *GSTM1*+, *GSTT1*+ — наявність функціонального алеля генів глутатіон S-трансфераз *GSTM1*, *GSTT1*; *GSTM1* 0/0, *GSTT1* 0/0 — нульові генотипи; ВДТБ — вперше діагностований туберкульоз легень; p — вірогідність різниць показників; n (%) — кількість (відсоток) спостережень.

Таблиця 3

Гаплотипи алельних варіантів генів *GSTM1* та *GSTT1* як фактори ризику туберкульозу легень

Види туберкульозу легень	Потенційний фактор ризику / протекції			
	<i>GSTM1</i> +/ <i>GSTT1</i> +	<i>GSTM1</i> +/ <i>GSTT1</i> 0/0	<i>GSTT1</i> +/ <i>GSTM1</i> 0/0	<i>GSTT1</i> 0/0/ <i>GSTM1</i> 0/0
ВДТБ	RR	1,46	1,84	0,48
	95 % CI RR	1,07–2,0	0,49–6,93	0,23–1,0
	OR	2,94	1,95	0,37
	95 % CI OR	1,22–7,05	0,46–8,32	0,14–0,97
МРТБ	P	0,014	> 0,05	0,04
	RR	1,04	0,80	1,80
	95 % CI RR	0,62–1,74	0,22–2,89	0,69–4,66
	OR	1,08	0,77	2,25
ПРТБ	95 % CI OR	0,38–3,06	0,17–3,44	0,65–7,76
	P	> 0,05	> 0,05	> 0,05
	RR	0,74	1,20	2,16
	95 % CI RR	0,52–1,06	0,32–4,45	0,89–5,21
ПРТБ	OR	0,46	1,23	2,81
	95 % CI OR	0,18–1,21	0,28–5,32	0,92–8,62
	P	> 0,05	> 0,05	0,064
	P	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Ефективність лікування за припиненням бактеріовиділення відповідно розподілу гаплотипів алельних варіантів генів *GSTM1* та *GSTT1* у хворих на ТБ легень наведено в таблиці 4. Встановлено, що у носіїв диких алелей (*GSTM1*+ / *GSTT1*+) частіше припинялось бактеріовиділення на 60 дозі, ніж на 90 (для ВДТБ, ПРТБ) / 120 (для МРТБ) — на 18,40 % ($\chi^2 = 3,59$, p = 0,052) та 120 (для ВДТБ, ПРТБ) / 240 (для МРТБ) дозах — на 45,64 % (p = 0,002), відповідно. За наявності нульового генотипу (особливо за геном *GSTM1*) у гаплотипі (*GSTM1*+ / *GSTT1* 0/0, *GSTT1*+ / *GSTM1* 0/0, *GSTT1* 0/0 / *GSTM1* 0/0) частота припинення бактеріовиділення на 60 дозі була нижчою на 47,23 % ($\chi^2 = 18,67$, p < 0,001) із високою ймовірністю неефективного лікування (n = 8), припинення бактеріовиділення на 120/240 дозах (n = 8) спостерігалось у 66,67 % осіб, відповідно.

Таблиця 4

Ефективність лікування та розподіл гаплотипів алельних варіантів генів *GSTM1* та *GSTT1* у хворих на туберкульоз легень

Припинення бактеріовиділення під впливом терапії	<i>GSTM1</i> +/ <i>GSTT1</i> +, n = 66 (%)	<i>GSTM1</i> +/ <i>GSTT1</i> 0/0, n = 9 (%)	<i>GSTT1</i> +/ <i>GSTM1</i> 0/0, n = 17 (%)	<i>GSTT1</i> 0/0/ <i>GSTM1</i> 0/0, n = 4 (%)
Припинення бактеріовиділення на 60 дозі (+++), n = 26	24 (36,36)	1 (11,11)	1 (5,88)	0
Припинення бактеріовиділення на 90 (для ВДТБ, ПРТБ) / 120 (МРТБ) дозі (++), n = 46	34 (51,52)	4 (44,44)	8 (47,06)	0
Припинення бактеріовиділення на 120 (для ВДТБ, ПРТБ) / 240 (МРТБ) дозі (+), n = 15	7 (10,61)	2 (22,22)	5 (29,41)	1 (25,0)
Неефективне лікування (-), n = 9	1 (1,52)	2 (22,22)	3 (17,65)	3 (75,0)

