

О. В. Ананьева¹, Н. Н. Ильинских^{2, 3}, Е. Н. Ильинских^{2, 3}, Е. В. Замятина³, А. М. Дуров^{4, 5}

ИЗУЧЕНИЕ ЧАСТОТЫ МИКРОЯДЕР В ЭПИТЕЛИОЦИТАХ И ЛИМФОЦИТАХ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ГЛУТАТИОН-S-ТРАНСФЕРАЗЫ У БОЛЬНЫХ КЛЕЩЕВЫМ ЭНЦЕФАЛИТОМ

¹ Кафедра клинической лабораторной диагностики (зав. — проф. С. Н. Суплотов), ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава России; ² кафедра экологии, природопользования и экологической инженерии (зав. — проф. А. М. Адам), Национальный исследовательский Томский государственный университет; ³ кафедра биологии и генетики (зав. — проф. Н. Н. Ильинских), ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Томск; ⁴ кафедра управления физической культурой и спортом (зав. — канд. биол. наук Л. Н. Шатилович), Институт физической культуры, ФГАОУ ВО «Тюменский государственный университет»; ⁵ кафедра биологии (зав. — проф. С. В. Соловьева), ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава России

Цель — изучение изменений частоты лимфоцитов в периферической крови и клеток буккального эпителия с микроядрами у больных клещевым энцефалитом (КЭ) на протяжении острого и реконвалесцентного периодов болезни в зависимости от вариантов генов глутатион-S-трансферазы (*GSTM1* или *GSTT1*) в генотипе больного.

Материал и методы. Обследованы 54 больных КЭ и 35 здоровых лиц (контроль) из Томской и Тюменской областей с использованием клиничко-лабораторных и цитогенетических методик — микроядерного анализа в клетках буккального эпителия и в двухъядерных цитокинез-блокированных лимфоцитах в периферической крови. Материал для исследования — периферическая кровь и мазки клеток буккального эпителия — были получены в динамике при госпитализации, а также через 1 нед, 1, 3 и 6 мес. Для анализа аллелей генов *GSTM1* и *GSTT1* использовали полимеразную цепную реакцию.

Результаты. Выявлено существенное повышение частоты клеток с микроядрами у больных КЭ по сравнению с контролем. Наиболее значительное и длительное повышение частоты клеток с микроядрами было связано с мутантными неактивными аллелями генов *GSTM1*(0/0) и *GSTT1*(0/0).

Вывод. В случае носительства у больного КЭ мутантных неактивных аллелей генов *GSTM1*(0/0) и *GSTT1*(0/0) цитогенетическая нестабильность Т-лимфоцитов в периферической крови сохраняется на протяжении полугода.

Ключевые слова: буккальный эпителий, цитокинез-блокированные лимфоциты, глутатион-S-трансфераза, микроядерный анализ, клещевой энцефалит

Нами впервые было установлено, что вирус клещевого энцефалита (КЭ) в условиях *in vitro*, а также у больных людей *in vivo* способен индуцировать значительное увеличение числа Т-лимфоцитов с абберациями в числе и структуре хромосом [4, 8]. Известно, что в результате иммунного ответа при различных инфекционных заболеваниях, включая КЭ, клетки иммунной системы активно продуцируют реактивные формы кислорода и азота, которые могут повреждать ДНК и индуцировать генные и хро-

мосомные мутации [2, 12]. Поэтому можно предположить, что повышение частоты цитогенетических нарушений у больных КЭ связано с оксидативным стрессом, который приводит к повреждению хромосом в различных соматических клетках. Однако анализ цитогенетических нарушений в других типах клеток, кроме иммунокомпетентных (например эпителиальных), у больных КЭ ещё не проводился.

