ივანე ჯავახიშვილის სახელობის
თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

ინგა ხუჯაძე

GST გენების (GSTT1 და GSTM1) პოლიმორფიზმის კავშირი წამლებით გამოწვეულ ჰეპატოტოქსიკურობასთან ფილტვის ტუბერკულოზის დროს, ქართულ პოპულაციაში

სამაგისტრო პროგრამა „ბიოლოგია“
(მოდული გენეტიკა)

სამაგისტრო ნაშრომი შესრულებულია ბიოლოგიის მაგისტრის
აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად

ხელმძღვანელები:
მაია გაიოზიშვილი,
ასისტენტ–პროფესორი,
ბიოლოგიის დოქტორი.
თამარ ბუაძე,
ბოილოგიის დოქტორი

თბილისი, თსუ
2019

სარჩევი

ანოტაცია ----------3

1. შესავალი ---------- 5

2. ლიტერატურის მიმოხილვა ---------- 9

2.1 ზოგიერთი წამლის ჰეპატოტოქსიკურობის მოლეკულურ-გენეტიკური საფუძვლები -------9

2.2 ღვიძლის წამლისმიერ დაზიანებაში ქსენობიოტიკების მეტაბოლიზმში მონაწილე ფერმენტების მაკოდირებელი გენების პოლიმორფიზმის როლი ----------11

2.3 სამკურნალო წამლების ჰეპატოტოქსიკურობის მექანიზმი ----------18

2.4 GSTM1 და GSTT1 გენების პოლიმორფიზმის პოპულაციური სხვადასხვაობა ----------19

3. კვლევის მასალა და მეთოდიკა ----------22

3.1 მასალა ---------- 22

3.2 მეთოდი ---------- 22

4. მიღებული შედეგები და განსჯა ---------- 25

4.1 GST გენების პოლიმორფიზმი ქართული პოპულაციის ჯანმრთელ ინდივიდებში ---------27

4.2 GST გენების პოლიმორფიზმი ქართული პოპულაციის ფილტვის ტუბერკულოზით დაავადებულ ინდივიდებში ----------32

5. დასკვნა ---------- 36

6. გამოყენებული ლიტერატურა ---------- 37

ანოტაცია

ფარმაკოთერაპიის ფართოდ გამოყენების პირობებში მისი ეფექტურობისა და გვერდითი მოვლენების გენეტიკური შესწავლა განსაკუთრებულ აქტუალობას იძენს. მრავალი სამკურნალო პრეპარატების მიღებას თან სდევს მეტ-ნაკლები ხარისხით გამოხატული უარყოფითი ეფექტები, რომელთა შორის პირველ რიგში,ჰეპატიტების განვითარება უნდა აღინიშნოს. ცნობილია, რომ, როგორც წესი წამალი ორგანიზმში მოხვედრის შემდეგ ექვემდებარება შესაბამისი ფერმენტებით განპირობებულ მეტაბოლურ გარდაქმნებს, ამ გარდაქმნების დაუსრულებლობა, მათი შეფერხებული, ან პირიქით სწრაფი მიმდინარეობა, სამკურნალწამლი საშუალებებით ინდუცირებული ტოქსიკურობის მიზეზი ხდება. მრავალი ხელოვნურად წარმოებული ნაერთის, მათ შორის წამლების II ფაზის ბიოტრანსფორმაცია და დეტოქსიკაცია ღვიძლში მიმდინარეობს,თუმცა ამ პროცესში ჩართული ფერმენტების მოქმედების შედეგად შესაძლოა უფრო ტოქსიკური პროდუქტები წარმოიქმნას, რაც ჰეპატოტოქსიკურობასა და შესაბამისად ჰეპატიტების განვითარების საფრთხეს ქმნის. აღნიშნული ხაზგასმით მიუთითებს წამლების მეტაბოლიზმში მონაწილე ფერმენტების მაკოდირებელი გენების პოლიმორფიზმისა, და შესაბამისად, გენოტიპის როლზე ჰეპატიტების ფორმირებაში.

წამლების ჰეპატოტოქსიკურობის შესწავლისას განსაკუთრებული მნიშვნელობა აქვს ისეთ შემთხვევებს, როდესაც მკურნალობა ხანგრძლივ პერიოდს საჭიროებს.შესაბამისად ღვიძლის დაზიანების ალბათობაც მაღალია. ამ მხრივ გამოკვეთილი ინტერესის საგანს, როგორც დაავადება, წარმოადგენს ტუბერკულოზი, როგორც ფართოდ გავრცელებული და ხანგრზლივ მკურნალობას დაქვემდებარებული ისეთი დაავადება, რომლის მკურნალობაც თვეების განმავლობაში მიმდინარეობს.

ცნობილია, რომ განსაკუთრებულ როლს წამლების ბიოტრანსფორმაციასა და დეტოქსიკაციაში ასრულებენ გლუტათიონ-S-ტრანსფერაზები (GST), ფერმენტები, რომლებიც მათი მაკოდირებელი გენების პოლიმორფულობის გამო, განსხვავებული აქტივობის ისეთ ჯგუფებს ქმნიან(განსხვავებილი აქტივობით ხასიათდებიან),რომელთაც ახასიათებთ ეთნო-დამოკიდებულება სახვადასხვა სახის დაავადებასთან. ტუბერტკულოზიც სწორედ ერთ-ერთ ასეთ დაავადებას წარმოადგენს.

ტუბერკულოზის საწინააღმდეგო წამლებით გამოწვეული ღვიძლის დაზიანება იწვევს უამრავ გვერდით ეფექტს დაავადების მკურნალობისას. ამგვარად, აუცილებელი ხდება გენოტიპური სხვაობების გათვალისწინება ანტიტუბერკულოზური პრეპარატებით მკურნალობისას, რათა შემცირებული და თავიდან აცილებული იქნას პრეპარატებით გამოწვეული ღვიძლის დაზიანების რისკი.

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა GST გენების პოლიმორფიზმის სიხშირის განსაზღვრა ქართულ პოპულაციაში და GSTM1 და GSTT1 გენების ნულოვან გენოტიპებსა და წამლით გამოწვეულ ღვიძლის დაზიანებას შორის კავშირის განსაზღვრა ქართული პოპულაციის ფილტვის ტუბერკულოზით დაავადებულ ინდივიდებში.

კვლევის მასალად გამოიყენებოდა ჯანმრთელი და ტუბერკულოზით დაავადებულ ინდივიდთა 2-5 მკლ. პერიფერიული (კაპილარული) სისხლი.

გლუტათიონ S–ტრანსფერაზას (GST) გენების (GSTT1 და GSTM1) პოლიმორფიზმის კვლევის შედეგებმა გვიჩვენა, რომ ქართული პოპულაციის გამოკვლეული ჯანმრთელი ინდივიდების 82%-ში გამოვლინდა GSTT1 და GSTM1 დადებითი გენოტიპები, GSTT1 გენის ნულოვანი გენოტიპი დაფიქსირდა ინდივიდთა 14%-ში, ხოლო GSTM1 გენის ნულოვანი გენოტიპი კი ინდივიდთა 6%-ს აღმოაჩნდა. რაც შეეხება ორმაგ ნულოვან გენოტიპს (GSTT1(-)/GSTM1(-), ჯამური ანალიზის შედეგად, იგი ინდივიდთა 3%-ში დაფიქსირდა.

ქართული პოპულაციის ტუბერკულოზით დაავადებულ ინდივიდებში GST გენების (GSTT1 და GSTM1) პოლიმორფიზმის კვლევის შედეგად ინდივიდთა 79% -ში გამოვლინდა GSTT1(+)GSTM1(+) გენების დადებითი გენოტიპები. 15%-ში აღინიშნა GSTT1(-) გენის ნულოვანი ვარიანტი, GSTM1(-) გენის ნულოვანი ვარიანტი კი დაფიქსირდა დაავადებულთა 18%-ში. ხოლო ორმაგი ნულოვანი გენოტიპი ინდივიდთა 12%-ში (GSTT1(-)/GSTM1(-) აღმოჩნდა.

ორმაგი ნულოვანი გენოტიპის მქონე ტუბერკულოზით დაავადებულ ინდივიდებს ჰქონდათ ცვლილებები ღვიძლის ფუნქციურ სინჯებში, რაც დაკავშირებული უნდა იყოს მათ მიერ ანტიტუბერკულოზური პრეპარატების მიღებასთან.

Connection between GST genes (GSTT1 and GSTM1) polymorphism and drug-induced hepatotoxicity, in the case of Lung Tuberculosis, in Georgian Population

Nowadays, the genetic study of the effectiveness of pharmacotherapy and its side effects is actively achived. The reason for the development of a significant part of hepatitis is the effect of medication.

The cause of hepatotoxicity of some drugs is the polymorphism of the genes encoding enzymes which are involved in the metabolism of these drugs. To the number of these enzymes belongs to Glutathione-s-Transferase (GST). GST plays a vital role in II phase biotransformation and detoxification of many artificially produced compounds, including drugs. GSTs are polymorphic and they are characterised by ethno-dependency associated with various diseases. One of these diseases is tuberculosis.

Liver damage caused by anti tuberculosis drugs causes a lot of side effects in the treatment of disease. Thus, it is necessary to take into account genotypic differences during treatment with antituberculotic drugs in order to reduce the risk of liver damage caused by preparations.

The goal of the research was to determine the frequency of polymerism of GST genes in the Georgian population and to determine linkage between GSTM1 and GSTT1 genes polimorphism and the liver damage caused by drugs, in patients with pulmonary tuberculosis, in Georgian population.

The study material was used 2-5 ml peripheral (capillary) blood of healthy and tuberculous individuals.

The results of polymorphism studies of GSTT1 and GSTM1 genes showed that in 82% of healthy individuals in Georgian populations revealed positive genotypes of GSTT1 and GSTM1, in 14% - negative (null genotype) by GSTT1 gene and GSTM1(-) was observed in 6%. Double null genotype (GSTT1 (-)/ GSTM1(-) - was observed in 3% of individuals.

In the case of individuals with pulmonary tuberculosis of the Georgian population, investigation of polymoerphism of GST (GSTT1 and GSTM1) genes revealed that 79% of individuals have positive GSTT1 (+) GSTM1 (+) genotypes. In 9% of investigated patients revealed null genotype by one of these genes (GSTT1 and GSTM1). As for the double null genotypes, it was shown in 12 % of investigated PT individuals. Those individuals with PT, who had a double null genotypes, have changes in the liver functional tests, which should be related to their intake of anti-tuberculosis drugs.

1. შესავალი

ფარმაკოთერაპიის ფართოდ გამოყენების პირობებში მისი ეფექტურობისა და გვერდითი მოვლენების გენეტიკური შესწავლა განსაკუთრებულ აქტუალობას იძენს. ჰეპატიტების მნიშვნელოვანი ნაწილის განვითარების მიზეზი სწორედ წამლების ზემოქმედებაა (Бабак., 1999). სისხლის 75%, საჭმლის მომნელებელი სისტემის გავლის შემდეგ, კარის ვენით ღვიძლში ხვდება, რომლის საშუალებითაც ღვიძლში გადადის ნაწლავებიდან სისხლში შეწოვილი წამლები და სხვა ქსენობიოტიკები. მეტაბოლიზმში ჩართული ფერმენტები ახდენენ ღვიძლში მათ დეტოქსიკაციას, თუმცა მათი მოქმედების შედეგად შესაძლოა უფრო ტოქსიკური პროდუქტები წარმოიქმნას. ჰეპატოციტები ძალიან მგრძნობიარეები არიან ატფ-ის ნაკლებობის მიმართ, რადგან ჰეპატოციტებში მიმდინარეობს აქტიური მეტაბოლიზმის პროცესი, რომელიც მოითხოვს დიდი რაოდენობით ენერგიას - გლუკონეოგენეზი, ცხიმოვანი მჟავების მეტაბოლიზმი, შარდოვანას წარმოქმნა. ღვიძლი წარმოადგენს რეგენერირებად ორგანოს და მუდმივად ახდენს აპოპტოზის და ნეკროზის შედეგად დაკარგული უჯრედების აღდგენასა და შევსებას, თუმცა მაღალი პროლიფერაციული აქტივობა ღვიძლს ხდის კანცეროგენების ზემოქმედების მიმართ უფრო მგრძნობიარეს (Jaeschke et al., 2002).

ზოგიერთი წამლის ჰეპატოტოქსიკურობის მიზეზს წარმოადგენს ამ წამლების მეტაბილიზმში ჩართული ფერმენტების მაკოდირებელი გენების პოლომორფიზმი. ამ ფერმენტების რიცხვს მიეკუთვნება ციტოქრომ P-450 (CYP) ოჯახი, გლუტათიონ-S-ტრანსფერაზა (GST), N-აცეტილტრანსფერაზების (NAT) ოჯახი და სხვ. (Баранов и др. 2000; Кравченко и др. 2004). აღნიშნული ფერმენტების მაკოდირებელი გენების მუტაციებს შეუძლიათ ფერმენტთა აქტივობის შეცვლა.

ნაჩვენებია CYP, GST, NAT-2 გენების პოლიმორფიზმის გავლენა სამკურნალწამლო პრეპარატების ჰეპატოტოქსიკურ ეფექტზე. ექსპერიმენტული და კლინიკური კვლევების მონაცემები ამტკიცებენ, რომ მთელი რიგი პრეპარატების ხანგრძლივი გამოყენება მაგ. მეტფორმინი, როზიგლიტაზოლი, ამიოდარონი ინსულინისადმი მგრძნობელობის გაზრდას იწვევენ. ზოგიერთი პოლილიპიდური საშუალება - პრობუკოლი, ბეტაინი, ტამოქსიფენი და ანტივირუსული პრეპარატები ზოგიერთ პაციენტში იწვევენ სტეატოზს და სტეატოჰეპატიტს. პრეპარატების მეტაბოლიზმის შენელება ან ტოქსიკური ნაერთების დაგროვება იწვევს სერიოზული გვერდითი ეფექტების განვითარებას და უპირატესად აზიანებს ღვიძლს, როგორც დეტოქსიკაციის მთავარ ორგანოს. ზოგიერთი ეფექტური პრეპარატი ჰეპატოტოქსიურობის გამო ამოღებული იქნა წარმოებიდან (Jaeschke et al., 2002).

ამასთან დაკავშირებით ჩატარებული იქნა გამოკვლევები, რომლებმაც გვიჩვენეს, რომ ტროგლოტაზონის ჰეპატოტოქსიურობის ეფექტი დაკავშირებულია GST გენების პოლიმორფიზმთან (Watanabe et al., 2003). დადგენილია აგრეთვე CYP2E1, NAT2 და GST გენების პოლიმორფიზმის გავლენა წამლისმიერი ჰეპატიტების განვითარებაზე იმ პირებში, რომლებიც იღებდნენ ანტიტუბერკულოზურ პრეპარატებს (Hussain et al., 2003). ზოგიერთი წამლისა და ტოქსინის მოქმედება შესაძლებელია დაკავშირებული იყოს არაალკოჰოლურ სტეატოჰეპატიტთან (Farrell et al., 2002).

გლუტათიონ S–ტრანსფერაზები (GST) ასრულებს სასიცოცხლოდ მნიშვნელოვან როლს მრავალი ხელოვნურად წარმოებული ნაერთის, მათ შორის წამლების (ანტისიმსივნური პრეპარატების ჩათვლით) II ფაზის ბიოტრანსფორმაციასა და დეტოქსიკაციაში. ადამიანის ციტოზოლის GST-ები არიან პოლიმორფულები და ახასიათებთ ეთნო-დამოკიდებულება, დაკავშირებული სხვადასხვა სახის დაავადებასთან. GSTM1 და GSTT1 გენების მიხედვით ორმაგი ნულოვანი ვარიანტი მიიღება 1(p13.3) და 22(q11.2) ქრომოსომებში, 16 და 52 კბ მონაკვეთების დელეციებით, შესაბამისად, და დაკავშირებულია ღვიძლის მედიკამენტოზური დაზიანების, სიმსივნის სხვადასხვა ფორმების, კარდიოვასკულარული დავადებების და სხვა დაავადებათა განვითარების მომატებულ რისკთან (Magno et al., 2009; Rafiee et al., 2010; Okada et al., 2010; Wang et al., 2010; Nafissi et al., 2011).

GSTM1 და GSTT1 გენების ნულოვანი ვარიანტების სიხშირეთა ანალიზმა გამოავლინა განსხვავებული სურათი აზიელ, აფრიკელ და ევროპულ მოსახლეობაში. დადგინდა მნიშვნელოვანი პოპულაციათაშორისი განსხვავება GSTM1 და GSTT1 გენების პოლიმორფიზმის მიხედვით. GSTT1 გენის ნულოვანი ვარიანტის სიხშირე ევროპელებში ვარირებდა 14 % –დან 28.3% –მდე (Nafissi et al., 2011; Abbas et al., 2004; Buchard et al., 2007; Gundacker et al., 2007; Kasthurinaidu et al., 2015). აფრიკელებში GSTM1 და GSTT1 ნულოვანი გენოტიპების სიხშირე შეადგენდა 27.8% და 46.8%; სამხრეთ ინდოელთა პოპულაციაში 22.4% და 17.6%, ხოლო ჩინელების პოპულაციაში 52.0% და 38,7%, შესაბამისად (Piacentini et al., 2011; Liu et al., 2009).

