

**ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОСЛЕДСТВИЯ  
СОЧЕТАННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ОПИСТОРХОЗА  
И КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА В СВЯЗИ  
С ПОЛИМОРФИЗМОМ ПО ГЕНАМ  
ГЛУТАТИОН-S-ТРАНСФЕРАЗЫ**

**Ильинских Н. Н.**<sup>1,2</sup>,  
доктор биологических наук,  
профессор кафедры биологии и генетики,  
профессор кафедры экологии, природопользования  
и экологической инженерии,  
nauka-tomsk@yandex.ru

**Ильинских Е. Н.**<sup>1,2</sup>,  
доктор медицинских наук,  
профессор кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии,  
профессор кафедры экологии, природопользования  
и экологической инженерии,  
infconf2009@mail.ru

**Филатова Е. Н.**<sup>1</sup>,  
аспирант кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии,  
synamber@mail.ru

**Аннотация**

Цель: изучение длительности сохранения цитогенетических последствий весенне-летнего клещевого энцефалита (КЭ) у лиц, инвазированных гельминтом *Opisthorchis felineus* (OF), различающихся по аллелям генов ферментов глутатион-S-трансферазы.

Методы: объектом исследования являлись больные весенне-летним клещевым энцефалитом, у которых в лимфоцитах регистрировали наличие микроядер. Все обследованные были подразделены на больных КЭ, не инвазированных OF и больных КЭ с инвазией OF. При анализе генов GSTM1 и GSTT1 использовали мультиплексную ПЦР.

---

<sup>1</sup> Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет» Минобрнауки России (634050, г. Томск, пр. Ленина, д. 36)

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (634050, г. Томск, Московский тракт, д. 2)

Результаты: пациенты с КЭ, инвазированные ОФ, имели значимо меньше увеличений уровня цитогенетических нарушений, чем больные КЭ без гельминтной инвазии; при этом восстановление цитогенетической нормы у этой группы не отмечено и о какой-либо связи частоты лимфоцитов с микроядрами с носительством различных вариантов генов фермента глутатион-S-трансферазы не зарегистрировано.

Заключение: цитогенетические изменения у больных КЭ, инвазированных ОФ, выражены значимо в меньшей степени, чем у пациентов с КЭ без инвазии ОФ. Полиморфизм по генам фермента глутатион-S-трансферазы не оказывает существенного влияния на цитогенетические последствия у пациентов КЭ с инвазией ОФ.

**Ключевые слова:** микроядра, клещевой энцефалит, описторхоз, GSTM1, GSTT1.

## CYTOGENETIC CONSEQUENCES OF THE MIXED EFFECTS OF OPISTORCHIASIS AND TICK-BORNED ENCEPHALITIS IN ASSOCIATION WITH POLYMORPHISM BY GLUTATHIONE-S-TRANSFERASE GENES

Ilyinskikh N. N.<sup>1,2</sup>,

Doctor of Biological Sciences,  
Professor of Biology and Genetics, Professor of Department of Ecology,  
Nature Management and Environmental Engineering,  
nauka-tomsk@yandex.ru

Ilyinskikh E. N.<sup>1,2</sup>,

Doctor of Medical Sciences,  
Professor of Infectious Diseases and Epidemiology,  
Professor of Department of Ecology, Nature Management  
and Environmental Engineering,  
infconf2009@mail.ru

Filatova E. N.<sup>1</sup>,

Postgraduate Student of Department  
of Infectious Diseases and Epidemiology,  
synumber@mail.ru

---

<sup>1</sup> National Research Tomsk State University (36, Lenin Ave., Tomsk, 634050, Russia)

<sup>2</sup> Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Siberian State Medical University" of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation (2, Moscow Tract, Tomsk, 634050, Russia)

**Abstract**

**Purpose:** to study the duration of the preservation of the cytogenetic effects of tick-borne encephalitis (TBE) in individuals infected with the *Opisthorchis felineus* (OF) helminth, which differ in alleles of the glutathione-S-transferase enzyme genes.

**Methods:** the objects of the study were patients with tick-borne encephalitis in whom the frequencies of micronucleated lymphocytes were detected. All examined patients were subdivided into two groups: TBE patients non-infected with OF, and TBE patients infected with OF. Multiplex PCR was used to analyze the GSTM1 and GSTT1 genes.