Глутатион-S-трансферазы способствуют защите организма от широкого круга химиче-

Сведения об авторах:

Ананьева Ольга Васильевна (e-mail: olvasan@mail.ru), кафедра клинической лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава России, 625023, г. Тюмень, ул. Одесская, 54

Ильинских Николай Николаевич (e-mail: nauka-tomsk@yandex.ru), Ильинских Екатерина Николаевна, кафедра экологии, природопользования и экологической инженерии, Национальный исследовательский Томский государственный университет, 634009, г. Томск, пр. Ленина, 36

Замятина Евгения Владимировна (e-mail: infconf2009@mail.ru), кафедра биологии и генетики, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

Дуров Алексей Михайлович (e-mail: amdurov@mail.ru), кафедра управления физической культурой и спортом, Институт физической культуры, ФГАОУ ВО «Тюменский государственный университет», 625003, г. Тюмень ул. Володарского, 6

ских соединений, включая реактивные формы кислорода и другие потенциальные мутагены. Имеются исследования, свидетельствующие о связи между тяжестью инфекционного заболевания и наличием у больного мутантных аллелей генов ферментов глутатион-S-трансфераз [7, 9]. Установлено, что носительство мутантных неактивных вариантов генов *GSTM1* и *GSTT1* часто сопровождается цитогенетической нестабильностью и повышенной чувствительностью хромосомного аппарата человека к различным мутагенным факторам [9, 10].

Цель исследования заключалась в оценке изменений частоты лимфоцитов в периферической крови и клеток буккального эпителия с микроядрами у больных КЭ на протяжении острого и реконвалесцентного периодов болезни в зависимости от вариантов генов глутатион-S-трансферазы (*GSTM1* или *GSTT1*) в генотипе больного.

Материал и методы. В исследование были включены 54 больных КЭ [возраст (38,3±4,3) года] и 35 здоровых лиц [возраст (36,9±3,7) года], сопоставимых по возрасту и полу, проживающих в г. Томске, а также в Томской и Тюменской областях. Их обследование проводилось с использованием рутинных клинико-лабораторных и цитогенетических методов — микроядерного анализа в клетках буккального эпителия и двухъядерных цитокинез-блокированных лимфоцитах в периферической крови [5]. Диагноз КЭ был поставлен на основании клинико-эпидемиологических данных, включающих сведения об укусах клещей, и подтвержден с помощью метода иммуноферментного анализа (ИФА) на антиген вируса КЭ, а также на иммуноглобулины классов М и G к этому вирусу (Вектор-Бест, Россия). С использованием ИФА иммуноглобулинов классов М и G к боррелиям иксодового клещевого боррелиоза (Вектор-Бест, Россия) у всех больных было исключено это заболевание. Обследование больных проводилось на базе клиники инфекционных болезней Сибирского государственного медицинского университета, а также на базах районных медицинских учреждений Томской и Тюменской областей.

Исследование было одобрено этическим комитетом Сибирского государственного медицинского университета Минздрава РФ (протокол № 56 от 19.10.2015 г.), проводилось в соответствии с правилами «О порядке проведения биомедицинских исследований у человека» (2002 г.) и «Правилами клинической практики в РФ» (приказ Минздрава РФ № 266 от 19.06.2003 г.). Больные до госпитализации не получали лекарственной терапии и не подвергались рентгенологическим методам обследования. Все обследованные лица подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании и получение от них биологического материала (проб крови и буккального эпителия).

Материал для исследования (периферическая кровь для получения культур Т-лимфоцитов и мазки клеток буккального эпителия) был получен в динамике при госпитализации в стационар, а также спустя 1 нед, 1, 3 и 6 мес в острый и реконвалесцентный периоды болезни. У всех обследованных лиц был проведен цитогенетический анализ частоты