GSTT1 და GSTM1 ნულოვანი გენოტიპების ფართო პოპულაციური ვარიაბელობა მრავალი ფაქტორის ურთიერთქმედების შედეგია, როგორიცაა: თითოეული პოპულაციის განვითარების განსხვავებული ისტორია, ცხოვრების წესით განპირობებული გადარჩევა, ტოქსინებისადმი განსხვავებული მგრძნობელობა და განწყობა გარკვეული დაავადებების მიმართ.

ფილტვის ტუბერკულოზის მკურნალობა უმეტესად დაფუძნებულია იზონიაზიდის, რიფამპიცინისა, პირაზინამიდის და სხვა მედიკამენტების გამოყენებაზე (WHO, 2015).

ტუბერკულოზის საწინააღმდეგო წამლებით გამოწვეული ღვიძლის დაზიანება იწვევს უამრავ გვერდით ეფექტს ტუბერკულოზის მკურნალობისას (Park et al., 2010; Watkins et al., 2011; Devarbhavi et al., 2011; Gupta et al., 2013). კვლევები GST–ს ვარიანტების გავრცელების მიხედვით, გაზრდის ინფორმაციას პოპულაციებში გარკვეულ დაავადებათა გავრცელების შესახებ (Piacentini et al., 2011). GSTT1 და GSTM1 გენებისათვის ნაჩვენებია როგორც პოპულაციათაშორისი, ასევე შიდაპოპულაციური პოლიმორფიზმი.

ამგვარად, აუცილებელი ხდება გენოტიპური სხვაობების გათვალისწინება ანტიტუბერკულოზური პრეპარატებით მკურნალობისას, რათა შემცირებული და თავიდან აცილებული იქნას პრეპარატებით გამოწვეული ღვიძლის დაზიანების რისკი. (Watkins et al., 2011; Devarbhavi et al., 2011; Gupta et al., 2013).

კვლევის აქტუალობას განსაზღვრავს ის ფაქტი, რომ GST გენების (GSTT1 და GSTM1) პოლიმორფიზმის კვლევა და მისი კავშირი ანტიტუბერკულოზური მედიკამენტებით გამოწვეულ ჰეპატოტოქსიკურობასთან საქართველოში ჩატარდა პირველად.

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა:

აღმოსავლეთ და დასავლეთ საქართველოს ჯანმრელ ინდივიდთა პოპულაციებისა და ტუბერკულოზით დაავადებულ ინდივიდთა დახასიათება GSTM1 და GSTT1 გენების პოლიმორფული ვარიანტების მიხედვით და ამ ვარიანტების შესაძლო კავშირის გამოვლენა, როგორც წამლისმიერ ჰეპატოტოქსიკურობასთან, ასევე ტუბერკულოზის განვითარების რისკთან.

დასახული მიზნების მისაღწევად დასახული იყო შემდეგი ამოცანები:

- ქართული პოპულაციის პრაქტიკულად ჯანმრთელ ინდივიდთა (დასავლეთ და აღმოსავლეთ საქართველო) შემთხვევითად შერჩეულ ჯგუფებში GSTT1 და GSTM1 გენების პოლიმორფიზმის შეფასება.
- ქართული პოპულაციის ტუბერკულოზით დაავადებულ ინდივიდებში (რომელთაც არ აღენიშნებოდათ ცვლილებები ღვიძლის ფუნქციურ სინჯებში) GSTT1 და GSTM1 გენების პოლიმორფიზმის შეფასება.
- ქართული პოპულაციის ტუბერკულოზით დაავადებულ ინდივიდებში, რომელთაც აღენიშნებოდათ ცვლილებები ღვიძლის ფუნქციურ სინჯებში GSTT1 და GSTM1 გენების პოლიმორფიზმის შეფასება და ამ გენების ორმაგი ნულოვანი ვარიანტების კავშირის განსაზღვრა ტუბერკულოზის განვითარებასთან.

კვლევის მასალად გამოიყენებოდა დასავლეთ და არმოსავლეთ საქართველოს პოპულაციების ჯანმრთელი და ტუბერკულოზით დაავადებულ ინდივიდთა 2-5 მკლ. პერიფერიული (კაპილარული) სისხლი. ტუბეკულოზით დაავადებულებში მასალა აიღებოდა, როგორც ღვიძლის ნორმალური ფუნქციის მქონე პაციენტებში, ასევე პაციენტებში, რომელთაც აღენიშნებოდათ ცვლილებები ღვიძლის ფუნქციურ სინჯებში - შეცვლილი ჰქონდათ ალანინ ამინოტრანსფერაზის (ALT), ასპარტატამინოტრანსფერაზას (AST) გამა-გლუტამინ-ამინოტრანსფერაზას (GGT) დონეები.

აღნიშნულ კვლევაში გამოყენებული იყო იზოთერმულ სმარტ-ამპლიფიკაციაზე დაფუძნებული **მეთოდი** (SmartAmp-2). სამუშაოები ტარდებოდა ხელსაწყო Ese-Quant Tube Scanner -ის გამოყენებით.

GSTM1 და GSTT1 გენების პოლიმორფიზმის განსაზღვრას ქართულ პოპულაციაში აქვს როგორც თეორიული, ასევე პრაქტიკული მნიშვნელობა, ვინაიდან აღნიშნული გენების ჰომოზიგოტი ნულოვანი გენოტიპები დაკავშირებულია ანტიტუბერკულოზური პრეპარატებით გამოწვეულ ღვიძლის დაზიანების გაზრდილ რისკთან (ჰეპატოტოქსიკურობასთან) ტუბერკულოზით დაავადებულ პაციენტებში. მიღებული შედეგები მიშვნელოვან როლს შეასრულებს პერსონალიზებულ მედიცინაში, სამკურნალო პრეპარატების დანიშვნის რეგულირებისა და დაავადებათა ინდივიდუალური პრევენციის საქმეში.

2. ლიტერატურის მიმოხილვა

2.1 ზოგიერთი წამლის ჰეპატოტოქსიკურობის მოლეკულურ-გენეტიკური საფუძვლები

ფარმაკოთერაპიის ფართოდ გამოყენების პირობებში მისი ეფექტურობისა და გვერდითი მოვლენების გენეტიკური შესწავლა განსაკუთრებულ აქტუალობას იძენს. ჰეპატიტების მნიშვნელოვანი ნაწილის განვითარების მიზეზი სწორედ წამლების ზემოქმედებაა (Бабак., 1999). სისხლის 75%, საჭმლის მომნელებელი სისტემის გავლის შემდეგ, კარის ვენით ღვიძლში ხვდება, რომლის საშუალებითაც ღვიძლში გადადის ნაწლავებიდან სისხლში შეწოვილი წამლები და სხვა ქსენობიოტიკები. მეტაბოლიზმში ჩართული ფერმენტები ახდენენ ღვიძლში მათ დეტოქსიკაციას, თუმცა მათი მოქმედების შედეგად შესაძლოა უფრო ტოქსიკური პროდუქტები წარმოიქმნას. ჰეპატოციტები ძალიან მგრძნობიარეები არიან ატფ-ის ნაკლებობის მიმართ, რადგან ჰეპატოციტებში მიმდინარეობს აქტიური მეტაბოლიზმის პროცესი, რომელიც მოითხოვს დიდი რაოდენობით ენერგიას - გლუკონეოგენეზი, ცხიმოვანი მჟავების მეტაბოლიზმი, შარდოვანას წარმოქმნა. ღვიძლი წარმოადგენს რეგენერირებად ორგანოს და მუდმივად ახდენს აპოპტოზის და ნეკროზის შედეგად დაკარგული უჯრედების აღდგენასა და შევსებას, თუმცა მაღალი პროლიფერაციული აქტივობა ღვიძლს ხდის კანცეროგენების ზემოქმედების მიმართ უფრო მგრძნობიარეს (Jaeschke et al., 2002).

ზოგიერთი წამლის ჰეპატოტოქსიკურობის მიზეზს წარმოადგენს ამ წამლების მეტაბილიზმში ჩართული ფერმენტების მაკოდირებელი გენების პოლომორფიზმი. ამ ფერმენტების რიცხვს მიეკუთვნება ციტოქრომ P-450 (CYP) ოჯახი, გლუტათიონ-s-ტრანსფერაზა (GST), N-აცეტილტრანსფერაზების (NAT) ოჯახი და სხვ. (Баранов и др. 2000; Кравченко и др. 2004). ამ ფერმენტების მაკოდირებელი გენების მუტაციებს შეუძლიათ ფერმენტთა აქტივობის შეცვლა.

ნაჩვენებია CYP, GST, NAT-2 გენების პოლიმორფიზმის გავლენა სამკურნალწამლო პრეპარატების ჰეპატოტოქსიკურ ეფექტზე. ექსპერიმენტული და კლინიკური კვლევების მონაცემები ამტკიცებენ, რომ მთელი რიგი პრეპარატების ხანგრძლივი გამოყენება მაგ. მეტფორმინი, როზიგლიტაზოლი, ამიოდარონი ინსულინისადმი მგრძნობელობის გაზრდას იწვევენ. ზოგიერთი პოლილიპიდური საშუალება-ფიბრატოვი და პრობუკოლი. აგრეთვე ბეტაინი, ტამიქსიფენი და ანტივირუსული პრეპარატები ზოგიერთ პაციენტში იწვევენ სტეატოზს და სტეატოჰეპატიტს. პრეპარატების მეტაბოლიზმის შენელება ან ტოქსიკური ნაერთების დაგროვება იწვევს სერიოზული გვერდითი ეფექტების განვითარებას და უპირატესად აზიანებს ღვიძლს, როგორც დეტოქსიკაციის მთავარ ორგანოს. ზოგიერთი

ეფექტური პრეპარატი ჰეპატოტოქსიურობის გამო ამოღებული იქნა წარმოებიდან (Jaeschke et al., 2002).

ამასთან დაკავშირებით ჩატარებული იქნა გამოკვლევები, რომლებმაც გვიჩვენეს, რომ ტროგლოტაზონის ჰეპატოტოქსიურობის ეფექტი დაკავშირებულია GST გენების პოლიმორფიზმთან (Watanabe et al., 2003). დადგენილია აგრეთვე CYP2E1, NAT2 და GST გენების პოლიმორფიზმის გავლენა წამლისმიერი ჰეპატიტების განვითარებაზე იმ პირებში, რომლებიც იღებდნენ ანტიტუბერკულოზურ პრეპარატებს (Hussain et al., 2003). ზოგიერთი წამლისა და ტოქსინის მოქმედება შესაძლებელია დაკავშირებული იყოს არაალკოჰოლურ სტეატოჰეპატიტთან (Farrell et al., 2002).

ბოლო დროს ღვიძლის ტოქსიკური დაზიანების შესაძლო მიზეზები შეისწავლება, როგორც იმუნური სისტემის ჰიპერფუნქცია, რომელიც გამოიხატება ანთების საწინააღმდეგო ციტოკინების მომატებული სიხშირით. ნაჩვენებია მათი როლი სხვადასხვა ეტიოლოგიის ჰეპატიტების განვითარებაში: ვირუსული, ავტოიმუნური, სეპტიკური და აგრეთვე ქსენობიოტიკებით გამოწვეული, მათ შორის მედიკამენტებით, ალკოჰოლით (Бабак, 1999; Баранов, 2000; Фадеенко, 2005; Виноградова, 2004).

ჟანგვითი სტრესის განვითარება, რომელიც სტიმულირებულია ციტოქრომის ოჯახის P-450, ფერმენტების აქტივაციით აძლიერებს ღვიძლიში, ანთების საწინააღმდეგო ციტოკინების სინთეზს. არსებობს აზრი იმის შესახებ, რომ ჰეპატოტოქსიკური ეფექტი მნიშვნელოვან გავლენას ახდენს ანთებით პროცესებზე. ღვიძლის დაავადებათა განვითარებაში მეტ-ნაკლებად მნიშვნელოვანია, ისეთი ანთების საწინააღმდეგო ციტოკინები, რიგორიცაა სიმსივნის ნეკროზის ფაქტორი ალფა(TNF-α), ინტერლეიკინ-1 (IL-1), ინტერლეიკინ-6 (IL-6), ინტერლეიკინ-8 (IL-8)(Бабак, 1999; Фадеенко, 2005; Виноградова, 2004). ციტოკინების გენების პოლიმორფიზმის გავლენა მათი სინთეზის დონეზე და ღვიძლის პათოლიგიების განვითარებასთან. TNF და IL-β-ის გენებისპოლიმორფიზმი გავლენას ახდენს ამ ციტოკინების სინტეზის დონეზე და სხვადასხვა გენეზით გამოწვეულ ფილტვის პათოლოგიებზე (Виноградова, 2004).

დადგენილია თამბაქოს მოხმარების გავლენა ღვიძლის კიბოს განვითარებაზე (Баранов, 2000; Yu, 1995). რაც შესაძლოა დაკავშირებული იყოს არა მხოლოს თამბაქოს კვამლის კანცეროგენებთან, არამედ ანთებითი მარკერების დონის მომატებასთან.

ნაჩვენებია CYP, GST,NAT-2 გენების პოლიმორფიზმის გავლენა სამკურნალწამლო პრეპარატების ჰეპატოტოქსიკურ ეფექტზე.

2.2 ღვიძლის წამლისმიერ დაზიანებაში ქსენობიოტიკების მეტაბოლიზმში მონაწილე ფერმენტების მაკოდირებელი გენების პოლიმორფიზმის როლი

მეტაბოლიზმში მონაწილე ფერმენტთა გენების პოლიმორფიზმის როლი ღვიძლის წამლისმიერ დაზიანებაში.ქსენობიოტიკების დეტოქსიკაციის პროცესში გამოყოფენ 3 ფაზას. I-ფაზა ციტოქრომების P-450 ოჯახის ფერმენტების მეშვეობით ხორციელდება. ეს ფერმენტები ახდენენ ქსენობიოტიკების მეტაბოლიზმს ხანმოკლე სიცოცხლისუნარიანი შუალედური ელექტროფილური მეტაბოლიტის წარმოქმნით. მათ აქვთ ტოქსიკური თვისებები. II-ფაზა არის I ფაზის მეტაბოლიტების ნეიტრალიზაცია. II ფაზის მეტაბოლიტები ყველა უჯრედში არიან ან წარმართავენ და ასრულებენ დეტოქსიკაციურ პროცესებს. მათ მიეკუთვნება: ეპოქსიჰიდროლაზები; გლუტათიონტრანსფერაზები; გლუკოროლინტრანსფერაზები; აცეტილტრანსფერაზები და სხვ. რომლებიც I-ფაზის მეტაბოლიზმის ტოქსიკურ შუალედურ პროდუქტებს გარდაქმნიან წყალში ხსნად, პოლარულ არატოქსიკურ შენაერთებად , რომლებიც შემდეგ გამოიყოფა ორგანიზმიდან. III-ფაზა ორგანიზმიდან დეტოქსიკაციის პროდუქტების გამოყოფაა, რომელიც უზრუნველყოფილია P -გლიკოპტოტეინით (Баранов, 2000).

აღწერილია ყველა ამ ფერმენტის იზოფორმები, რომლებიც განსხვავდებიან ფერმენტული აქტივობით(გაზრდილია; დაქვეითებული ან დაკარგული), რაც დაკავშირებულია მათი მაკოდირებელი გენების პოლიმორფიზმთან და განსაზღვრავს რიგი სამკურნალო პრეპარატების ჰეპატოტოქსიკურობას.

ციტოქრომ P-450. სხვადასხვა CYP-ების წილი წამლების მეტაბოლიზმში არატოლფასოვანია. არსებობს CYP-ების ,როგორც მინიმუმ 57 იზოფორმა, მაგრამ მხოლოდ 10-ია დაკავშირებული წამლების მეტაბოლიზმთნ.ამასთან მეტი წილი მოდის ციტოქრომებზე: CYP3A4; CYP2D6; CYP2C9 (Daly, 2004). ფერმენტი CYP3A4 უზრუნველყოფს სამკურნალწამლო პრეპარატების მეტაბოლიზმს(50%) სხვა ციტოქრომების მონაწილეობა ნაკლებია: CYP2D6 – (20%);

CYP2C9 და CYP2C19 – (15%). წამლების გაცილებით ნაკლები სპექტრი მეტაბოლიზდება :CYP2E1; CYP1A2 და CYP2A6 (Wong , 2000).

CYP2D6; CYP2C19 და CYP3A გენების პოლიმორფიზმი დაკავშირებულია მნიშვნელოვან ინდივიდუალურ და ეთნიკურ სხვაობებთან, რომლებიც შეინიშნება რიგი პრეპარატების თერაპიულ ეფექტურობასა და ტოქსიურობასთან დაკავშირებით (Niemela et al., 2000).

CYP3A5-ი გენის მუტაციები დაკავშირებულია სრულფასოვანი ფერმენტის წარმოშობის დარღვევასთან ებრაული წარმოშობის პირთა ¾ ში და აფრიკელების ნახევარში. CYP3A5-ი გენის არასაკმარისი აქტიურობა შესაძლებელია CYP3A4-ით. იმდენად რამდენადაც ბევრი წამლის

მეტაბოლიზმი ხორციელდება ამ ორივე ფერმენტის მიერ, ამიტომ ჯერჯერობით ძნელია CYP3A ოჯახის გენთა პოლიმორფიზმის კლინიკური მნიშვნელობის ცალსახა შეფასება.