Відсутність гомозиготної делеції у промоторній зоні аналізованих генів (*GSTT1*+ / *GSTM1*+) підвищує ймовір-

ність на припинення бактеріовиділення на 60 і 90 дозах для ВДТБ, ПРТБ та 120 дозі для МРТБ — у 1,77 і 1,42 рази за відношення шансів [95 % CI: 2,36–51,96, $p < 0,001$] та 2,61 [95 % CI: 1,11–6,18, $p = 0,027$], відповідно, та низької ймовірності неефективного лікування [OR = 0,11, 95 % CIOR: 0,01–0,99, $p = 0,025$]. Наявність делеції GSTM1 ізоформи в гаплотипі (GSTT1+ / GSTM1 0/0) зменшує шанси на «ефективне» лікування на дозах препаратів 60 і 90/120 і робить його вірогідно низьким у популяції [OR = 0,07, 95 % CIOR: 0,09–0,57, $p = 0,002$ і OR = 0,37, 95 % CIOR: 0,14–0,97, $p = 0,04$, відповідно]. Поєднання «мутантних» алелей обох генів (GSTT1 0/0 / GSTM1 0/0 варіант) підвищує ризик неефективного лікування у 16,67 разів [95 % CI: 1,94–72,95], за відношення шансів 24,50 [95 % CI: 2,18–142,64, $p = 0,009$] (табл. 5).

Таблиця 5

Гаплотипи алельних варіантів генів GSTM1 та GSTT1, як прогностичні чинники ефективності лікування хворих на ТБ легень

Ефективність лікування		Потенційний фактор ризику			
		GSTM1+/ GSTT1+	GSTM1+/ GSTT1 0/0	GSTT1+/ GSTM1 0/0	GSTT1 0/0 / GSTM1 0/0
Припинення бактеріовиділення на 60 дозі	RR	1,77	0,32	0,11	–
	95 % CI RR	1,33–2,37	0,04–2,52	0,02–0,76	–
	OR	11,08	0,29	0,07	–
	95 % CI OR	2,36–51,96	0,03–2,58	0,09–0,57	–
	p	< 0,001	> 0,05	0,002	–
Припинення бактеріовиділення на 90 (ВДТБ, ПРТБ) / 120 (МРТБ) дозі	RR	1,42	0,72	0,48	–
	95% CI RR	1,04–1,95	0,22–2,41	0,23–1,0	–
	OR	2,61	0,70	0,37	–
	95% CI OR	1,11–6,18	0,18–2,65	0,14–0,97	–
	p	0,027	> 0,05	0,04	–
Припинення бактеріовиділення на 120 (для ВДТБ, ПРТБ) / 240 (МРТБ) дозі	RR	0,90	1,11	0,93	3,33
	95% CI RR	0,49–1,64	0,25–4,94	0,41–2,47	0,22–25,15
	OR	0,81	1,13	0,89	3,50
	95% CI OR	0,25–2,57	0,20–6,27	0,26–3,01	0,21–29,59
	p	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
Неефективне лікування (–)	RR	0,21	1,85	0,93	16,67
	95% CI RR	0,03–1,38	0,44–7,77	0,24–2,50	1,94–72,95
	OR	0,11	2,09	0,89	24,50
	95% CI OR	0,01–0,99	0,35–12,52	0,20–3,99	2,18–142,64
	p	0,025	> 0,05	> 0,05	0,009