**Results:** patients with TBE, infected with OF, had a significantly lower increase in the level of cytogenetic disorders than patients with TBE without OF infection; at the same time, the restoration of the cytogenetic norm in this group was not reached, and there was no association between the frequency of micronucleated lymphocytes and different variants of the glutathione-S-transferase enzyme genes.

**Conclusion:** the frequency of cytogenetic changes in TBE patients infected with OF are significantly less than one in patients with TBE without OF infection. Polymorphism in the genes of the enzyme glutathione-S-transferase does not have significant effect on the cytogenetic disorders in patients with TBE with OF infection.

**Keywords:** micronucleus, tick-borne encephalitis, opisthorchiasis, GSTM1, GSTT1.

**Введение.** Имеются данные, свидетельствующие о том, что исход вирусной инфекции может измениться на фоне гельминтных инвазий [1]. Западная Сибирь в районе Обь-Иртышского речного бассейна представляет собой гигантский природный очаг описторхоза. В то же время, этот регион характеризуется высокой степенью пораженности населения клещевым энцефалитом (КЭ). Ранее нами было показано, что инфекции, вызванные вирусом КЭ, индуцируют у больного и переболевшего повышенный уровень цитогенетически аберрантных клеток, при этом цитогенетические последствия зависят от наличия у пациента активно функционирующих генов глутатион-S-трансферазы [2].

Настоящее исследование поставлено с целью изучения длительности сохранения цитогенетических последствий весенне-летнего клещевого энцефалита у лиц, инвазированных гельминтом *Opisthorchis felineus* (OF), различающихся по аллелям генов ферментов глутатион-S-трансферазы.

**Материалы и методы.** В исследование были включены 74 больных клещевым энцефалитом (КЭ), не инвазированных *O. felineus* (OF), 103 больных КЭ без инвазии OF, 78 больных описторхозом и 75 здоровых доноров (ЗД). Группа ЗД сформирована из доноров станции

переливания крови (г. Томск). Цитогенетическое обследование проведено с использованием микроядерного анализа в цитокинез-блокированных лимфоцитах периферической крови [3]. Диагноз КЭ был поставлен с помощью метода иммуноферментного анализа (ИФА) на антиген вируса КЭ и антитела к вирусу КЭ. Диагноз описторхозная инвазия был подтвержден после дуоденального зондирования и микроскопического обнаружения в желчи яиц гельминта.

С помощью мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР) проведен анализ аллелей генов *GSTM1* и *GSTT1* [1]. Выделение ДНК для ПЦР проводили из ядродержащих клеток крови. Мутантный генотип *GSTM1*(0/0) или *GSTT1*(0/0) означает отсутствие на электрофореграмме фрагмента и данный индивидуум гомозиготен по делеции, что резко снижает активность фермента.

Статистическую обработку осуществляли с использованием пакета статистических программ Statistica v.10. Различия сравниваемых результатов ( $X \pm m$ , где  $X$  – выборочное среднее арифметическое,  $m$  – ошибка среднего арифметического) считались достоверными при достигнутом уровне значимости  $P < 0,05$ .

**Результаты исследований.** Анализ представленных данных свидетельствует, что у здоровых доноров частота клеток с микроядрами колеблется от  $0,26 \pm 0,05\%$  у носителей генов *GSTM1* (0/0)/*GSTT1*(0/0) до  $0,15 \pm 0,06\%$  у носителей генов *GSTM1*(+)/*GSTT1*(+). Во всех случаях наблюдаемые колебания показателей были не значимы ( $P > 0,05$ ). То же возможно сказать и о больных инвазированных *O. felineus*. Соответственно  $1,48 \pm 0,06$  и  $0,87 \pm 0,05$  ( $P > 0,05$ ). Тем не менее у больных описторхозом по сравнению со ЗД наблюдается значимое повышение регистрируемого показателя. В подгруппе с неактивными формами гомозиготных генотипов *GSTM1*(0/0)/*GSTT1*(0/0) число цитогенетически аномальных лимфоцитов у больных описторхозом по сравнению с наблюдаемым у ЗД возросло в 5,7 раза ( $P < 0,01$ ). В других подгруппах отмечены сопоставимые изменения (во всех случаях  $P < 0,01$ ).