ციტოქრომი CYP2E1 ახდენს სამრეწველო შენაერთების ფართო სპექტრის ზოგიერთი სამკურნალწამლო პრეპარატის და თამბაქოს ბოლის ნიტროზამინების მეტაბოლიზმს და აგრეთვე პასუხისმგებელია ომეგა-1-ის და ომეგა-2-ის თავისუფალი ცხიმოვანი მჟავების მიკროსომალურ ჟანგვაზე. CYP2E1 გენის პოლიმორფიზმის შესწავლა განსაკუთრებულ მნიშვნელობას იძენს ადამიანზე ინდუცირებული ფონის გაძლიერებასთან დაკავშირებით.ეს ფერმენტი ჭარბად გვხვდება ღვიძლის უჯრედებში.ნაჩვენებია CYP2E1 გენი პოლიმორფული გენი ღვიძლის ალკოჰოლური დაავადებების, ციროზისა და ღვიძლის კიბოს განვითარებაში (Кравченко, 2004). აღინიშნება ამ ფერმენტის როლი არაალკოჰოლური სტეატოჰეპატიტის განვითარებაში (Фадеенко, 2005).

გამოვლენილია CYP2E1 გენის არანაკლები 14 ვარიანტისა, რომლებიც გავლენას ახდენს ფერმენტის აქტივაციაზე. ასევე CYP2E1.2 (ჩანაცვლებული) ხასიათდება მომატებული კატალიზური აქტიურობით 2,7-ჯერ. CYP2E1.3 (Val 378Ile) და CYP2E1.4 (Val179 Ile) შედარებით, აქტივობა უმნიშვნელოდ განსხვავდება „ველური“ ტიპისაგან(CYP2E1.1) (Пентюк, 2004).

სადღეისოდ აქტიურად შეისწავლება PstI/RsaI (CYP2E1*5B ალელი) პოლიმორფიზმი, რომელიც დაკავშირებულია გენის 5’ დამაბოლოვებელ უბანში მუტაციასთან, აგრეთვე DraI (CYP2E1*6) პოლიმორფიზმი, რომელიც ასოცირებულია მე-6-ე ინტრონში მუტაციასთან. CYP2E1 გენის პოლიმორფიზმის ვარიანტები ნაწილობრივ ჭდომილია და წარმოქმნიან საერთო ალელს CYP2E1*5A. ამ ალელის სიხშირე მნიშვნელოვნად განსხვავდება პოპულაციების მიხედვით. აზიის მცხოვრებთა 6% ჰომოზიგოტურია. 35% - ჰეტეროზიგოტური. მაშინ როდესაც ევროპელებში CYP2E1*5A ალელი შედარებით იშვიათად გვხვდება -5% ოდნავ მეტი ინდივიდები - ჰეტეროზოგოტებს (Кравченко, 2004).

დადგენილია CYP2E1 გენის პოლიმორფიზმის გავლენა დნმ-ის დაზიანებაზე - CYP2E1*5B ალელის მატარებლებში ქრომოსომული აბერაციების სიხშირის მნიშვნელოვანი მატება (Кравченко, 2004). გამოვლენილია CYP2E1 გენის ვარიაციები პრომოტორულ უბანში არსებული ჩანაცვლებებით- c1 (RsaI+/PstI-), c2 (RsaI-/PstI+), c3 (RsaI+/PstI+), c4(RsaI-/PstI-) აღწერილია CYP2E1*1C და CYP2E1*1D ვარიანტები, რომელიც გენის პრომოტორის მე-5-ე დამაბოლოვებელ უბანში შეიცავენ 6 და 8 განმეორებადობებს. ეს მუტაცია დაკავშირებულია ფერმენტის აქტივობის ზრდასთან, გაცხიმოვნებასა და ალკოჰოლის ჭარბად მოხმარებისას (Пентюк, 2004).

ამერიკელი მკვლევარები სწავლობდნენ CYP2E1 გენის c1/c2 პოლიმორფიზმის გავლენას ფერმენტის აქტივობაზე ორივე სქესის 50 ჯანმრთელ იაპონელში (ჰავაის მცხოვრებნი) (Marchand,1999). CYP2E1 გენის c1 და c2 ალელების სიხშირეები სხვადასხვა ეთნო ჯგუფებში განსხვავდება, რაც განსაზღვრავს მოცემული პოლიმორფიზმის გავლენის ხარისხს სხვადასხვა პოპულაციებში ღვიძლის დაავადებათა პათოლოგიაზე. c2 ალელი გავრცელებულია აზიის ქვეყნებში, მაგრამ იშვიათია ევროპელებს შორის. იაპონელი და ჩინელი მკვლევარების მიერ ნაჩვენებია c2 ალელის ასოციაცია ღვიძლის ციროზსა ღვიძლის კიბოსთან (Кравченко, 2004; Корытина, 2003).

რუსი მეცნიერების მონაცემებით (Корытина, 2003) c2 ალელის სიხშირე უფის მცხოვრებლებში შეადგენს -5,5%-ს. შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ უკრაინის მცხობრებლებში ეს მაჩვენებელი მაღალი იყოს, ვიდრე დასავლეთ და ცენტრალური ევროპის პოპულაციებში (1 -2%)

ბოლო ათწლეულში შეისწავლება CYP2D6 გენის პოლიმორფიზმი. გამოვლენილია როგორც მინიმუმ 53 ალელი და მათგან 20-ზე მეტი გავლენას ახდენს ფერმენტის აქტივობაზე (Wong, 2000). CYP2D6 გენის პოლიმორფიზმი, რომელიც დაახლოებით სამკურნალო პრეპარატების 50%-ის მეტაბილიზმს ახდენს, მნიშვნელოვნად მოქმედებს ფარმაკოკინეტიკაზე და დაკავშირებულია მათი მეტაბოლიზმის ნელ, საშუალო და აჩქარებულ ან ზემაღალ სიჩქარეებთან. ფერმენტის ზემაღალი აქტივობა შეინიშნება დასავლეთ ევროპელების 5,5 % ში (Ingelman Sundberg , 2005).

ფერმენტის სხვადასხვა ალელების აქტივობა α განსხვავდება სუბსტრატული სპეციფიკურობით, ამიტომ არ არსებობს მუტაციის ტიპზე ამ ენზიმის აქტივობის დამოკიდებულების ზოგადი წესი (Bogni, 2005).

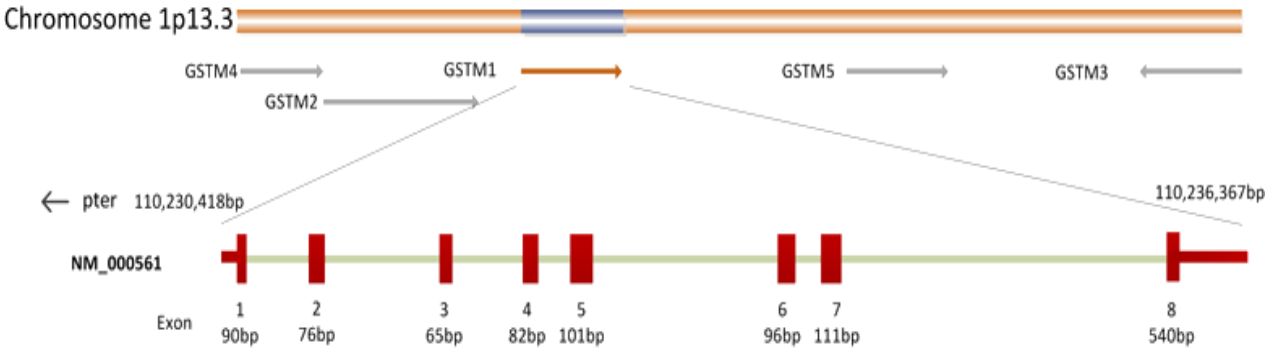
ფარმაკოთერაპიის გვერდითი ეფექტების განვითარების სიხშირე დაკავშირებულია CYP2D6 მუტანტური ალელების მატარებლობასთან (Wong, 2000).

გლუტათიონ-S-ტრანსფერაზა. ქსენობიოტიკების დეტოქსიკაციის ერთ-ერთი ეფექტი დაკავშირებულია, ციტოქრომების მოქმედების შედეგად წარმოქმნილი ჰიდროფილური პროდუქტების ნეიტრალიზაციასთან. მნიშვნელოვან როლს ამ პროცესში ასრულებს GST ტრანსფერაზები, რომლებიც ელექტროფილური ქსენობიოტიკების (მათ შორის სამკურნალწამლო პრეპარატების, დიდი ოდენობის მეტაბოლიზირებას ახდენენ) გლუტთიონ-S -ტრანსფერაზები მათი კონიუგაციის გზით. მიკროსომალური GST ტრანსფერაზების აქტივობა მჭიდროდაა დაკავშირებული p-450 ციტოქრომების სისტემასთან. ღვიძლში GST გენების ექსპრესია განსაკუთრებით მაღალია. ადამიანებს, რომელთაც მუტანტური ალელებით კოდირებული GST-ს ფუნქციურად ნაკლებად აქტიური იზოფორმები გააჩნიათ, უფრო ხშირად

უვითარდებათ ღვიძლის დაზიანებები ქსენობიოტიკების ზემოქმედების შემდეგ (Баранов, 2000; Кравченко, 2004).

ძუძუმწოვრებში ცნობილია GST -ის 6 ქვეკლასი: α; μ; κ ; π; θ; δ, რომელთაც მსგავსი ამინომჟავური შემადგენლობა აქვთ (Баранов, 2000). ადამიანში არის μ ქვეკლასის 5 იზოფერმენტი, რომლებიც კოდირებულია GSTM გენით და წარმოიქმნებიან რნმ- ტრანსკრიპტის ალტერნატიული სპლაისინგის შედეგად.

ადამიანში ცნობილია 5 GSTM გენი, რომლებიც კოდირებულია 1p13.3 ქრომოსომის 100 კბ გენის კლასტერით, განლაგებულია შემდეგი თანმიმდევრობით: 5'-GSTM4-GSTM2-GSTM1-GSTM5-GSTM3-3', და ხასიათდება მაღალი პოლიმორფულობით (Pearson et al., 1993).



სურათზე წარმოდგენილია GSTM გენი, რომელიც შედგება 8 ეგზონისაგან (წითელი) და 7 ინტრონისაგან (მწვანე).

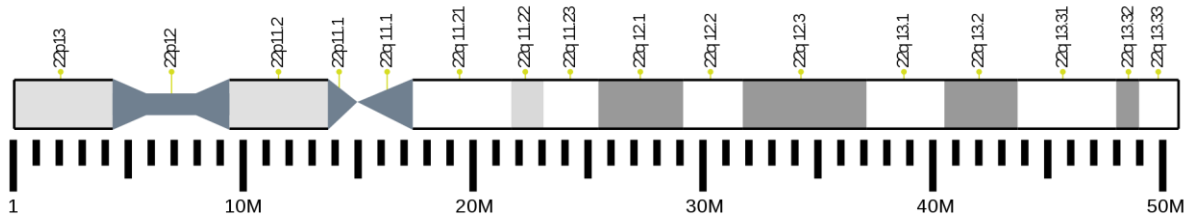
GSTM1 გენი არის დაახლოებით 20 კბ სიგრძის და მჭიდროდაა ფლანკირებული სხვა mu კლასის გენების თანმიმდევრობით. GSTM1 და GSTM2 გენების მაკოდირებელი თანმიმდევრობები ავლენენ 99%-იან მსგავსებას (Vorachek et al., 1991). ის ფაქტი, რომ GSTM1 და GSTM2 გენები ფიზიკურად არიან დაკავშირებული ერთმანეთთან, მიანიშნებს, რომ ხშირი დელეციები GSTM1 გენში გამოწვეულია არათანაბარი კროსინგოვერით (Pearson et al., 1993). ამასთან, HeLa-ს უჯრედებში, დადასტურებულია GSTM2-ის ექსპრესიის მომატება, მაშინ, როდესაც ადგილი აქვს GSTM1 გენის აქტივობის დაკარგვას, რაც კომპენსირებულია სწორედ GSTM2-ის ექსპრესიის მატებით (Bhattacharjee et al., 2013).

ზოგიერთი ავტორი (Mclellan et al., 1997) მიუთითებს, რომ რესტრიქციული კარტირების მონაცემებით, GSTM2 და GSTM5 გენებს შორის GST mu კლასტერის ორი ტანდემური GSTM1 გენია განლაგებული. GSTM1 გენი შეიცავს 4 განსხვავებულ ალელს, რომელიც განისაზღვრება როგორც GSTM1-0, GSTM1-A, GSTM1-B და GSTM1 1X2 (Wu et al., 2012). GSTM1-0 (GSTM1 ნულოვანი

ალელი წარმოიქმნა რეკომბინაციის გზით, ევოლუციის პროცესში, 20 კბ სეგმენტის დელეციის შედეგად და მოთავსებულია 2 მაღალი ჰომოლოგიის მქონე რეგიონს შორის, რომლებიც ფლანკირებს ამ ლოკუსს (Xu et al., 1998). GSTM1 -ის დელეციის პოლიმორფიზმი ვარირებს ეთნიკურ ჯგუფებში 18%-დან 66%-მდე (საშუალო არის 50%), აზიელების გამოკლებით, რომელთათვისაც აღნიშნული მაჩვენებელი ვარირებს 38%-დან 58%-მდე (Wu et al., 2012). GSTM1-A და GSTM1-B ერთმანეთისაგან განსხვავდება ერთი ფუძით, მე-7 ეგზონში (Seidegard et al., 1988), კონკრეტულად, 534 პოზიციაში C (ციტოზინი) ჩანაცვლებულია G-თი (გუანინი) და იწვევს ამინომჟავა ლიზინით ასპარაგინით ჩანაცვლებას პოლიპეპტიდის 172-ე პოზიციაში (Widerstern et al., 1991). ცვლილება იწვევს მონოდიმერის (GSTM1 A -1A , GSTM1 B -1B) ან ჰეტეროდიმერის (GSTM1 A -1B) წარმოქმნას. ამასთანავე, in vitro კვლევებმა დაადასტურა მათი ერთნაირი აქტივობა (Widersten et al., 1991).

ზოგიერთი ავტორის მონაცემებით, GSTM1 ლოკუსს აქვს 3 ალელური ფორმა, რომელთაგან GSTM1*A და GSTM1*B კოდირებენ ფერმენტული აქტივობით განსხვავებულ ცილებს. GSTM1-თან მიმდებარედ ორ ჰომოლოგიურ თანმიმდევრობას შორის მომხდარი არათანაბარი კროსინგოვერის შედეგად წარმოიქმნება 10 000 ნუკლეოტიდურ წყვილზე შემცველი დალეცია (ნულოვანი ალელი) (Баранов, 2000). ამ მუტაციის დროს ფერმენტის სინთეზი არ ხდება. არსებობს კავშირი GSTM1-ის ნულოვან ალელსა და ღვიძლის ციროზსა და კიბოს განვითარებას შორის, ალკოჰოლის ჭარბად მოხმარებასა, ზოგიერთი სამკურნალო პრეპარატის მიღებასა და ან კანცეროგენების გავლენის დროს (Баранов, 2000). GSTM1 გენის დელეცია ფართოდაა სხვადასხვა პოპულაციებში - 35-50% ევროპული წარმოშობის პირები ჰეტეროზიგოტულები არიან GSTM1 -ის დელეციის მიხედვით (Кравченко, 2004, Hernández et al., 2017). GSTM1 -ის ნულოვანი ალელების სიხშირე რუსეთის მოსახლეობაში შეადგენს - 40-47% (Корытина, 2003).

GST *θ*(*თეტა*) კლასის მაკოდირებელი GSTT1 ლოკალიზებულია 22-ე ქრომოსომის 22q11 ლოკუსში. მისი პოლიმორფიზმი განპირობებულია ორი ალელის - ფუნქციურად აქტიური და არააქტიურის (ნულოვანი) არსებობით. GSTT1 -ის გენის სრული ან ნაწილობრივი დელეცია იწვევს ფერმენტული აქტივობის დაქვეითებას ან არარსებობას (Баранов, 2000, Hernández et al., 2017). ნულოვანი გენის მქონე ინდივიდები ხასიათდებიან წინასწარგანწყობით ღვიძლის სიმსივნისადმი ტოქსიკური ნივთიერებების ზეგავლენის ქვეშ (Баранов, 2000). GSTT1 -ის გენის დელეციის გავრცელების ხარისხი განსხვავებულია სხვადასხვა ეთნო ჯგუფებში. ევროპელების 20%-ზე მეტი ჰომოზიგოტურები არიან GSTT1 -ის გენის ნაწილობრივი დელეციის მიხედვით (Корытина, 2003).



N-აცეტილ-ტრანსფერაზები. NAT2 გენის პოლიმორფიზმი ზოგიერთ სახეობებში დაკავშირებულია ტოქსიკური მეტაბოლიტების ჭარბ გამომუშავებასთან. ნაჩვენები 481; 590 და 857 პოზიციებში მომხდარი ერთ ნუკლეოტოდიანი ჩანაცვლებების გავლენა ფერმენტის აქტივობაზე (Корытина, 2003). გამოყოფენ ალელების შემდეგ ტიპებს: NAT2*4 (ჩანაცვლების არარსებობა), NAT2*5 (ჩანაცვლება 481T), NAT2*6(ჩანაცვლება 590A), NAT2*7 (ჩანაცვლება857A). სწრაფი აცეტილატორები ერთზე მეტ „ნელ ალელზე“ (გენოტიპები NAT2* 4, NAT2*4/*5, NAT2*4/*6, NAT2*4/*7); ნელი აცეტილატორები ხასიათდებიან ორი ან მეტი „ნელი ალელის“ არსებობით (Корытина, 2003). სწრაფი აცეტილატორები შეადგენენ 37,8%, ნელი - 62,2% (Корытина, 2003). აცეტილირების სტატუსი გავლენას ახდენს წამლებით გამოწვეული ჰეპატიტის განვითარებაზე CYP2E1 გენის c2 მუტანტური ალელის მქონე ადამიანებში (Huang et al., 2003).