клеток буккального эпителия с микроядрами в препаратах, окрашенных по Романовскому—Гимза. У каждого обследованного было проанализировано не менее 1000 буккальных клеток. Метод приготовления мазков клеток буккального эпителия, а также методика анализа изложены нами ранее [3]. Культивирование ФГА-стимулированных двухъядерных цитокинез-блокированных Т-лимфоцитов в периферической крови человека с целью получения клеточных суспензий проводили согласно общепринятой методике и рекомендациям [5, 6]. В качестве питательной среды для роста лимфоцитов в периферической крови использовалась питательная среда RPMI-1640 (Sigma-Aldrich, США) с добавлением 10 % эмбриональной телячьей сыворотки (Sigma-Aldrich, США). Для стимулирования деления клеток использовали фитогемагглютинин (10 мкг/мл) (ПанЭко, Россия). После 44 ч культивирования в культуру клеток добавляли цитокинез-блокирующий агент цитохалазин В (Sigma-Aldrich, США) до конечной концентрации 5 мкг/мл. Фиксацию клеток в смеси метанола и уксусной кислоты (3:1) и приготовление препаратов начинали через 72 ч после начала культивирования. Препараты окрашивали по Романовскому—Гимза и анализировали не менее 1000 бинуклеарных лимфоцитов с помощью микроскопа PrimoStar (Carl Zeiss, Германия).

Для анализа аллелей генов *GSTM1* или *GSTT1* использовали мультиплексную полимеразную цепную реакцию (ПЦР) с помощью ДНК амплификатора «Терцик» (НПО «ДНК-технология», Россия) [1]. Выделение ДНК для ПЦР проводили из эпителиальных клеток ротовой полости человека. В амплификационную пробу вносили две пары праймеров, что давало возможность одновременно амплифицировать фрагменты каждого из указанных генов. Разделение продуктов амплификации и рестрикции ампликонов проводили в горизонтальном 3 % агарозном геле с применением камеры для горизонтального электрофореза ЕС 12–13 (Биоком, Россия). Знак «+» означает присутствие ПЦР-продуктов, и данный донор может быть либо гетерозиготен *GSTM1* (+/0) и *GSTT1*(+/0), либо гомозиготен *GSTM1* (+/+) и *GSTT1*(+/+) по нормальному активному аллелю. Мутантный генотип *GSTM1*(0/0) или *GSTT1*(0/0) означает отсутствие на электрофореграмме фрагмента, и данный индивидум гомозиготен по делеции, что приводит к резкому снижению активности фермента.

Статистическую обработку осуществляли с использованием пакета статистических программ Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). Частоты гаплотипов рассчитывали с помощью программы The EH Software Program (Rockefeller University, США). Все количественные показатели исследования обрабатывали с применением однофакторного дисперсионного анализа ANOVA и t-критерия Стьюдента для зависимых выборок, поскольку тестирование закона распределения при помощи критерия Колмогорова—Смирнова не выявило отличий от нормального. Различия сравниваемых результатов ($X \pm m$, где X — выборочное среднее арифметическое, m — ошибка среднего арифметического) считались значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования. Результаты показали существенное повышение частоты как клеток буккального эпителия с микроядрами, так и бинуклеарных цитокинез-блокированных Т-лимфоцитов в периферической

Частота клеток с микроядрами в мазках буккального эпителия и культурах цитокинез-блокированных Т-лимфоцитов в периферической крови (%) у больных клещевым энцефалитом