Отримані результати аналізу гаплотипів алельних варіантів генів GSTT1 та GSTM1 як чинників прогнозу щодо ефективності лікування хворих на ТБ легень з врахуванням варіанту фармакорезистентності дозволяють висловити припущення про значний вплив поліморфізму генів системи детоксикації ксенобіотиків на перебіг туберкульозної інфекції. Результати дослідження спонукали до наступного етапу наукового пошуку, а саме, патоморфологічного дослідження печінки з метою патогістологічної оцінки функціонального стану гепатоцитів за наявності різних варіантів поліморфізму генів GSTT1 та GSTM1 при туберкульозі легень

Результати проспективного патоморфологічного дослідження показали, що функціональний стан ядра знаходить відображення в характері та розподілі хроматину. Так, у зовнішніх відділах диплоїдних ядер нормальних тканин знаходять конденсований (компактний) хроматин — гетерохроматин, а в решті її відділів — неконденсований хроматин — еухроматин [9]. Гетерохроматин та еухроматин відображують різні функціональні стани ядра; перший із них вважають неактивним, другий — досить активним та таким, що відображує участь ядра у різних метаболічних непродіферативних та проліферативних процесах. Оскільки ядро може переходити зі стану відносного функціонального спокою в стан функціональної активності і, навпаки, морфологічна картина розподілу хроматину, представлена гетеро- та еухроматином, не може бути статичною [9].

Таблиця 6

Коефіцієнт варіації оптичної густини ядерного хроматину гепатоцитів хворих на туберкульоз легень та у групі порівняння ($X \pm Sx$); (%)

Зони ацинуса (за Рарпорт)	Групи дослідження			
	Група порівняння (n = 20)	Основна група		
		Підгрупа I (n = 19)	Підгрупа II (n = 21)	Підгрупа III (n = 20)
I зона	5,2 ± 0,97	10,4 ± 2,01*	19,6 ± 4,55**	26,7 ± 6,35 [#]
II зона	9,1 ± 1,21	18,3 ± 3,28*	27,7 ± 5,13**	32,2 ± 6,17 [#]
III зона	15,3 ± 2,18	26,1 ± 4,09*	34,9 ± 6,08**	42,4 ± 5,96 [#]

Примітки: * — достовірно у порівнянні з групою порівняння при $p < 0,01$; ** — достовірно у порівнянні з підгрупою I при $p < 0,01$; [#] — достовірно у порівнянні з підгрупою II при $p < 0,01$.

Аналіз цифрових даних, наведених у таблиці 6, показав лінійне зростання показника коефіцієнту варіації оптичної густини забарвлення ядер в підгрупах дослід-

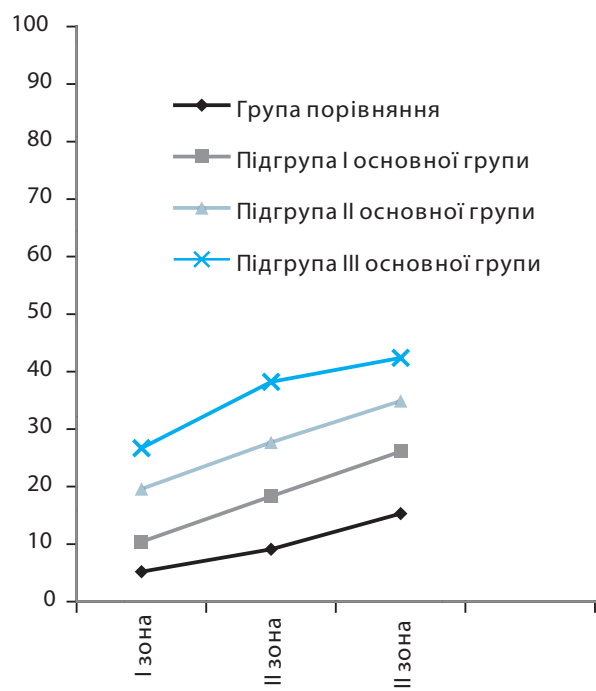


Рис. 1. Коефіцієнт варіації оптичної густини ядерного хроматину гепатоцитів хворих на туберкульоз легень та у групі порівняння у I, II та III зонах ацинуса.