რიგ გამოკვლევებში ნაჩვენებია ქსენობიოტიკების მეტაბოლიზმში მონაწილე გენების გავლენა ღვიძლის წამლისმიერი დაზიანებების განვითარებაზე. ნაჩვენებია CYP2E1, NAT და GST გავლენა ტუბერკულოზის საწინააღმდეგო წამლებით გამოწვეულ ჰეპატიტის განვითარებაზე (Hussain, 2003). იაპონელი მეცნიერების კვლევებში შეისწავლებოდა NAT და CYP2E1 პოლიმორფიზმის გავლენა წამლისმიერი ჰეპატიტების განვითარებაზე ტუბერკულოზით დაავადებულ 318 ინდივიდში, რომლებიც გადიოდნენ ტუბის თერაპიას. საკონტროლო ჯგუფს შეადგენდა 21 ჯანმრთელი მოხალისე, რომლებსაც ჩაუტარდათ CYP2E1-ის ფენოტიპირება ქლორზოქსაზონური ტესტის გამოყენებით(Huang et al., 2003). ავადმყოფთა 15,4%-ში დიაგნოზირებული იქნა წამლისმიერი ჰეპატიტი. პაციენტებში, რომლებიც ჰომოზიგოტურები იყვნენ CYP2E1 „ველური ალელის“ მიხედვით (c1/c1) ღვიძლის დაზიანება უფრო მნიშვნელოვნად იყო მომატებული, ვიდრე c2 მუტანტური ალელის მატარებლებში(p=0,009). როდესაც რეფერენტულ ჯგუფს შეადგენდნენ ინდივიდები c1/c2 ან c2/c2 გენოტიპებით და აცეტილირების სწრაფი სტატუსით. მაშინ ჰეპატოტოქსიკურობის რიცხვი იზრდებოდა 3,94-დან CYP2E1-ის c1/c1 გენოტიპისთვის სწრაფი აცეტილირებით, 7,43-მდე ნელი აცეტილირებით. შესწორებისას აცეტილირების სტატუსისა და ასაკის გათვალისწინებით CYP2E1-ის c1/c1 გენოტიპი რჩებოდა ჰეპატოტოქსიკური ეფექტის განვითარების რისკის

დამოუკიდებელ ფაქტორად (p=0,017). მოხალისეებში CYP2E1-ის c1/c1 გენოტიპით ოზონიაზიდის შეყვანისას CYP2E1-ის აქტივობა უფრო მაღალი იყო სხვა გენოტიპებთან შედარებით,რაც მიუთითებს ჰეპატოტოქსინების უფრო დიდი რაოდენობის გამომუშავებაზე. ამრიგად ამ გამოკვლევის შედეგები მიუთითებენ, რომ CYP2E1 გენის პოლიმორფიზმი ტუბის საწინააღმდეგო თერაპიაში, შეიძლება ასოცირებული იყოს წამლისმიერი ჰეპატიტის განვითარებასთან.

შესწავლილია NAT2, GSTT1 და GSTM1 გენების პოლიმირფიზმის გავლენა ტუბის საწინააღმდეგო პრეპარატების მიღებით გამოწვეული ჰეპატიტის განვითარებაზე (Watanabe et al., 2003). გამოკვლეული იყო ტუბით დაავადებული 33 ინდივიდი, რომელთაც განუვითარდათ წამლისმიერი ჰეპატიტი და ასეთივე რაოდენობა ჰეპატოტოქსიკურობის ეფექტის გარეშე (Roy, 2001).

შეისწავლებოდა NAT2 გენის წერტილოვანი მუტაციები GSTT1 და GSTM1-ის „ნულოვანი“ ალელის არსებობა. ნაჩვენებია, რომ GSTM1-ის „ნულოვანი“ ალელის მიხედვით ჰომოზიგოტების სიხშირე ავადმყოფებში წამლისმიერი ჰეპატიტით მნიშვნელოვნად მაღალი იყო საკონტროლო მაჩვენებლებთან შედარებით (17,52% 8,24% -ის წინააღმდეგ; p≤ 0,05). NAT2 და GSTT1 მუტანტური ალელების სიხშირეები სარწმუნოდ არ განსხვავდებოდა ჯგუფებს შორის.

იაპონელი მკვლევარების შრომებში შეისწავლებოდა გენეტიკური ფაქტორების გავლენა ტროგლიზატონის ჰეპატოტოქსიკურ ეფექტზე (Yu et al., 1995). ეს პრეპარატი გამოიყენება ინსულინორეზისტენტულობის კორექციისთვის და ამოღებული იქნა 2002 წლის მარტში გაყიდვებიდან, ზოგიერთ ავადმყოფებში წამლისმიერი ჰეპატიტის განვითარების გამო. 110 პაციენტი იყო ჩართული კვლევაში, რომელთაგან 25-ში გამოვლინდა ამინოტრანსფერაზების მომატებული დონე. შეისწავლეს 68 სახის პოლიმორფიზმი, რომელიც დაკავშირებულია პრეპარატის მეტაბოლიზმთან. ტაკრინით მკურნალობისას აგრეთვე აღინიშნება GSTT1 და GSTM1-ის ნულოვანი ალელების მატარებლებში ჰეპატოტოქსიკური ეფექტი (Simon et al., 2000). ტაკრინის ჰეპატოტოქსიკური ეფექტი შეისწავლებოდა ალცჰეიმერით დაავადებულ 141 პაციენტში. პრეპარატით მკურნალობისას ალანინ ამინოტრანსფერაზის (ALT) დონე 3-ჯერ აჭარბებდა 52 პაციენტში ნორმალურ დონეს, ხოლო 89 პაციენტში ნორმის ფარგლებში რჩებოდა, 28-ში (20%) გამოვლინდა GSTT1 -ის ნულოვანი გენოტიპი და 68(48%) იყო GSTM1-ის ნულოვანი გენოტიპის მატარებელი. GSTT1 - GSTM1-ის კომბინირებული ნულოვანი ვარიანტი გამოვლინდა 18 პაციენტში (13%), მათგან 13-ში შეინიშნებოდა ALT-ეს დონის, როგორც მინიმუმ

სამჯერადი ზრდა. GSTM1-ის „ნულოვანი“ ჰეპატიტისას შეინიშნებოდა АЛТ -ს ზრდის ტენდენცია, მაგრამ არც GSTT1 და არც GSTM1 ცალკე არ იყვნენ ჰეპატოტოქსიკურობის პრედიქტორები (გამომწვევები) ტაკრინის გამოყენებისას. მხოლოდ GSTT1 - GSTM1-ის კომბინირებული „ნულოვანი“ გენოტიპია მოჩნეული ჰეპატოტოქსიკურობის განვითარების რისკის დამოუკიდებელ ფაქტორად. სამკურნალწამლო წამლისმიერი სტეატოჰეპატიტი შეიძლება განვითარდეს კორტიკოსტეროიდების, ტამოქსიფენის და ესტროგენების მიღების ფონზე. არაალკოჰოლური სტეატოჰეპატიტის შემთხვევაში მეტოტრექსატსაც შეუძლია გააძლიერის ღვიძლის ფიბროზის განვითარება (Farrell, 2002). წამლისმიერი სტეატოჰეპატიტი ვითარდება ხანგრძლივი თერაპიისას (6 თვეზე მეტი) და ერთ-ერთი მიზეზი შეიძლება იყოს წამლის დაგროვება მეტაბოლიზმში მონაწილე ფერმენტების დეფექტის გამო. ნაჩვენებია CYP2D6 გენის პოლიმორფიზმის გავლენა წამლისმიერ ჰეპატიტზე პერგექსილინის მალიატის გამოყენებისას, რაც გამოწვეულია პრეპარატის შენელებული ჟანგვით (Farrell, 2002). წამლისმიერი ჰეპატიტი რიგ შემთხვევაში აღინიშნება დაავადების პროგრესირებისას ზემომქმედი გამომწვევი აგენტის მოქმედების მოხსნისას. ტამოქსიფენი, პრეპარატი, რომელიც გამოიყენება კიბოს მკურნალობისას იწვევს ღვიძლის სტეატოზს, რომელიც შეიძლება პროგრესირდეს არაალკოჰოლურ სტეატოჰეპატიტში. იაპონელი მკვლევარები სწავლობდნენ ციტოქრომ CYP17α (A1 და A2) ალელების პოლიმორფიზმის გავლენას ტამოქსიფენის გავლენას ფილტვის კიბოთი დაავადებულ 180 პაციენტში (Ohnishi T. et al. 2005). პაციენტების 31,7%-ში ტამოქსიფენით მკურნალობას თან ახლდა ღვიძლის სტეატოზის განვითარება და A2 ალელის სიხშირე სტეატოზიან ავადმყოფებში სარწმუნოდ მაღალი იყო.

2.3 სამკურნალო წამლების ჰეპატოტოქსიკურობის მექანიზმი

ღვიძლში კონცენტრირდება და სეკრეტის სახით წარმოიქმნება არა მხოლოდ ნაღვლის მჟავები, არამედ ექსკრეტირდება სხვა ტოქსუკური ნივთიერებები, მაგ. ბილირუბინი. სამკურნალო პრეპარატებით ინდუცირებულმა ჰეპატიტებისა და ნაღვლის სადინარების დაზიანებამ შეიძლება გამოიწვიოს ქოლესტაზი, რომელიც ხელს უწყობს ტოქსიკური ნაღვლის მჟავების და ექსკრეციის პროდუქტების დაგროვებას,რაც იწვევს უფრო მაღალი ხარისხით ღვიძლის დაზიანებას. ადამიანებში მემბრანის არხების ტუმბოს დაზიანება,რომელიც ნაღვლის მჟავების ექსკრეციითაა გამოწვეული შეინიშვება ნაღვლის მჟავების ჰეპატოტოქსიკური მოქმედება (Jaeschke. 2002), რომელიც იწვევს ღვიძლის დაზიანებას, ციროზს და სიკვდილს, ღვიძლის უკმარისობის გამო. ჰეპატოციტების კულტურაში ნაღვლის მჟავები იწვევდნენ

აპოპტოზს, რომელიც ორი გზით რეალიზდებოდა სიკვდილის რეცეპტორების (Fas)-ის მეშვეობით და მიტოქონდრიების დისფუნქციის შედეგად. ცხოველებში ჩატარებულ კვლევებზე იყო ნაჩვენები, რომ დომინანტურ როლს ასრულებს (Fas)-ის აქტივაცია. კუპფერის უჯრედების სინუსოიდალური ენდოთელიოციტებს, ვარსკვლავისებრ (ცხიმდამაგროვებელი ანუ იტოს უჯრედები) უჯრედებს, მონოციტებს და ნეიტროფილებს აგრეთვე შეაქვთ თავისი წვლილი წამლისმიერი ჰეპატიტის პათოგენეზში (Jaeschke. 2002). კუპფერის უჯრედები და ნეიტროფილები წარმოადგენენ ЦК, ნიტროზორადიკალების და ჟანგბადის რეაქციული ფორმების წყაროს, რომლებიც მონაწილეობენ ტოქსიკანტებით ინდუცირებულ ოქსიდაციურ სტრესსა და უჯრედების დაზიანებაში. კუპფერის უჯრედები აგრეთვე მონაწილეობენ ალკოჰოლით გამოწვეულ ღვიძლის დაზიანებაში. აქტივირებული ვარსკვლავისებური უჯრედები ასინთეზირებენ კოლაგენს, რომელიც იწვევს ფიბროზსა და ციროზს. სამკურნალო პრეპარატების ტოქსიკური ეფექტი დაკავშირებულია ნეიტროფილების და კუპფერის უჯრედების უშუალო აქტივაციასთან ან ინაქტივაციასთან, რომელიც თავის მხრივ კომპლემენტის გააქტიურებით არის განპირობებული. კუპფერის უჯრედები ახდენენ სეკრეციას ციტოტოქსიკურ მედიატორებს - ჟანგბადის რეაქციულ ფორმებს, ანთების მაპროვოცირებელ ციტოკინებს და ქემოკინებს. კომპლემენტის (მაგ. c5a) და ЦК ფაქტორები ინიცირებენ და აქტივირებენ ნეიტროფილების შეღწევას ღვიძლის სისხლძარღვოვან სისტემაში. ქემოაქტარანტებით სინთეზირებული ნეიტროფილები შედიან სისხლძარღვებში, ხდება მათი ადგეზია პარენქიმულ უჯრედებზე, რაც აინდუცირებს მათ ნეკროზს ჟანგბადის რეაქციული ფორმებისა და პროტეაზების ზემოქმედებით. ნეიტროფილების ადგეზიის მოლეკულები (β2 ინტეგრინები განსაკითრებით CD1 1b/CD18) ენდოთელური უჯრედებისა და ჰეპატოციტების ICAM-1 წარმოადგენენ განმსაზღვრელს ნეიტროფილების მიგრაციისთვის, მათი სისხლძარღვებში შეღწევადობასა და დამჟანგველების პროდუქტისათვის. ЦК- ს შეუძლია გამოიწვიოს ღვიძლში ქემოკინებისა და ადგეზიის მოლეკულების პროდუქცია, რომლებიც თავის მხრივ ექვემდებარება ოქსიდაციური სტრესით მოდულირებას (Jaeschke H. 2002).

2.4 GSTM1 და GSTT1 გენების პოლიმორფიზმის პოპულაციური სხვადასხვაობა

გლუტათიონ S–ტრანსფერაზა (GST) ასრულებს სასიცოცხლოდ მნიშვნელოვან როლს მრავალი ხელოვნურად წარმოებული ნაერთის, მათ შორის წამლების (ანტისიმსივნური პრეპარატების ჩათვლით) II ფაზის ბიოტრანსფორმაციასა და დეტოქსიკაციაში. ადამიანის

ციტოზოლის GST-ები არიან პოლიმორფულები და ახასიათებთ ეთნო-დამოკიდებულება, დაკავშირებული სხვადასხვა სახის დაავადებასთან.

GSTM1 და GSTT1 გენების მიხედვით ორმაგი ნულოვანი ვარიანტი მიიღება 1(p13.3) და 22(q11.2) ქრომოსომებში, 16 და 52 კბ მონაკვეთების დელეციებით, შესაბამისად, და დაკავშირებულია ღვიძლის მედიკამენტოზური დაზიანების, სიმსივნის სხვადასხვა ფორმების, კარდიოვასკულარული დავადებების და სხვა დაავადებათა განვითარების მომატებულ რისკთან (Magno et al., 2009; Rafiee et al., 2010; Okada et al., 2010; Wang et al., 2010; Nafissi et al.,2011).

GSTM1 და GSTT1 გენების ნულოვანი ვარიანტების სიხშირეთა ანალიზმა გამოავლინა განსხვავებული სურათი აზიელ, აფრიკელ და ევროპულ მოსახლეობაში. დადგინდა მნიშვნელოვანი პოპულაციათაშორისი განსხვავება GSTM1 და GSTT1 გენების პოლიმორფიზმის მიხედვით. GSTT1 გენის ნულოვანი ვარიანტის სიხშირე ევროპელებში ვარირებდა 14 % –დან 28.3%–მდე (Nafissi et al., 2011; Fromenty et al., 2004; Huang et al., 2003; Hussain et al., 2003; IngelmanSundberg, 2005).

აფრიკელებში GSTM1 და GSTT1 ნულოვანი გენოტიპების სიხშირე შეადგენდა 27.8% და 46.8%; სამხრეთ ინდოელთა პოპულაციაში 22.4% და 17.6%, ხოლო ჩინელების პოპულაციაში 52.0% და 38,7%, შესაბამისად (Piacentini et al., 2011;Vettriselvi et al., 2006; Liu et al., 2009).

ევროპულ პოპულაციაში აღნიშნული გენების სიხშირე სხვადასხვა ავტორის მონაცემებით სხვადასხვაა (იხ.ცხრილი), თუმცა განხსვავდება აზიური პოპულაციისაგან.

906 Arch Toxicol (2008) 82:903–907

Table 2 Frequency of *GSTM1* null and *GSTT1* null genotypes in some European populations

	GSTM1 null		*GSTT1* null		Reference
	n	Frequency	*n*	Frequency	
Italy	521	0.357	464	0.169	Present Study
Italy	810	0.494	553	0.163	Garte et al. (2001)
Italy	211	0.510	76	0.190	Taioli et al. (2001)
Italy	31	0.560	31	0.310	Capoluogo et al. (2007)
Denmark	537	0.536	358	0.129	Garte et al. (2001)
Finland	482	0.469	385	0.130	Garte et al. (2001)
France	1184	0.534	512	0.168	Garte et al. (2001)
Germany	734	0.516	487	0.195	Garte et al. (2001)
Greek	165	0.388	165	0.188	Stavropoulou et al. (2007)
Netherlands	419	0.504	419	0.229	Garte et al. (2001)
Polish	233	0.476	233	0.163	Kargas et al. (2003)
Slovakia	332	0.512	322	0.180	Garte et al. (2001)
Slovenia	102	0.520	102	0.255	Garte et al. (2001)
Spain	312	0.497	312	0.205	Garte et al. (2001)
Sweden	544	0.559	423	0.130	Garte et al. (2001)
Turkey	133	0.519	133	0.173	Ada et al. (2004)
Turkey	121	0.550	121	0.818	Ünal et al. (2007)
UK	1122	0.578	922	0.205	Garte et al. (2001)

GSTT1 და GSTM1 ნულოვანი გენოტიპების ფართო პოპულაციური ვარიაბელობა მრავალი ფაქტორის ურთიერთქმედების შედეგია, როგორიცაა: თითოეული პოპულაციის განვითარების განსხვავებული ისტორია, ცხოვრების წესით განპირობებული გადარჩევა, ტოქსინებისადმი განსხვავებული მგრძნობელობა და განწყობა გარკვეული დაავადებების მიმართ.