Тип клеток	Обследуемые группы	Генотипы с неактивными (0) аллелями генов, <i>GSTM1</i> (0/0)/ <i>GSTT1</i> (0/0)	Генотипы с активными (+) или неактивными (0) аллелями генов, <i>GSTM1</i> (0/0)/ <i>GSTT1</i> (+)	Генотипы с активными (+) или неактивными (0) аллелями генов, <i>GSTM1</i> (+)/ <i>GSTT1</i> (0/0)	Генотипы с активными (+) аллелями генов, <i>GSTM1</i> (+)/ <i>GSTT1</i> (+)
Буккальные клетки	Здоровые доноры (контроль)	0,26±0,05 n=8	0,40±0,08 n=9	0,31±0,04 n=7	0,19±0,06 n=11
	Больные при поступлении	5,11±0,18*** [#] n=12	3,34±0,16*** [#] n=14	2,59±0,16*** [#] n=13	2,08±0,19** n=15
	Через 1 нед	1,69±0,16*** [#] n=10	1,82±0,23*** [#] n=12	0,79±0,09** n=11	0,71±0,20** n=12
	Через 1 мес	0,69±0,05*** [#] n=10	0,59±0,06 [#] n=14	0,40±0,10 n=10	0,21±0,04 n=13
	Через 3 мес	0,41±0,08 n=10	0,55±0,10 [#] n=12	0,32±0,05 n=10	0,19±0,08 n=11
	Через 6 мес	0,38±0,03 n=8	0,36±0,04 n=11	0,32±0,04 n=11	0,21±0,06 n=10
Цитокинез-блокированные Т-лимфоциты в периферической крови	Здоровые доноры	0,36±0,05 n=7	0,34±0,06 n=9	0,42±0,11 n=7	0,24±0,06 n=11
	Больные при поступлении	8,08±0,21*** [#] n=12	6,44±0,40*** [#] n=14	3,01±0,13** n=13	2,92±0,11** n=15
	Через 1 нед	6,32±0,43*** [#] n=10	4,56±0,18*** [#] n=12	2,86±0,19** n=11	2,54±0,14** n=12
	Через 1 мес	3,22±0,18*** [#] n=10	2,52±0,21** n=14	2,08±0,15** n=10	2,03±0,12** n=13
	Через 3 мес	0,99±0,05*** [#] n=10	0,90±0,05*** [#] n=12	0,81±0,05** n=10	0,70±0,05** n=11
	Через 6 мес	0,41±0,04 [#] n=8	0,27±0,07 n=11	0,32±0,04 n=11	0,21±0,05 n=10

Примечание. Значимые отличия частоты клеток с микроядрами отмечены одним символом при $p<0,05$ и двумя символами при $p<0,01$; * группы больных КЭ от контроля; [#] группы больных КЭ с генотипами *GSTM1* (0/0)/*GSTT1* (0/0), *GSTM1* (0/0)/*GSTT1* (+) или *GSTM1* (+)/*GSTT1* (0/0) от группы больных КЭ с активными вариантами обоих генов *GSTM1* (+)/*GSTT1* (+); n — число обследованных людей в группе.

крови с микроядрами у больных КЭ по сравнению с контролем (таблица).

Наибольшее повышение частоты клеток с микроядрами было установлено у больных — носителей мутантных аллелей генов *GSTM1*(0/0) и *GSTT1*(0/0) по сравнению с группой больных, имевших активные варианты этих генов *GSTM1*(+) и *GSTT1*(+). Например, при поступлении в стационар частота буккальных клеток с микроядрами в группе больных КЭ, являвшихся носителями нулевых аллелей генов *GSTM1*(0/0) и *GSTT1*(0/0), была значимо выше — 5,11±0,18 %, чем в группе больных с активными вариантами этих генов *GSTM1*(+)/*GSTT1*(+) — 2,08±0,09 % ($p<0,001$). Частота цитокинез-блокированных Т-лимфоцитов в периферической крови у больных КЭ, имевших в своем генотипе мутантные неактивные аллели — 8,08±0,21 %, также была существенно

выше, чем в группе больных с нормальными аллелями этих генов *GSTM1*(+) и *GSTT1*(+) — 2,92±0,11 %, $p<0,001$.

Аналогичные результаты были получены при сравнении частоты клеток с микроядрами в буккальных клетках и лимфоцитах между группами больных КЭ, имевших сочетание неактивной формы гена *GSTM1*(0/0) и активного аллеля гена *GSTT1*(+), и группами больных с активными вариантами обоих генов *GSTM1*(+)/*GSTT1*(+) ($p<0,001$). Вместе с тем, значимых отличий частоты эпителиальных и иммунокомпетентных клеток с микроядрами между группами больных КЭ с генотипами *GSTM1*(+)/*GSTT1*(0/0) и *GSTM1*(+)/*GSTT1*(+) обнаружено не было ($p>0,05$).