Результаты исследований свидетельствуют о существенных цитогенетических изменениях у больных КЭ. Частота клеток с цитогенетическими нарушениями в первые дни болезни и в последующие была существенно выше у носителей неактивных форм гена *GSTM1*(0/0),

чем у лиц с генотипом GSTM1(+)/GSTT1(+). Такая закономерность прослеживалась на протяжении всего времени наблюдения (во всех случаях  $P < 0,01$ ). Иные закономерности отмечены у больных КЭ с инвазией ОФ. Повышение числа клеток с цитогенетическими аномалиями происходило не столь значительно, чем у больных КЭ без инвазии ОФ. Если у больных КЭ без инвазии ОФ носителей мутантных генов GSTM1 (0/0)/GSTT1(0/0) частота клеток с цитогенетическими нарушениями в первые дни болезни у больных КЭ с инвазией ОФ составило  $18,0 \pm 0,21\%$ , то у больных КЭ без ОФ  $10,11 \pm 0,34\%$  ( $P < 0,01$ ).

Интересно отметить, что цитогенетические аномалии в исследовании свидетельствующих о том, что в процессе жизнедеятельности трематод в организме человека они активно синтезируют глутатион-S-трансферазы, фермент представлен множественными изоформами, при этом эти изоформы фермента активно экскретируются, что возможно оказывает влияние на процессы детоксикации в организме хозяина и снижению эффектов оксидативного стресса наблюдаемого при КЭ [10], что, в свою очередь, влияет на цитогенетические последствия КЭ.

**Заключение.** Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что у больных КЭ с инвазией ОФ уровень цитогенетических нарушений значимо ниже; наличие в генотипе больного тех или иных вариантов генов GSTM1 и GSTT1 не оказывает существенного влияния на частоту лимфоцитов крови с микроядрами в сравнении с теми показателями, которые отмечаются у больных КЭ без ОФ.

#### Литература

1. *Graham A.L.* Ecological rules governing helminth-microparasite coinfection // Proc Natl Acad Sci USA. 2008. 105(2). P. 566-570.
2. *Ананьева О.В., Ильинских Н.Н., Ильинских Е.Н., Замятина Е.В., Дуров А.М.* Изучение частоты микроядер в эпителиоцитах и лимфоцитах в зависимости от полиморфизма генов глутатион-S-трансферазы у больных клещевым энцефалитом // Морфология. 2018. Т. 154. № 6. С. 7-11.
3. *Ильинских Н.Н., Васильев С.А., Кравцов В.Ю.* Микроядерный тест в скрининге и мониторинге мутагенов. Saarbrücken (Deutschland). LAP LAMBERT Academic Publishing GmbH&Co.KG. 2011. 216 с.
4. *Смирнов Л.П., Борвинская Е.В., Кочнева Е.А., Суховская И.В.* Глутатион-S-трансферазы у гельминтов // Труды Карельского научного центра РАН. 2015. № 11. С. 3-14.

---

### References

1. Graham A.L. Ecological rules governing helminth-microparasite coinfection. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008;105(2): 566-570.
2. Ananyeva O.V., Ilyinskikh N.N., Ilyinskikh E.N., Zamyatina E.V., Durov A.M. Study of the frequency of micronuclei in epithelial cells and lymphocytes depending on the polymorphism of glutathione-S-transferase genes in patients with tick-borne encephalitis. *Morphology*. 2018; 154(6): 7-11. (In Russ.)
3. Ilyinskikh N.N., Vasiliev S.A., Kravtsov V.Yu. Micronucleus test in screening and monitoring of mutagens. Saarbrücken (Deutschland). *LAP LAMBERT Academic Publishing GmbH&Co.KG*. 2011; 216. (In Russ.)
4. Smirnov L.P., Borvinskaya E.V., Kochneva E.A., Sukhovskaya I.V. Glutathione-S-transferase in helminths. *Proceedings of the Karelian Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*. 2015; 11: 3-14. (In Russ.)