ფილტვის ტუბერკულოზის მკურნალობა უმეტესად დაფუძნებულია იზონიაზიდის, რიფამპიცინისა, პირაზინამიდის და სხვა ანტიტუბერკულოზური მედიკამენტების გამოყენებაზე (Ohnishi et al., 2005). ტუბერკულოზის საწინააღმდეგო წამლებით გამოწვეული ღვიძლის დაზიანება იწვევს უამრავ გვერდით ეფექტს ტუბერკულოზის მკურნალობისას (Park et al., 2010; Watkins et al., 2011; Devarbhavi et al., 2011; Gupta et al., 2013).

კვლევები GST–ს ვარიანტების გავრცელების მიხედვით, გაზრდის ინფორმაციას პოპულაციებში გარკვეულ დაავადებათა გავრცელების შესახებ (Piacentini et al., 2011).

GSTT1 და GSTM1 გენებისათვის ნაჩვენებია როგორც პოპულაციათაშორისი, ასევე შიდაპოპულაციური პოლიმორფიზმი; ამგვარად, აუცილებელი ხდება გენოტიპური სხვაობების გათვალისწინება ანტიტუბერკულოზური პრეპარატებით მკურნალობისას, შესაბამისი პრეპარატებით გამოწვეულ ღვიძლის დაზიანების რისკის შესამცირებლად (Watkins et al., 2011; Devarbhavi et al., 2011; Gupta et al., 2013).

3. კვლევის მასალა და მეთოდიკა

3.1 მასალა

საკვლევ ჯგუფებს წარმოადგენდა ჯანმრთელ ინდივიდთა საკონტროლო ჯგუფი, ტუბერკულოზით დაავადებული ინდივიდები, რომელთაც არ აღენიშნებოდათ დარღვევები ღვიძლის ფუნქციურ სინჯებში და ის დაავადებული ინდივიდები, რომელთაც აღენიშნებოდათ დარღვევები ღვიძლის ფუნქციურ სინჯებში - შეცვლილი ჰქონდათ ალანინ ამინოტრანსფერაზის (ALT), ასპარტატამინოტრანსფერაზას (AST) გამა- გლუტამინამინოტრანსფერაზას (GGT) დონეები. კვლევის მასალად გამოიყენებოდა საკვლევი ინდივიდების 3-5 მკლ კაპილარული (პერიფერიული) სისხლი. სულ გამოკვლეული იყო 185 ინდივიდი.

3.2 მეთოდი

SNP(ერთნუკლეოტიდიანი პოლიმორფიზმი) გენოტიპირება ხორციელდებოდა ხელსაწყო Ese-Quant Tube Scanner-ის საშუალებით, რომელიც წარმოადგენს ახალი თაობის, იზითერმულ PCR-ზე დაფუძნებულ ტექნოლოგიას, არის მარტივად გამოსაყენებელი ლუმინესცენტური სისტემა. იგი უაღრესად მგრძნობიარეა, ძლიერი და ეფექტურია, ამავდროულად სწრაფიც. ფლუორესცენციის დეტექტორი დაფუძნებულია თანამედროვე მიკროსისტემურ ტექნოლოგიებზე. სმარტ ამპლიფიკაციის პროცესი (SMAP) წარმოადგენს დნმ-ამპლიფიკაციაზე დაფუძნებულ მეთოდს, რომელიც საკმაოდ მოსახერხებელია ერთნუკლეოტიდიანი პოლიმორფიზმის (SNP) და მუტაციების სწრაფად დადგენისათვის. აღნიშნული მეთოდი აქამდე არსებულ მეთოდებთან შედარებით გამოირჩევა მთელი რიგი უპირატესობით. კერძოდ:

1. რეაქცია იზოთერმულია, ანუ PCR-ისგან განსხვავებით არ საჭიროებს ტემპერატურის რეჟიმის ცვლას და ერთ ტემპერატურაზე მიმდინარეობს.

2. შედეგების დადგენა შეიძლება პირდაპირ, სულ რამდენიმე მიკროლიტრი სისხლის ნიმუშიდან, დნმ-ის ყოველგვარი გასუფთავებისა და გამოყოფის გარეშე.

როგორც აღვნიშნეთ, ამ მეთოდის დახმარებით მუტაციის აღმოჩენა შესაძლებელია საკვლევი მასალის 30 წუთიანი ინკუბაციის შემდეგად, იზოთერმულ პირობებში. რეაქცია მიმდინარეობს 25მკლ. სარეაქციო სინჯარებში (PCR-ის სინჯარები), რიმელსაც ემატება 10 მკლ. მოცულობის ოთხი სხვადასხვა პრაიმერის ნაკრები, რომელიც აინიცირებს ალელ-სპეციფიკურ ამპლიფიკაციას, სინჯარაში ემატება ასევე Bst დნმ-პოლიმერაზა და თავისუფალი ნუკლეოტიდების ნაკრები, რომელიც მონაწილეობას იღებს ახალი ჯაჭვების სინთეზში. გარდა

აღნიშნულისა, არეში საჭირო და აუცილებელ კომპონენტებს წარმოადგენენ: DMSO (დიმეთილ სულფოქსიდი), ტრის-HCl (Ph=8), KCl, (NH4)2SO4, MgSO4, Tween 20 და SYBR Green - მწვანე ფერის საღებავი (ეს ყველაფერი ერთად არის რეაქციის ბუფერი, რომელიც ქმნის ხელსაყრელ ქიმიურ გარემოს დნმ-პოლიმერაზას ოპტიმალური აქტივობისა და სტაბილურობისთვის). ჩამოთვლილი კომპონენტები ერევა წინასწარ მომზადებულ საკვლევ ნიმუშში, რომელიც შეიცავს 1-წილ კაპილარულ სისხლს და 2-წილ 5%-იანი NaOH-ის ხსნარი. ხდება ნიმუშთა დამუშავება 98^{0}C ტემპერატურაზე 3 წუთის განმავლობაში. ბოლო ეტაპზე ნიმუში გრილდება ყინულზე და 2 მკლ მოცულობით გადაიტანება PCR ტუბებში, რომელიც თავსდება აპარატის სპეციფიკურ ბოქსში და 60 წუთის განმავლობაში მიმდინარეობს სმარტ-ამპლიფიკაციის რეაქცია.

კვლევაში გამოიყენებოდა შემდეგი პრაიმერები:

GSTM1 ველური ტიპის ალელის პრაიმერების ნაკრები:

GSTM1 TP	5'-GACAACCATATGAATTCTGGATTGTAGC-3'
GSTM1 FP	5'-ACCTTCTACCCTCAGAAGGTGACATTTTGGAGAACCAGAC-3'
GSTM1 BP	5'-CAGCTGGGCATGATCTG-3'
GSTM1 OP1	5'-GTTTTGTGGGTGGCAGGTGG-3'
GSTM1 OP2	5'-CCCAAATCCAAACTCTGTCA-3'

GSTT1 ველური ტიპის ალელის პრაიმერების

GSTT1 TP	5'-TTTGCACACACACTAGTTGCTGAAGTCCTGCT-3'
GSTT1 FP	5'-ACCTTCTGTACCCTCAGAAGGTGCAGCATCTGATTTGGGGAC-3'
GSTT1 BP	5'-GCCATAGCCCGGTGT-3'
GSTT1 OP1	5'-CAGGTGAACCCACTAGGCAG-3'
GSTT1 OP2	5'-TGGATGGTTGTGAGGGCAGG-3'

რეაქციის ხარისხის კონტროლისათვის გამოიყენებოდა ეპიდერმული ზრდის ფაქტორის რეცეპტორის SmartAmp-2 კიტი, რომლის პრაიმერებიც იყო შემდეგი

TP - 5'-CACCGCAGCATGTTCCGCACCCAGCAGTTTG-3'
FP – 5'-CACCTTCACCCTCAGAAGGTGACCTGGCAGCCAGGAACG-3'
BP – 5'-ACAGATTTTGGGCT-3'
OP1 - 5'-GACCGTCGCTTGGTGCAC-3'
OP2 - 5'-CCTCCTTCTGCATGGTAT-3'

გენოტიპირება

როგორც საყოველთაოდ არის მიღებული, ჩვენს კვლევაშიც, GSTM1 დელეცირებული გენი ნახსენებია როგორც GSTM1 ნულოვანი ალელი ან GSTM1(-), ჰეტეროზიგოტი GSTM1(+/(-) და ჰომოზიგოტი ველური ტიპის GSTM1(+)/(+) ორივე შემთხვევაში აღნიშნულია როგორც GSTM1(+).

GSTT1 გენის შემთხვევაშიც გამოყენებული გვაქვს იგივე აღნიშვნები.

სტატისტიკური ანალიზი

სტანდარტული შეცდომის გამოთვლა ხდებოდა ფორმულით:

$$m = \pm \frac{\sqrt{n(100-n)}}{N}$$

სადაც: n გამოკვლეული გენის კონკრეტული ალელის პროცენტული მაჩვენებელია.

N-გამოკვლეული ინდივიდების რაოდენობაა.

ორ სიმრავლეს ვადარებდით სტიუდენტის (t) კრიტერიუმით:

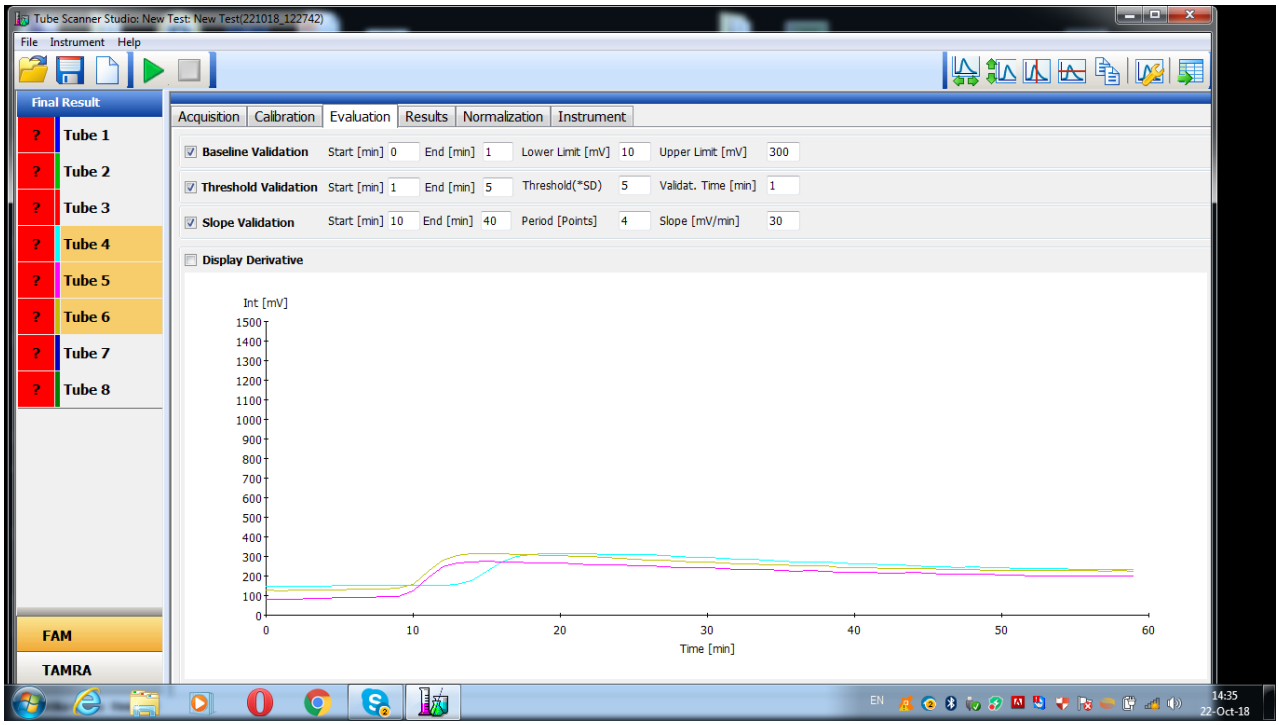
$$t = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{m_1^{\ 2} + m_2^{\ 2}}}$$

4. მიღებული შედეგები და განსჯა

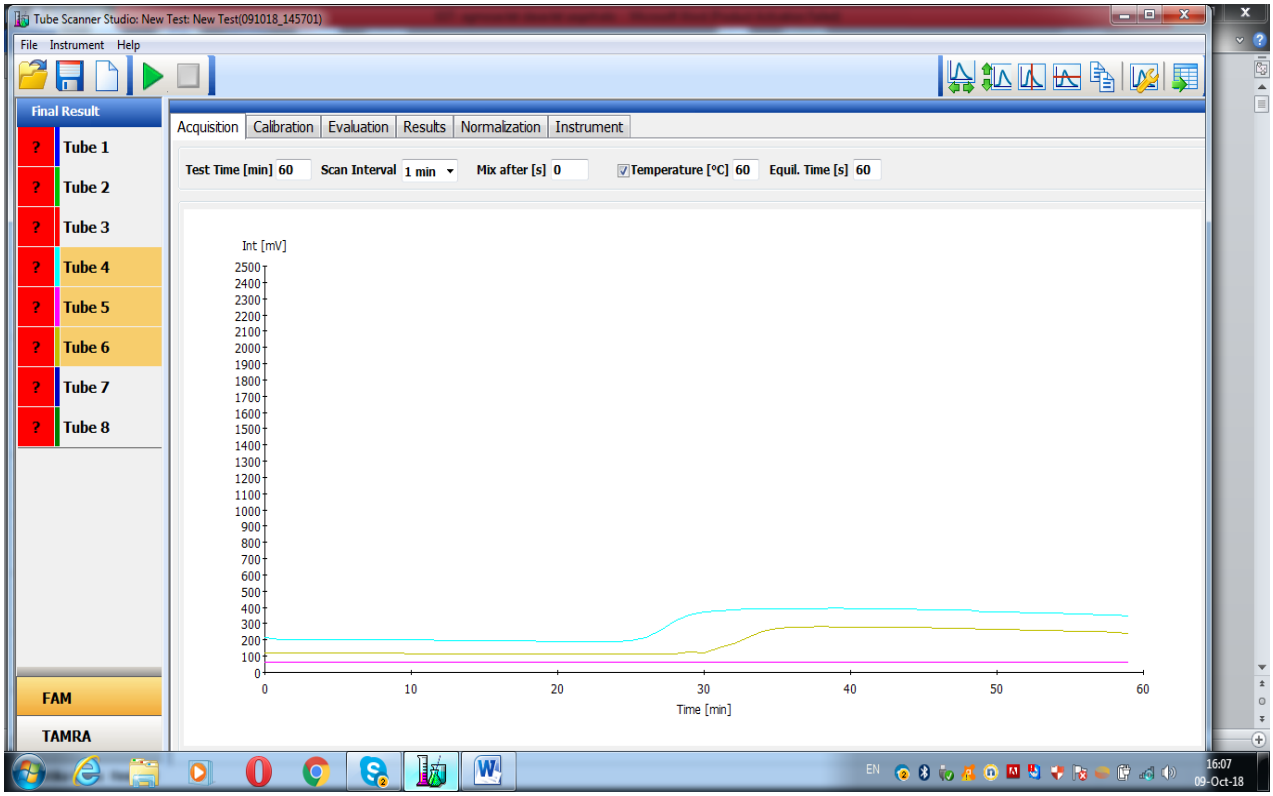
GST გენების (GSTT1 და GSTM1) პოლიმორფიზმის კვლევა და მისი კავშირის დადგენა ანტიტუბერკულოზური მედიკამენტებით გამოწვეულ ჰეპატოტოქსიკურობასთან, ქართულ პოპულაციაში პირველად ჩატარდა. კვლევის საწყის ეტაპზე განვსაზღვრეთ GST გენების პოლიმორფიზმის სიხშირე ქართული პოპულაციის ჯანმრთელ ინდივიდებში (თბილისი, აღმოსავლეთ და დასავლეთ საქართველო).

კვლევები ტარდებოდა ხელსაწყო Ese-Quant Tube Scanner-ის საშუალებით, რომელითაც ხდება ერთნუკლეოტიდიანი პოლიმორფიზმის (SNP) განსაზღვრა. შედეგების აღრიცხვა ხდებოდა რეალურ დროში, კომპიუტერის მონიტორზე, ამპლიფიკაციის გრაფიკების საშუალებით.