Через 1 нед после курса терапии у больных КЭ было установлено существенное снижение частоты буккальных и лимфоцитарных клеток с микро-

ядрами для всех четырех вариантов генотипов ($p < 0,001$). Однако значение этих показателей оставалось существенно выше, чем в группе здоровых лиц. В группе больных КЭ, имеющих неактивные варианты обоих генов *GSTM1*(0/0) и *GSTT1*(0/0), частота клеток буккального эпителия с микроядрами только через 3 мес после курса лечения значимо не отличалась от соответствующих показателей в контроле. А в группах больных КЭ, имеющих активную форму гена *GSTM1*(+), снижение уровня клеток с микроядрами до сопоставимого со значениями в контрольной группе было отмечено уже через 1 мес.

Несколько иной характер цитогенетических последствий отмечен в Т-лимфоцитах в периферической крови. В группах больных КЭ, имеющих четыре варианта генотипа, частота клеток цитокинез-блокированных лимфоцитов с микроядрами становилась достоверно неотличимой от соответствующих показателей в контроле только через 6 мес после курса лечения.

Обсуждение полученных данных. Известно, что в начальный период инфекционного процесса, в том числе при КЭ, клетки иммунной системы активно продуцируют реактивные формы кислорода (ROS) и азота (RNS), такие как супероксид-ион радикал, перекись водорода, а также оксид азота и пероксинитрит [11]. Установлено, что непропорционально высокая генерация этих высокореактивных соединений может повреждать клеточные макромолекулы, включая ДНК и ферменты [2, 11]. Таким образом, цитогенетические эффекты, которые обнаружены у больных КЭ, по-видимому, связаны с окислительным стрессом, вызванным внедрением инфекционного агента в организм [2]. Под влиянием реактивных форм кислорода в клетках происходит разрушение микротрубочек, что способствует аномальному расхождению хромосом в митозе и формированию микроядер в различных типах клеток, включая лимфоциты и буккальные клетки [6].

Известно, что группа ферментов глутатион-S-трансфераз, кодируемых генами *GSTM1* и *GSTT1*, выполняет роль антиоксидантов, приводящих к снижению числа клеток с цитогенетическими нарушениями. Поэтому мутации в этих генах, вызывающие их инактивацию, способствуют клинически более тяжелому течению инфекционных заболеваний [7, 9]. Активация продукции реактивных форм кислорода и азота при инфекционном процессе и воспалении способствует разрушению глутатиона, что, возможно, приводит к снижению протективной функции глутатион-

S-трансфераз при инфекционных заболеваниях, включая КЭ.

Таким образом, у больных КЭ установлено повышение частоты и длительное персистирование клеток с микроядрами как в буккальном эпителии полости рта, так в Т-лимфоцитах в периферической крови по сравнению с группой здоровых лиц. Наиболее существенное повышение этих показателей было выявлено у больных КЭ, в генотипе которых присутствовали неактивные мутантные варианты генов *GSTM1*(0/0) и *GSTT1*(0/0). У больных, перенесших КЭ, показано более длительное сохранение цитогенетической нестабильности на протяжении до полугода в Т-лимфоцитах в периферической крови по сравнению с буккальными клетками в полости рта, где частота клеток с микроядрами была сопоставима с соответствующими показателями в контрольной группе уже через 1–3 мес.

Источник финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке грантов РФФИ (№ 16-40-700149) и РГНФ (№ 06-15-10190).

Вклад авторов:

Концепция и дизайн исследования: И. О. А.

Статистическая обработка: А. М. Д.

Анализ полученных данных: Н. Н. И.

Написание и редактирование текста: Е. Н. И.

Сбор и обработка материала: Е. В. З.

Авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов в данной статье.