ження II і III, тобто при резистентному ТБ легень від I до III зони ацинуса (від перипортальної до централобулярної зони), що підтверджується збільшенням гомогенності забарвлення ядра гепатоцитів I зони та свідчить про збільшення активності їх ядра щодо залучення ДНК до синтетичних процесів. У III зоні ацинуса показник коефіцієнту варіації оптичної густини забарвлення ядра був достовірно вищим порівняно з I та II зоною у всіх групах ($p < 0,05$), що вказує на гетерогенну організацію хроматину, а отже, є морфологічним субстратом щодо трактування обмеження функціональної здатності гепатоцитів централобулярної зони.

Висновки

1. Мутація в промоторній зоні досліджуваних генів GST є наявною у 39,99 % обстежених (у 20,55 % хворих на ТБ та у 16,44 % практично здорових), серед них більше половини (64,81 %) є носіями патологічного 0/0-генотипу гена GSTM1 у гаплотипі, тоді як комбінація гомозиготної мутації гена GSTT1 0/0 зустрічається у 2,33 рази рідше і наявна майже у кожного третього (27,78 %) обстеженого. 4,17 % хворих на ТБ легень є носіями патологічних генотипів обох ізоформ генів GST.

2. Сприятлива комбінація функціональних алелей у гаплотипі характеризується частішою появою ВДТБ легень на 26,09 % ($\chi^2 = 4,37$ $p = 0,037$) за умов легшого клінічного перебігу, на тлі рідшої ко- і поліморбідності (на 31,01 %; ($\chi^2 = 5,53$, $p = 0,019$) і 31,38 % ($\chi^2 = 4,07$, $p = 0,044$) відповідно) та кращої ефективності лікування

(вірогідно частіше встановлювалось часткове та повне розсмоктування вогнищево-інфільтративних змін на 61,11 % ($\chi^2 = 19,22$, $p < 0,001$) і 67,78 % ($p < 0,001$), а також загоєння порожнини розпаду — на 57,09 % ($\chi^2 = 14,81$, $p < 0,001$), частішим припиненням бактеріовиділення на 60 дозі на 18,40 % ($\chi^2 = 3,59$, $p = 0,052$) і 45,64 % ($p = 0,002$), відповідно. Присутність мутантної гомозиготи у гаплотипі, особливо за геном GSTM1, супроводжується вірогідно меншою частотою припинення бактеріовиділення на 60, 90 дозах для ВДТБ, ПРТБ і 120 дозі для МРТБ на 47,23 % ($\chi^2 = 18,67$, $p < 0,001$). У всіх носіїв мутантних генотипів за обома генами (GSTT1 0/0 / GSTM1 0/0) відсутня динаміка під впливом лікування, або наявні негативні зміни, що підтверджує недостатню ферментативну активність системи детоксикації з негативною відповіддю на пропонувану антимікобактеріальну терапію.

3. Аналіз функціонального стану ядерного хроматину гепатоцитів показав, що у основній групі коефіцієнт варіації оптичної густини ядерного хроматину гепатоцитів I, II та III зонах ацинуса є достовірно вищим ($p < 0,01$). Встановлено, що при ХРТБ (підгрупи II і III) середній показник коефіцієнта варіації оптичної густини ядерного хроматину є вищим, відповідно — у 1,5 та 1,9 рази порівняно з підгрупою варіантом чутливого ТБ, що вказує не тільки на порушення балансу між еу- та гетерохроматином за рахунок збільшення вмісту останнього, але й свідчить на користь зниження активності ядер цих клітин щодо залучення ДНК до синтетичних процесів та є субстратом для розвитку гепатоцелюлярної дисфункції.