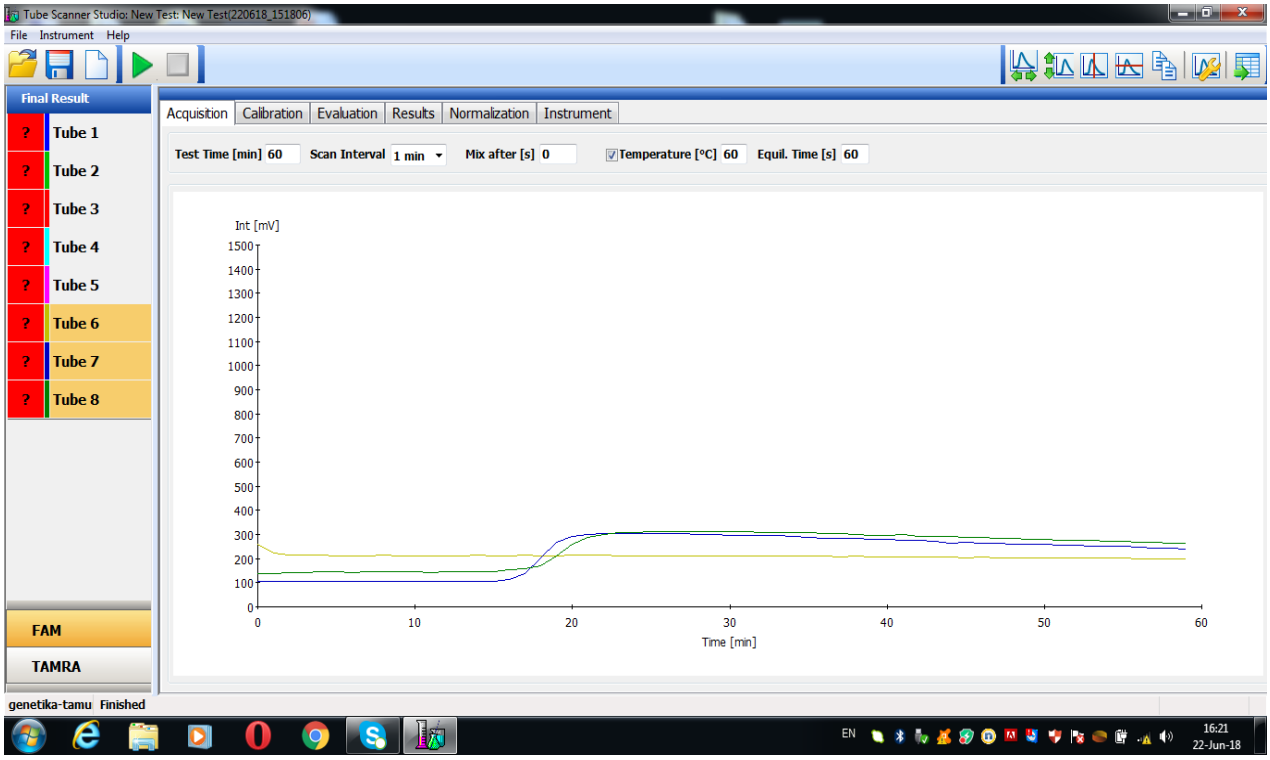
ცალ-ცალკე სინჯარაში ემატებოდა GSTT1, GSTM1 და EGFR გენების პრაიმერების ნაკრები და აღვრიცხავდით ამპლიფიკაციის მრუდებს. დადებით სიგნალად ითვლება ამპლიფიკაციის მრუდის „აწევა“ და უარყოფით სიგნალად - „სწორი ხაზი“.



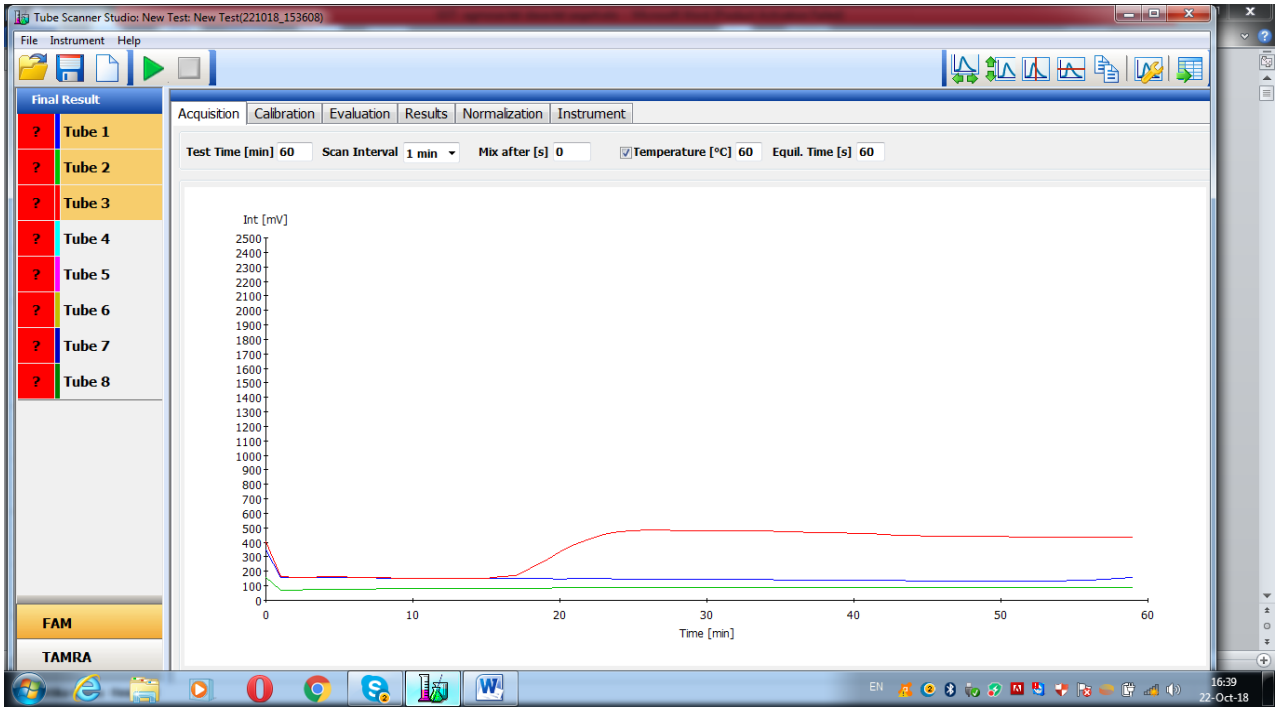
სურათი 1. Tube 4 – GSTT1 (+); Tube 5 – GSTM1 (+); Tube 6 - EGFR(+)



სურათი 2. Tube 4 – GSTT1 (+); Tube 5 – GSTM1 (-); Tube 6 - EGFR(+)



სურათი 3. Tube 6– GSTT1 (-); Tube 7 – GSTM1 (+); Tube 8 - EGFR(+)



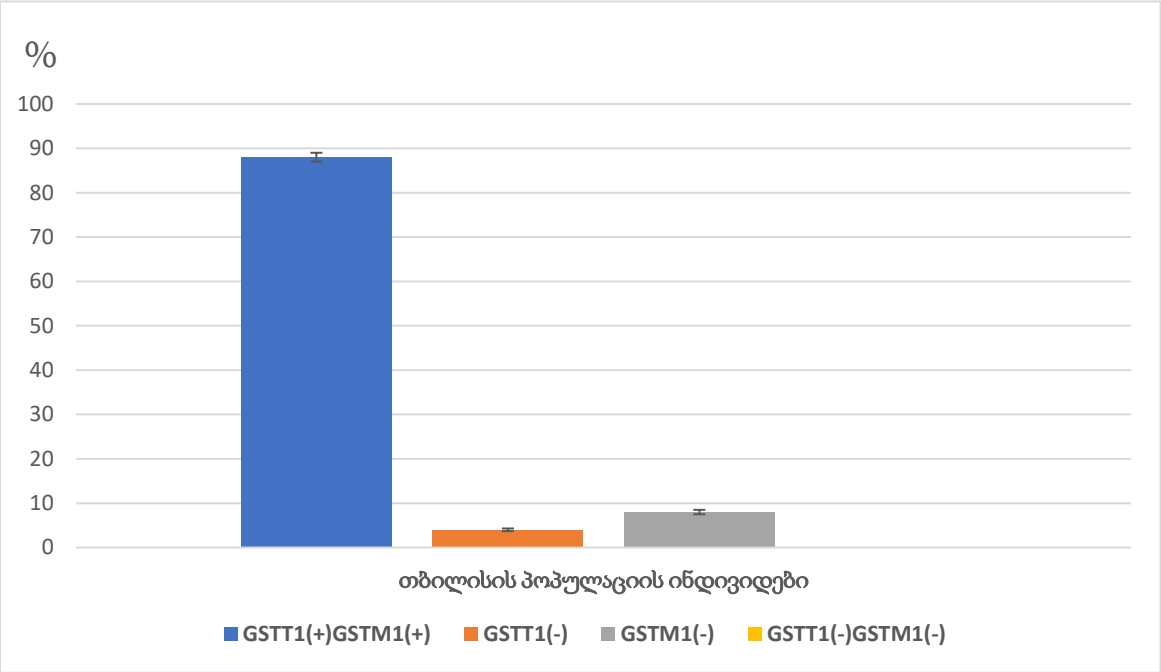
სურათი 4. Tube 1 – GSTT1 (-); Tube 2 – GSTM1 (-); Tube 3 - EGFR(+)

4.1 GST გენების პოლიმორფიზმი ქართული პოპულაციის ჯანმრთელ ინდივიდებში

გლუტათიონ S–ტრანსფერაზას (GST) გენების (GSTT1 და GSTM1) პოლიმორფიზმის შესწავლის მიზნით, კვლევების პირველ ეტაპზე გამოკვლეული იყო თბილისის პოპულაციის შემთხვევითად შერჩეული ჯანმრთელი ინდივიდები (50 ინდივიდი). შედეგების ანალიზით, ინდივიდთა 88%-ში გამოვლინდა GSTT1 და GSTM1 დადებითი გენოტიპები, GSTT1(-) დაფიქსირდა ინდივიდთა 4%-ში ხოლო GSTM1 (-) ინდივიდთა 8 %-ს აღმოაჩნდა (სურ.4, ცხრ1). აღსანიშნავია, რომ არცერთ ინდივიდში არ იყო დაფიქსირებული ორმაგი ნულოვანი ვარიანტი (GSTT1(-)/GSTM1(-)). აღნიშნულ ინდივიდთა ანამნეზით, მათ არასდროს ჰქონიათ სერიოზული პრობლემები ჯანმრთელობასთან დაკავშირებით და არც ცვლილებები ღვიძლის ფუნქციურ ტესტებში.

ცხრილი 1. GSTT1 და GSTM1 გენების პოლიმორფული ვარიანტების სიხშირე თბილისის პოპულაციის ინდივიდებში.

GST გენოტიპები	% საერთო რაოდენობიდან
GSTT1(+)/GSTM1(+)	88±0.6
GSTT1(-)/GSTM1(+)	4±0.3
GSTT1(+)/GSTM1(-)	8±0.5
GSTT1(-)/GSTM1(-)	0

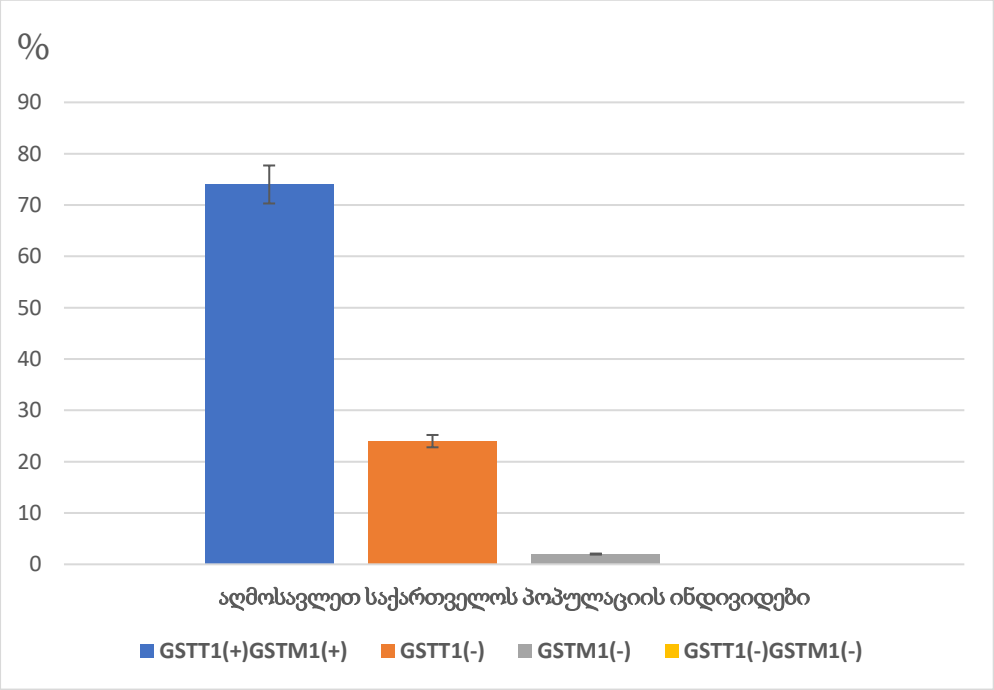


სურ. 4. GSTT1 და GSTM1 გენების პოლიმორფული ვარიანტების სიხშირე თბილისის პოპულაციის ინდივიდებში.

აღმოსავლეთ საქართველოს პოპულაციის ჯანმრთელ ინდივიდებში (50 ინდივიდი) GST გენების პოლიმორფიზმის (GSTT1 და GSTM1) შესწავლისას, ინდივიდთა 74%-ში გამოვლინდა GSTT1 და GSTM1 დადებითი გენოტიპები, GSTT1(-) დაფიქსირდა ინდივიდთა 24%-ში, ხოლო GSTM1(-) ინდივიდთა 2%-ს აღმოაჩნდა (სურ.5, ცხრ. 2). ასევე აღსანიშნავია რომ არცერთ ინდივიდში არ იყო დაფიქსირებული ორმაგი ნულოვანი ვარიანტი (GSTT1(-)/GSTM1(-).

ცხრილი 2. GSTT1 და GSTM1 გენების პოლიმორფული ვარიანტების სიხშირე აღმოსავლეთ საქართველოს პოპულაციის ინდივიდებში.

GST გენოტიპები	% საერთო რაოდენობიდან
GSTT1(+)/GSTM1(+)	74±0,8
GSTT1(-)/GSTM1(+)	24±0,8
GSTT1(+)/GSTM1(-)	2±0,2
GSTT1(-)/GSTM1(-)	0



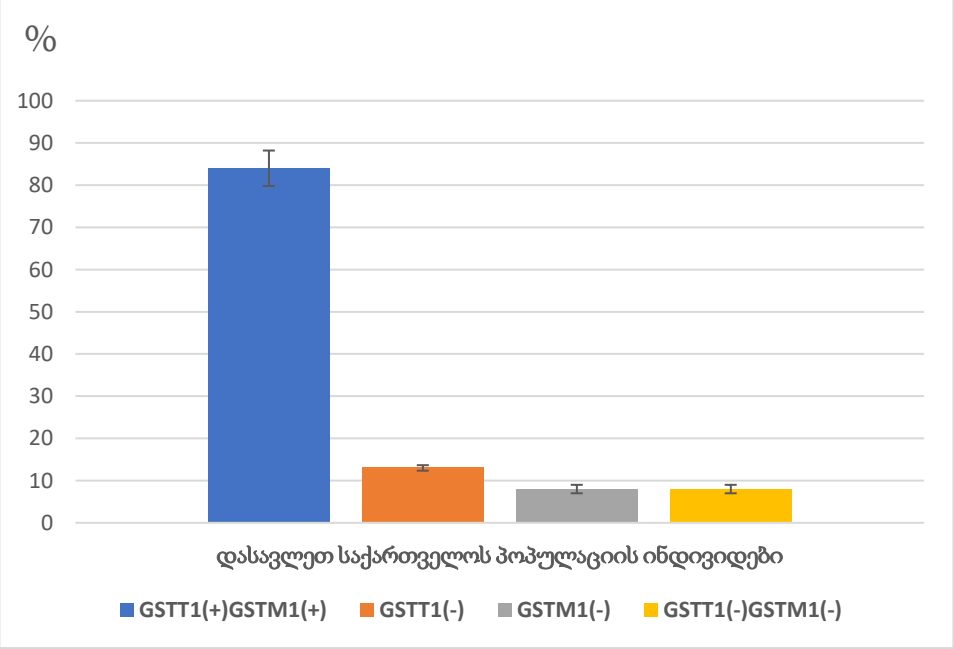
სურ.5. GSTT1 და GSTM1 გენების პოლიმორფული ვარიანტების სიხშირე აღმოსავლეთ საქართველოს პოპულაციის ინდივიდებში.

კვლევების შემდეგ ეტაპზე GST გენების პოლიმორფიზმი შევისწავლეთ დასავლეთ საქართველოს კლინიკურად ჯანმრთელ ინდივიდთა პოპულაციაში. ამ შემთხვევაშიც, საკვლევი ინდივიდების შერჩევა ხდებოდა შემთხვევითად. შედეგების ანალიზით, ინდივიდთა 84%-ში გამოვლინდა GSTT1 და GSTM1 დადებითი გენოტიპები (სურ. 6, ცხრ. 3), ხოლო შემთხვევათა 13%-ში დაფიქსირდა GSTT1(-) გენის ნულოვანი ვარიანტი (სურ.6; ცხრ.3). GSTM1(-) გენის ნულოვანი ვარიანტი დასავლეთ საქართველოს კლინიკურად ჯანმრთელ ინდივიდთა 8%-ში გამოვლინდა. ასევე აღსანიშნავია, რომ ორმაგი ნულოვანი ვარიანტი (GSTT1(-), GSTM1(-) დაფიქსირდა შემთხვევათა 8%-ში (სურ.6; ცხრ.3). აღნიშნულ ინდივიდთა ანამნეზით, მათ არასდროს ქონიათ

სერიოზული პრობლემები ჯანმრთელობასთან დაკავშირებით და შესაბამისად, არ უმკურნალათ ძლიერმოქმედი პრეპარატებით. აქედან გამომდინარე, არ ქონიათ ცვლილებები ღვიძლის ფუნქციურ ტესტებში. თუმცა უნდა აღინიშნოს, რომ ისინი წარმოადგენენ რისკ-ჯგუფს, რომელთაც შესაძლებელია გარკვეული მედიკამენტებით მკურნალობის შემთხვევაში, განუვითარდეთ წამლისმიერი ჰეპატოტოქსიკურობა.

ცხრილი 3. GSTT1 და GSTM1 გენების პოლიმორფული ვარიანტების სიხშირე დასავლეთ საქართველოს პოპულაციის ინდივიდებში.

GST გენოტიპები	% საერთო რაოდენობიდან
GSTT1(+)/GSTM1(+)	84±0,7
GSTT1(-)/GSTM1(+)	10±0,5
GSTT1(+)/GSTM1(-)	0
GSTT1(-)/GSTM1(-)	8±0,5
GSTT1(-)	**13±0,6**
GSTM1(-)	**8±0,5**

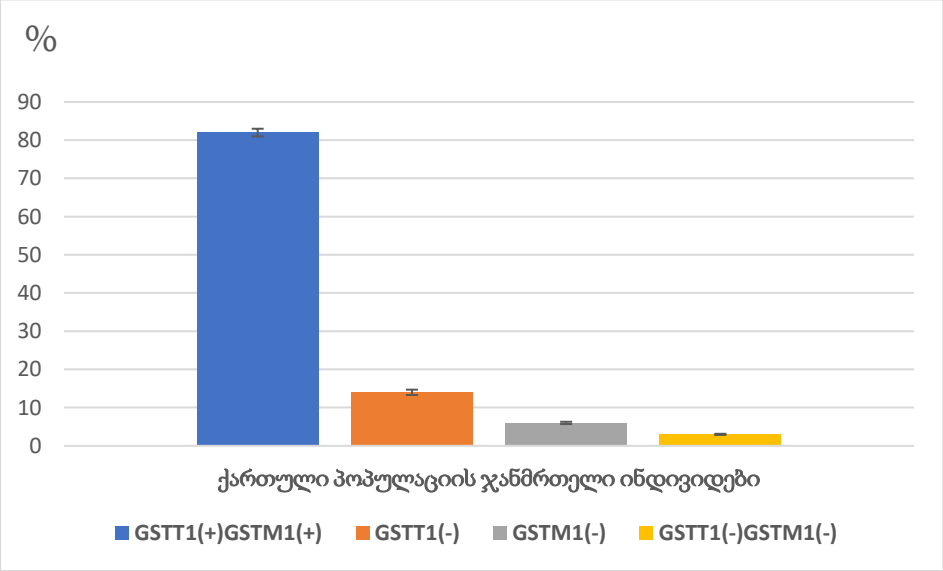


სურ.6. GSTT1 და GSTM1 გენების პოლიმორფული ვარიანტების სიხშირე დასავლეთ საქართველოს პოპულაციის ინდივიდებში.

იმისათვის, რომ შეგვექმნა წარმოდგენა ზოგადად ქართულ პოპულაციაში GST გენების პოლიმორფული ვარიანტების გავრცელების შესახებ, მოვახდინეთ თბილისის, აღმოსავლეთ და დასავლეთ საქართველოს ჯანმრთელ ინდივიდთა პოპულაციაში მიღებული შედეგების ჯამური ანალიზი (151 ინდივიდი). გლუტათიონ S–ტრანსფერაზას (GST) გენების (GSTT1 და GSTM1) პოლიმორფიზმის ჯამური ანალიზის შედეგად ინდივიდთა 82%-ში გამოვლინდა GSTT1 და GSTM1 დადებითი გენოტიპები, GSTT1(-) დაფიქსირდა ინდივიდთა 14%-ში, ხოლო GSTM1 (-) ინდივიდთა 6%-ს აღმოაჩნდა (სურ.7, ცხრ. 4). რაც შეეხება ორმაგ ნულოვან გენოტიპს (GSTT1(-) /GSTM1(-), ჯამური ანალიზის შედეგად, იგი ინდივიდთა 3%-ში დაფიქსირდა.

ცხრილი 4. GSTT1 და GSTM1 გენების პოლიმორფული ვარიანტების სიხშირე ქართული პოპულაციის ჯანმრთელ ინდივიდებში

GST გენოტიპები	% საერთო რაოდენობიდან
GSTT1(+)/GSTM1(+)	82±0,2
GSTT1(-)/GSTM1(+)	13±0,1
GSTT1(+)/GSTM1(-)	3±0,1
GSTT1(-)/GSTM1(-)	3±0,1
GSTT1(-)	**14±0,2**
GSTM1(-)	**6±0,1**



სურ. 7. GSTT1 და GSTM1 გენების პოლიმორფული ვარიანტების სიხშირე ქართული პოპულაციის ჯანმრთელ ინდივიდებში.

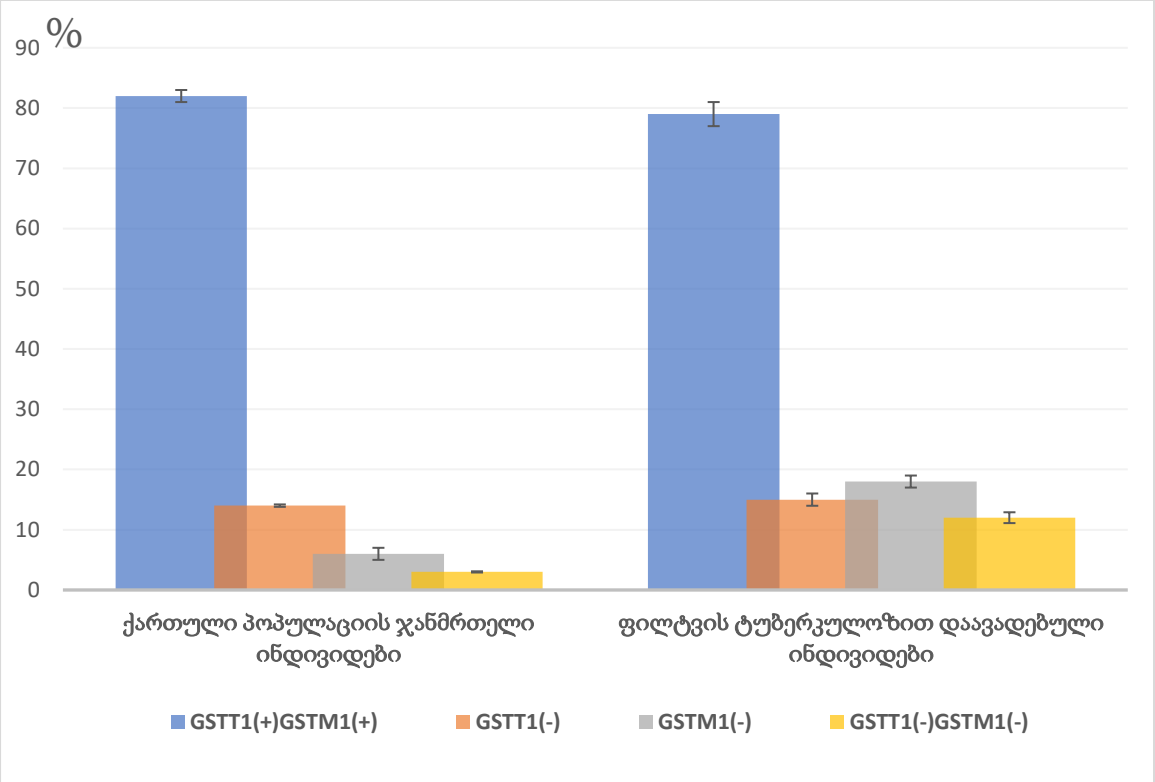
GST გენების პოლიმორფიზმის კვლევა მრავალ ქვეყანაშია ჩატარებული. ჩვენი კვლევის შედეგები შევადარეთ სხვა პოპულაციებში მიღებულ ანალოგიურ მონაცემებს. ჩვენი მაჩვენებლები გარკვეულწილად თანხვდება ზოგიერთი ქვეყნის (ძირითადად ევროპის ყვეყნების) ანალოგიურ მაჩვენებლებს. მაგალითისათვის, სერბეთის პოპულაციაში აღნიშნული გენების პოლიმორფიზმის კვლევის შედეგები (Grubisa at al., 2018) თანხვდება ჩვენს მიერ მიღებულ შედეგს. ორმაგ ნულოვანი გენოტიპი მათი მონაცემებით შეადგენდა 1,6 %-ს, რაც დაახლოებით თანხვდება ქართულ პოპულაციაში მიღებულ შედეგს (3%). ასევე თანხვედრაა GSTT1(-) გენოტიპის შემთხვევაშიც (სერბეთი - 14,3%, საქართველო - 14%). ველური ტიპის გენოტიპის შემთხვევაში, ორივე პოპულაციაში ყველაზე მაღალი მაჩვენებელი დაფიქსირდა. გარდა სერბეთისა, GSTT1(-) გენოტიპის მიხედვით მსგავსი მაჩვენებელი მივიღეთ ევროპის სხვა ვეყნებთანაც, როგორიცაა იტალია (16%) (Santovito et al., 2008). , ფინეთი (13%), შვედეთი (13%), დანია (12%), საფრანგეთი (16%) და სხვა (Garte et al., 2001). რაც შეეხება აზიას, მაგალითად, თურქეთში GSTT1(-) დაფიქსირდა შესწავლილი პოპულაციის 81,8%-ში (Unal et al., 2007), რაც ჩვენი პოპულაციისაგან სრულიად განსხვავებულ მაჩვენებელს წარმოადგენს. რაც შეეხება GSTM1(-), მისი მაჩვენებელი ჩვენი პოპულაციისათვის (6%) მნიშვნელოვნად განსხვავდებოდა სხვა პოპულაციების მაჩვენებლებისაგან (როგორც ევროპული, ისე აზიური).

4.2 GST გენების პოლიმორფიზმი ქართული პოპულაციის ფილტვის ტუბერკულოზით დაავადებულ ინდივიდებში

GST გენების (GSTT1 და GSTM1) ორმაგი ნულოვანი ვარიანტების ანტიტუბერკულოზური წამლებით გამოწვეულ ჰეპატოტოქსიკურობასთან კავშირის დადგენის მიზნით, შესწავლილ იქნა GST გენების (GSTT1 და GSTM1) პოლიმორფიზმი ქართული პოპულაციის ტუბერკულოზით დაავადებულ ინდივიდებში. კვლევის შედეგად ინდივიდთა 79 % -ში გამოვლინდა GSTT1(+)/GSTM1(+) გენების დადებითი გენოტიპები, 15%-ში აღინიშნა GSTT1(-) გენის ნულოვანი ვარიანტი, GSTM1(-) გენის ნულოვანი ვარიანტი კი დაფიქსირდა დაავადებულთა 18%-ში. ხოლო ორმაგი ნულოვანი გენოტიპი ინდივიდთა 12%-ში (GSTT1(-)/GSTM1(-) აღმოჩნდა (სურ. 8).

ამასთან, აღსანიშნავია, რომ ორმაგი ნულოვანი გენოტიპი (GSTT1(-)/GSTM1(-) დაფიქსირდა (20%) მხოლოდ ტუბერკულოზით დაავადებულ იმ ინდივიდებში, რომელთაც აღენიშნებოდათ ღვიძლის ფუნქციური სინჯებში ცვლილებები. ხოლო იმ ინდივიდებში, რომელთაც ჰქონდათ

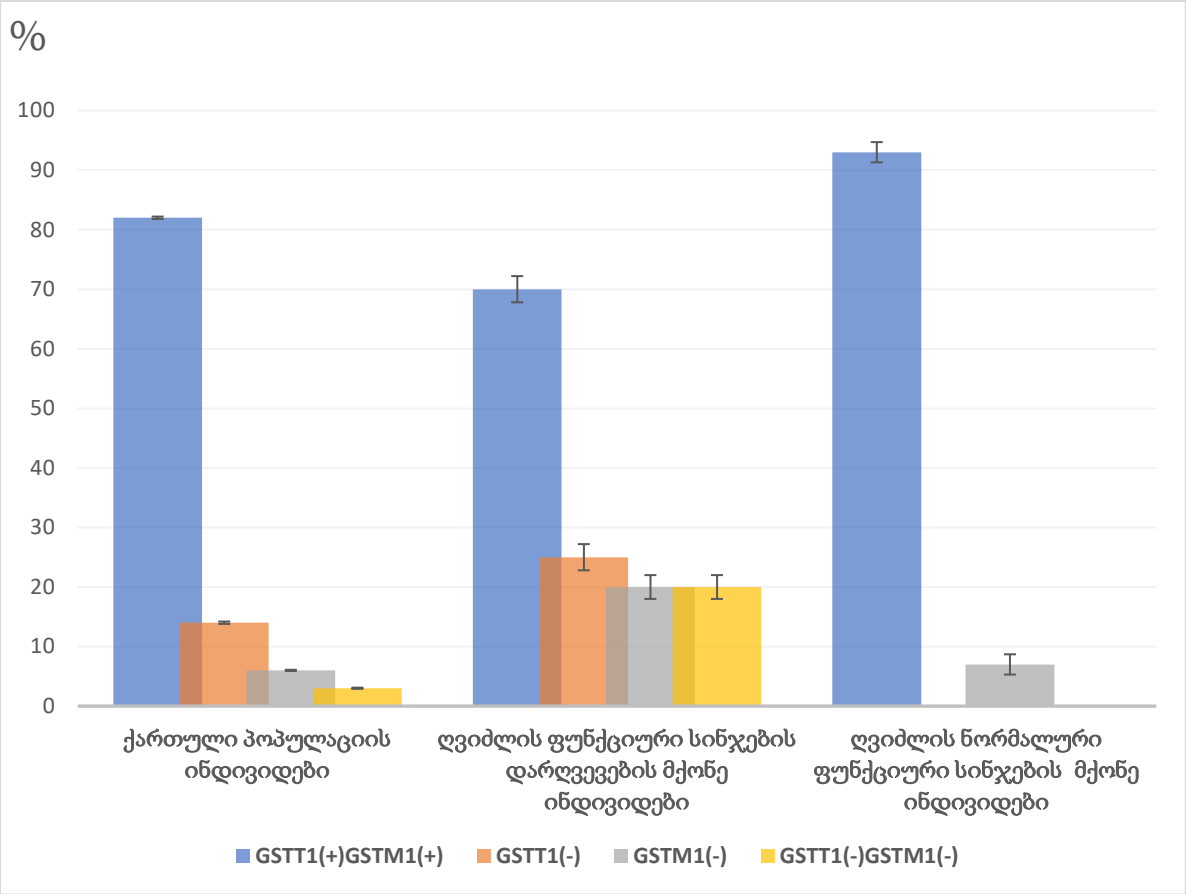
ღვიძლის ფუნქციური სინჯები ნორმაში, GST გენების ორმაგი ნულოვანი გენოტიპი (GSTT1(-)/ GSTM1(-) არ დაფიქსირებულა (ცხ.5, სურ. 9).



სურ. 8. GSTT1 და GSTM1 გენების პოლიმორფული ვარიანტების სიხშირე ქართული პოპულაციის ჯანმრთელ და ტუბერკულოზით დაავადებულ ინდივიდებში.

ცხრილი 5. GSTT1 და GSTM1 გენების პოლიმორფული ვარიანტების სიხშირე ფილტვის ტუბერკულოზით დაავადებულ ინდივიდებში.

GST გენოტიპები	% საერთო რაოდენობიდან		
	ღვიძლის ფუნქციური სინჯების დარღვევების მქონე ინდივიდები	ღვიძლის ნორმალური ფუნქციური სინჯების მქონე ინდივიდები	სულ %
GSTT1(+)/GSTM1(+)	70%±2,2	93%±1,7	79%±1,2
GSTT1(-)/GSTM1(+)	5%±0,6	0	3%±0,4
GSTT1(+)/GSTM1(-)	5%±0,6	7%±0,5	6%±0,4
GSTT1(-)/GSTM1(-)	20%±2,0	0	12%±0,9
აქ	**25%±2,2**	**0**	**15%±1,02**
GSTM1(-)	**20%±2,0**	**7%±1,7**	**18%±1,1**



სურ. 9. GSTT1 და GSTM1 გენების პოლიმორფული ვარიანტების სიხშირე ქართული პოპულაციის ჯანმრთელ და ტუბერკულოზით დაავადებულ ინდივიდებში (ჯამური მონაცემები).