ЛІТЕРАТУРА

1. Губергіці НБ, Лукашевич ГМ, Ключков АЕ. Лекарственный панкреатит: патогенез, классификация, диагностика, лечение. Вестник Клуба панкреатологов. 2011;3(3):16–20.
2. Зозуляк ВІ, Клименко АО, Пилипенко ІІ. Своєчасне виявлення ознак печінкової дисфункції у хворих на деструктивний туберкульоз. Матеріали XV Конгресу Світової федерації українських лікарських товариств. Київ–Чернівці. 2014;54.
3. Kasthurinaidu SP, et al. GST M1-T1 null allele frequency patterns in geographically assorted human populations: a phylogenetic approach. PLoS One. 2015;10(4):23–27.
4. Maggie Ramzy M, et al. Genetic polymorphism of GSTM1 and GSTP1 in lung cancer in Egypt. Intern. J. of Collabor. Research on Intern. Med. &Public Health. 2011;3(1):41–51.
5. Запорожан ВМ, Бажора ЮІ, Крисюн ВІ, та ін. Молекулярна епідеміологія. Одеса: ОДМУ. 2009;356 с.
6. Тодоріко ЛД. Синдром системної запальної відповіді при поширених формах туберкульозу легень. Укр. пульмонолог. журн. 2013;3(3):229.
7. Kaplowitz N, DeLeve LD. Drug-induced liver disease. New York: Informa Healthcare. 2007; 812 p.
8. Teixeira RL, et al. Genetic polymorphisms of NAT2, CYP2E1 and GST enzymes and the occurrence of antituberculosis drug-induced hepatitis in Brazilian TB patients. Mem. Inst. Oswaldo. Cruz. 2011;106(6):716–724.
9. Suriawinata AA, Thung SN. Liver pathology. An Atlas and Concise Guide. New York: Demosmedical. 2011:101–104.

REFERENCES

1. Gubergrits NB, Lukashevich GM, Klochkov AY. *Lekarstvennyy pankreatit: patogenez, klassifikatsiya, diagnostika, lecheniye* (Medicinal pancreatitis: pathogenesis, classification, diagnosis, treatment). *Vestnik Kluba pankreatologov*. 2011;3(3):16–20.
2. Zozulyak VI, Klymenko AO, Pylypenko II. *Svoyechasne vyavlennya oznak pechinkovoyi dysfunktsiyi u khvorykh na destruktivnyy tuberkuloz* (Timely detection of signs of hepatic dysfunction in patients with destructive tuberculosis). *Materiyaly XV Kongresu Svitovoyi federatsiyi ukrayinskykh likarskykh tovarystv*. Kyiv–Chernivtsi. 2014;54.
3. Kasthurinaidu SP, et al. GST M1-T1 null allele frequency patterns in geographically assorted human populations: a phylogenetic approach. *PLoS One*. 2015;10(4):23–27.
4. Maggie Ramzy M, et al. Genetic polymorphism of GSTM1 and GSTP1 in lung cancer in Egypt. *Intern. J. of Collabor. Research on Intern. Med. &Public Health*. 2011;3(1):41–51.
5. Zaporozhan VM, Bazhora YUI, Krysyun VY, et al. *Molekulyarna epidemiologiya* (Molecular epidemiology). Odessa: ODMU. 2009;356 s.
6. Todoriko LD. *Syndrom systemnoyi zapalnoyi vidpovidy pry poshyrenykh formakh tuberkulozu legen* (Systemic inflammatory response syndrome in the common forms of pulmonary tuberculosis). *Ukr. Pulmonol. Zhurn*. 2013;3(3):229.
7. Kaplowitz N, DeLeve LD. Drug-induced liver disease. New York: Informa Healthcare. 2007; 812 p.
8. Teixeira RL, et al. Genetic polymorphisms of NAT2, CYP2E1 and GST enzymes and the occurrence of antituberculosis drug-induced hepatitis in Brazilian TB patients. *Mem. Inst. Oswaldo. Cruz*. 2011;106(6):716–724.
9. Suriawinata AA, Thung SN. Liver pathology. An Atlas and Concise Guide. New York: Demosmedical. 2011:101–104.