როგორც უკვე აღვნიშნეთ, GST გენები მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ მუტაგენებისა და კანცეროგენების დეტოქსიკაციაში. სწორედ ამიტომ, მათი ნულოვანი გენოტიპები დაკავშირებულია სხვადასხვა დაავადების განვითარებასთან, როგორიცაა, მაგალითად, სხვადასხვა ტიპის სიმსივნეები, მათ შორის მწვავე და ქრონიკული მიელოიდური ლეიკემიები. ირანის პოპულაციაში ჩატარებული კვლევების შედეგად (Sheikhha et al., 2005), რომელიც ეხებოდა GST გენების პოლიმორფიზმის კავშირს მწვავე მიელოიდურ ლეიკემიასთან, დაავადებულთა 12,8%-ში გამოვლინდა GSTT1/GSTM1 ორმაგი ნულოვანი გენოტიპი, რაც თანხვდება ჩვენს მიერ მიღებულ მონაცემს (12%) ფილტვის ტუბერკულოზით დაავადებულების შემთხვევაში. მსგავსი კვლევები, სხვადასხვა დაავადებასთან GST გენების პოლიმორფიზმის კავშირის დასადგენად მრავალ ქვეყანაშია ჩატარებული. მაგალითად, სერბეთის პოპულაციაში აღმოჩნდა, რომ GSTM1(-) და GSTT1/GSTM1 ორმაგი ნულოვანი გენოტიპი დაკავშირებული იყო ათეროგენეზთან. როგორც ავტორები მიუთითებენ (Grubisa et al. 2018) აღნიშნული

პოლიმორფიზმი წარმოადგენს ათეროსკლეროზის განვითარების მნიშვნელოვან მარკერს და მისი საშუალებით შესაძლებელია დაავადების განვითარების პროგნოზირება სერბეთის პოპულაციაში.

ჩვენი შედეგებიდან გამომდინარე, შეგვიძლია ვთქვათ, რომ GSTT1/GSTM1 ორმაგი ნულოვანი გენოტიპი ქართულ პოპულაციაში დაკავშირებულია წამლებით გამოწვეულ ჰეპატოტოქსიკურობასთან.

ტუნისის პოპულაციაში ჩატარებული კვლევების შედეგებმა აჩვენა (Chbili et al., 2018), რომ კარბამაზეპინით გამოწვეული ჰეპატოტოქსიურობა უფრო მაღალი იყო იმ ინდივიდებში, რომელთაც ჰქონდათ მხოლოდ GSTM1(-) ან GSTT1/GSTM1 ორმაგ ნულოვანი გენოტიპი. ჩვენი კვლევებით მიხედვით, ტუბერკულოზის საწინააღმდეგო ჰეპატოტოქსიკურობა უფრო მაღალი იყო GSTT1/GSTM1 ორმაგი ნულოვანი გენოტიპის შემთხვევაში, თუმცა ჰეპატოტოქსიკურობა ასევე დაფიქსირდა GSTM1(-) გენოტიპის შემთხვევაშიც.

ამრიგად, ჩვენს მიერ ჩატარებული კვლევებით დადგინდა კავშირი GSTM1 და GSTT1 გენების ნულოვან გენოტიპებსა და წამლით გამოწვეულ ღვიძლის დაზიანებას შორის ქართული პოპულაციის ფილტვის ტუბერკულოზით დაავადებულ ინდივიდებში, რომლებიც იტარებდნენ ტუბერკულოზის საწინააღმდეგო მკურნალობას იზონიაზიდის, რიფამპიცინისა და პირაზინამიდის გამოყენებით. აღნიშნული კვლევა საქართველოში ჩატარდა პირველად და წარმოადგენს სიახლეს ჩვენი პოპულაციისათვის. ასევე არის მნიშვნელოვანი წინ გადადგმული ნაბიჯი პერსონალიზებული მედიცინის განვითარების მხრივ, ჩვენს ქვეყანაში.

5. დასკვნა

მიღებული შედეგებიდან გამომდინარე შეგვიძლია დავასკვნათ:

1. ქართული სუბპოპულაციები ხასიათდებიან GSTT1 და GSTM1 გენების ორმაგი ნულოვანი ვარიანტების განსხვავებული სიხშირეებით - დასავლეთ საქართველოს პოპულაციისათვის დამახასიათებელია GSTT1/GSTM1 ორმაგი ნულოვანი ვარიანტების არსებობა (3%), აღმოსავლეთის პოპულაციაში GSTT1/GSTM1 ორმაგი ნულოვანი არ გამოვლენილა. ზოგადად ქართული პოპულაცია ხასიათდება GSTT1 გენის ნულოვანი ვარიანტის სიხშირე (14%) მსგავსებას ავლენს ევროპულ პოპულაციებთან, GSTM1 გენის მიხედვით კი (6%) ვლინდება პოპულაციური ინდივიდუალობა.

2. ქართული პოპულაციის ფილტვის ტუბერკულოზით დაავადებულ ინდივიდებში, რომლებიც იტარებდნენ ანტიტუბერკულოზური პრეპარატების საშუალებებით მკურნალობას, დადასტურდა კავშირი GSTM1 და GSTT1 გენების ორმაგ ნულოვან გენოტიპსა და მედიკამენტებით გამოწვეულ ჰეპატოტოქსიურობას შორის.

3. ფილტვის ტუბერკულოზით დაავადებულ ინდივიდთა გენოტიპირების შედეგები საფუძველს იძლევა დავასკვნათ, რომ დაავადებულებისათვის დამახასიათებელი GSTM1 და GSTT1 გენების ორმაგი ნულოვანი ვარიანტების მაღალი სიხშირე (12%) ასოცირებულია ტუბერკულოზის განვითარების რისკთან ქართულ პოპულაციაში.

რეკომენდაცია: ფილტვის ტუპერკულოზით დაავადებული ინდივიდებისათვის, რომლებიც იწყებენ მკურნალობას ანტიტუბერკულოზური მედიკამენტებით, რეკომენდირებულია GSTM1 და GSTT1 გენების პოლიმორფიზმის განსაზღვრა, რათა ნულოვანი გენოტიპის აღმოჩენის შემთხვევაში, წინასწარ მოხდეს გარკვეული პრევენციული ღონისძიებების დაგეგმვა ღვიძლის წამლისმიერი დაზიანების თავიდან აცილების მიზნით.

6. გამოყენებული ლიტერატურა

1. Abbas A, Delvinquiere K, Lechevrel M, et al. GSTM1, GSTT1, GSTP1 and CYP1A1 genetic polymorphisms and susceptibility to esophageal cancer in a French population: different pattern of squamous cell carcinoma and adenocarcinoma. World J Gastroenterol. 2004,10:3389–3393.
2. Bhattacharjee P, Paul S, Banerjee M, Patra D. et al. Functional compensation of glutathione S-transferase M1 (GSTM1) null by another GST superfamily member, GSTM2. Sci Rep 2013; 3:2704.
3. Bogni A., Monshouwer M., Moscone A. et al. Substrate specific metabolism by polymorphic cytochrome P450 2D6 alleles. Toxicol. In Vitro. 2005; 19: 621-629.
4. Buchard A, Sanchez JJ, Dalhoff K, Morling N Multiplex PCR detection of GSTM1, GSTT1, and GSTP1 Gene variants: simultaneously detecting GSTM1 and GSTT1 gene copy number and the allelic status of the GSTP1 Ile105Val genetic variant. J Mol Diagn, 2007, 9:612–617.
5. Chbili C, et al., Glutathione S transferase M1 and T1 polymorphisms and the risk of mild hepatotoxicity induced by carbamazepine in a Tunisian population study. BMC Neurology. 2018. DOI 10.1186/s12883-018-1013-8.
6. Devarbhavi H. Antituberculous drug-induced liver injury: current perspective. Trop Gastroenterol. 2011; 32(3):1:67-74
7. Farrell G.C. Drugs and steatohepatitis. Semin Liver Dis. 2002. 22, 2: 185-194.
8. Fromenty B., Robin M.A., Igoudjil A. et al. The ins and outs of mitochondrial dysfunction in NASH. Diabetes Met. 2004. 30, 2: 121-138; 2005. 5, 1: 613.
9. Garte S., Gaspari L et al., Metabolic gene polymorphism frequencies in control populations. Cancer Epidemiol Biomarkers prev. 2001, 10:1239-1248.
10. Grubisa I., Otasevic P., Vucinic N. et al Combined GSTM1 and GSTT1 null genotypes are strong risk factors for atherogenesis in a Serbian population Genetics and Molecular Biology, 2018. 41, 1, 35-40.
11. Gundacker C, Komarnicki G, Jagiello P, et al. Glutathione-S-transferase polymorphism, metallothionein expression, and mercury levels among students in Austria. Sci Total Environ. 2007, 385:37–47.
12. Gupta V., Singh M., Amarapurkar D. et al. Association of GST null genotypes with anti-tuberculosis drug induced hepatotoxicity in Western Indian population. Ann Hepatol. 2013, 12(6):959-965.
13. Hernández RC. et al., Deletion of GSTM1 and GSTT1 genes and lung cancer survival: a systematic review. 2017 ;103:338-344.

14. Huang Y.S., Chern H.D., Su W.J. et al. Cytochrome P450 2E1 genotype and the susceptibility to antituberculosis druginduced hepatitis. Hepatology. 2003. 37, 4: 924-930.
15. Hussain Z., Kar P., Husain S.A. Antituberculosis druginduced hepatitis: risk factors, prevention and man agement. Indian J. Exp. Biol. 2003. 41, 11: 1226-1232.
16. IngelmanSundberg M. Genetic polymorphisms of cytochrome P450 2D6 (CYP2D6): clinical consequences, evolutionary aspects and functional diversity. Pharmacogenomics J. 2005. 5, 1: 613.
17. Jaeschke H., Gores G.J., Cederbaum A.I., Hinson J.A., Pessayre D., Lemasters J.J. Mechanisms of Hepatotoxicity.Toxicol. Sci. 2002. 65, 2: 166-176.
18. Kasthurinaidu S, Ramasamy T, Ayyavoo J, Dave D, Adroja D. *GST M1-T1 null* Allele Frequency Patterns in Geographically Assorted Human Populations: A Phylogenetic Approach. PLoS One. 2015; 10(4): e0118660. Published online 2015 Apr 13. doi: 10.1371/journal.pone.0118660
19. Liu L, Li C, Gao J, Li K, et al.(a) Genetic polymorphisms of glutathione S-transferase and risk of vitiligo in the Chinese population. J Invest Dermatol., 2009, 129:2646–2652.
20. Magno LA, Talbot J, Talbot T, et al. Glutathione S-Transferase variants in a Brazilian population. Pharmacology, 2009, 83:231–236.
21. Marchand L.L., Wilkinson G.R., Wilkens L.R. Genetic and dietary predictors of CYP2E1 activity: a phenotyping study in Hawaii Japanese using chlorzoxa zone. Cancer Epidemiol. Biomar kers Prev. 1999.8, 6: 495-500.
22. McLellan RA., Oscarson M., Alexandrie AK. et al. Characterization of a human glutathione S-transferase mu cluster containing a duplicated GSTM1 gene that causes ultrarapid enzyme activity. Mol Pharmacol. 1997; 52:958-965.
23. Nafissi S., Saadat I., Saadat M. Genetics polymorphism of glutation-S-transferaze Z1 in Iranian population.Mol Biol Rep, 2011, 38:3391-3394.
24. Niemela O., Parkkila S., Juvonen R.O. et al. Cytochromes P450 2A6, 2E1, and 3A and production of protein -aldehyde adducts in the liver of patients with alcoholic and non-alcoholic liver diseases. J.Hepatol. 2000. 6– 893-901
25. Ohnishi T., Ogawa Y., Saibara T. et al. CYP17 polymorphism as risk factor of tamoxifeninduced hepatic steatosis in brest cancer patients. Oncol. Rep. 2005. 13, 3: 485-489
26. Okada R, Ishizu Y, Endo R, et al. Direct and rapid genotyping of glutathione-S-transferase M1 and T1from human blood specimens using the SmartAmp2 method.Drug Metab Dispos, 2010,38, 10:1636-1639.

27. Park WB[1], Kim W, Lee KL, Yim JJ, Kim M, Jung YJ, Kim NJ, Kim DH, Kim YJ, Yoon JH, Oh MD, Lee HS.Antituberculosis drug-induced liver injury in chronic hepatitis and cirrhosis. J Infect. 2010,61,4:323-329.
28. Pearson WR, Vorachek WR, Xu SJ, Berger R. et al. Identification of class-mu glutathione transferase genes GSTM1-GSTM5 on human chromosome 1p13. Am J Hum Genet.1993.53:220-233.
29. Piacentini S., Polimanti R., Porreca F. GSTT1 and GSTM1 gene polymorphisms in European and African populations. Mol Biol Rep. 2011, 38:1225–1230.
30. Rafiee L., Saadat I., Saadat M. Glutathione S-transferase polymorphisms (GSTM1, GSTT1 and GSTO2) in three Iranian population. Mol Biol Rep, 2010, 37, 155-158.
31. Roy B., Chowdhury A., Kundu S. et al. Increased risk of antituberculosis drug induced hepatotoxicity in individuals with glutathione Stransferase M1 'null' mutation. J. Gastroenterol. Hepatol. 2001. 16, 9: 1033-1037.
32. Santovito A., Cervella P et al., Analysis of glutathione S-transferase M1 and glutathione S-transferase T1 gene polymorphisms suggests age-related relationships in a northern Italian population 2008. Arch Toxicol. 82:903-907.
33. Seidegård J, Vorachek WR, Pero RW, Pearson WR. Hereditary differences in the expression of the human glutathione transferase active on trans-stilbene oxide are due to a gene deletion. Proc Natl Acad Sci U S A. 1988 . 85:7293-7297.
34. Sheikhha M. H., Kalantar M., Tobal K., John A. Yin L. Glutathione S transferases Null Genotype in Acute Myeloid Leukaemia. IJI 2005, 3:141-151.
35. Simon T., Becquemont L., MaryKrause M. et al. Combined glutathioneStransferase M1 and T1 genetic poly morphism and tacrine hepatotoxicity. Clin.Pharmacol.Ther. 2000. 67, 4: 432-437. 23.
36. Unal M., Guven M et al., Glutathione S transferase M1 and T1 genetic polymorphisms are related to the risk of primary open-angle glaucoma: a study in Turkish population. Br J Ophthalmol. 2007, 91:527-530.
37. Vettriselvi V.,Vijayalakshmi K., Solomon F., et al.Genetics variation of GSTM1, GSTT1 and GSTP1genes in a Sout Indian population. APJCP, 2006, 7:325-328.
38. Vorachek WR, Pearson WR, Rule GS. Cloning, expression, and characterization of a class-mu glutathione transferase from human muscle, the product of the GST4 locus. Proc Natl Acad Sci U S A. 1991; 188:4443-4447.

39. Wang J.,Zou L., Huang S., et al. Genetics polymorphism of glutation-S-transferaze genes GSTM1and GSTT1 and risk coronary heart disease. Mutagenesis, 2010, 25:365-369.
40. Watanabe I., Tomita A., Shimizu M. et al. A study to survey susceptible genetic factors responsible for troglitazone associated hepatotoxicity in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus. Clin. Pharmacol. Ther. 2003. 73, 5: 435-455.
41. Watkins P, Desai M, Berkowitz S, Peters G, Horsmans Y, Larrey D, Maddrey W.Evaluation of drug-induced serious hepatotoxicity (eDISH): application of this data organization approach to phase III clinical trials of rivaroxaban after total hip or knee replacement surgery. Drug Saf. 2011, 34, 3:243-252.
42. WHO, Global tuberculosis report (Geneva, Switzerland: World Health Organization) 2014 (accessed on June 29, 2015).
43. Widersten M, Holmströ E, Mannervik B. Cysteine residues are not essential for the catalytic activity of human class Mu glutathione transferase M1a-1a. FEBS Lett; 1991; 293:156-159.
44. Wong J.Y., Seah E.S., Lee E.J. Pharma cogenetics: the molecular genetics of CYP2D6 dependent drug metabolism. Ann. Acad. Med. Singapore.2000. 29, 3: 401-406.
45. Wu W, Peden D, Diaz-Sanchez D. Role of GSTM1 in resistance to lung inflammation Free Radic Biol Med, 2012, 53:721-729.
46. Xu S, Wang Y, Roe B, Pearson WR Characterization of the human class Mu glutathione S-transferase gene cluster and the GSTM1 deletion. J Biol Chem, 1998, 273:3517-3527.
47. Yu M.W., GladekYarborough A., Chiamprasert S., et al. Cytochrome P450 2E1 and glutathione Stransferase M1 polymorphisms and susceptibility to hepatocellular carcinoma. Gastro enterology. 1995. 109, 4:126-612.
48. Бабак О.Я. Хронические гепатиты. – К.: Издательство Блиц-Информ, 1999. 208 с.
49. Баранов В.С., Баранова Е.В., Иващенко Т.Э., Асеев М.В. Геном человека и гены "предрасположенности" (введение в предиктивную медицину).– СПб.: Интермедика, 2000. 272с.
50. Виноградова С.В. Роль полиморфизма генов цитокинов в развитии заболеваний печени. Сучасна гастроентерологія.2004. 5: 15-18.
51. Корытина Г.Ф., Янбаева Д.Г., Бабенкова Л.И., Викторова Т.В. Ассоциация полиморфных вариантов в генах биотрансформации ксеноби. Корытина отиков с тяжестью легочной патоло гии у больных муковисцедозом. Мед. генетика. 2003. 5: 227-232.

52. Кравченко Н.О., Виноградова С.В Значення генетичних факторів у розвитку і прогресуванні стеатозу печінки. Сучасна гастроенте рол. 2004. 4:107-114.
53. Пентюк О.О., Качула С.О., Герич О.Х. Цитохром Р4502Е1. Поліморфізм, фізіологічні функції, регуляція, роль у патології. Укр. біохім. журн. 2004. 76, 5:16-28.
54. Фадеенко Г.Д., Кравченко Н.А., Виноградова С.В. Патофизиологические и молекулярные механизмы развития стеатоза и стеатогепатита. Сучасна гастроентерологія. 2005. 3: 88-95.