ЛИТЕРАТУРА

1. Григорьева С.А., Никитина В.А., Косякова Н.В., Кириллов А.В., Аксенова М.Г., Сидорова И.Е., Ревазова Л.А., Чеботарев А.Н., Бочков Н.П. Частота полиморфизма генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков *CYP1A1*, *GSTM1* и *GSTT1* у жителей города Москвы // Медицинская генетика. 2007. № 3. С. 38–43 [Grigorieva S.A., Nikitina V.A., Kosyakova N.V., Kirillov A.V., Aksenova M.G., Sidorova I.E., Revazova L.A., Chebotarev A.N., Bochkov N.P. Polymorphism frequencies of xenobiotic biotransformation enzymes genes *CYP1A1*, *GSTT1* and *GSTM1* in a population of Moscow // Medicinskaya genetika. 2007. Vol. 6, № 3. P. 38–43. In Russ.].
2. Захарычева Т.А., Ковальский Ю.Г., Лебедько О.А., Мжельская Т.В. Оксидативный стресс у больных клещевым энцефалитом на Дальнем Востоке Российской Федерации // Дальневост. журн. инфекц. патологии. 2012. Т. 20, № 8. С. 41–45 [Zharicheva T.A., Kovalskii Yu.G., Lebedko O.A., Mzhelskaya T.V. Oxidative stress in patients with tick-borne encephalitis in the Far East of the Russian Federation // Dalnevostochnii zhurnal infektsionnoy patologii. 2012. № 8. P. 41–45. In Russ.].
3. Ильинских Н.Н., Васильев С.А., Кравцов В.Ю. Микроядерный тест в скрининге и мониторинге мутагенов. Saarbrücken (Deutschland): LAP LAMBERT Academic Publishen. GmbH&Co.

- KG., 2011. 216 с. [Ilinskih N.N., Vasilyev S.A., Kravcov V.Yu. Micronucleus test in screening and monitoring of mutagens // Saarbrücken (Deutschland): LAP LAMBERT Academic Publishen. GmbH&Co.KG. 2011. 216 p. In Russ.].
4. Ильинских И.Н., Ильинских Е.Н., Новицкий В.В., Ильинских Н.Н., Ткаченко С.Б. Инфекционная кариопатология. Томск: Томский государственный университет, 2005. 168 с. [Ilinskih I.N., Novitskiy V.V., Ilinskih E.N., Ilinskih N.N., Tkachenko S.B. Infectious karyopathology // Tomsk: Tomsk State University. 2005. 168 p. In Russ.].
 5. Bolognesi C., Fenech M. Micronucleus assay in human cells: lymphocytes and buccal cells // *Methods Mol Biol.* 2013. Vol. 1044. P. 191–207. doi: 10.1007/978-1-62703-529-3_10
 6. Fenech M., Kirsch-Volders M., Natarajan A.T., Surralles J., Crott J.W., Parry J., Norppa H., Eastmond D.A., Tucker J.D., Thomas P. Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells // *Mutagenesis.* 2011. Vol. 26, № 1. P. 125–132. doi: 10.1093/mutage/geq052
 7. Fernandes R.C., Hasan M., Gupta H., Geetha K., Rai P.S., Hande M.H., D'Souza S.C., Adhikari P., Brand A., Satyamoorthy K. Host genetic variations in glutathione-S-transferases, superoxide dismutases and catalase genes influence susceptibility to malaria infection in an Indian population // *Mol. Genet. Genomics.* 2015. Vol. 290, № 3. P. 1155–1168. doi: 10.1007/s00438-014-0984-4
 8. Ilyinskikh N.N., Ilyinskikh I.N. Effects of virus of tick-borne encephalitis on the chromosome apparatus of human cells // *Cytology and Genetics.* 1976. Vol. 10, № 4. P. 331–333.
 9. Parsons M., Campa A., Lai S., Li Y., Martinez J.D., Murillo J., Greer P., Martinez S.S., Baum M.K. Effect of *GSTM1*-polymorphism on disease progression and oxidative stress in HIV infection: modulation by HIV/HCV co-infection and alcohol consumption // *J. AIDS Clin. Res.* 2013. Vol. 4, № 9. P. 248–252. doi: 10.4172/2155-6113.1000237
 10. Priya K., Yadav A., Kumar N., Gulati S., Aggarwal N., Gupta R. Glutathione S-transferase gene polymorphisms: modulator of genetic damage in gasoline pump workers // *Int. J. Toxicol.* 2015. Vol. 34, № 6. P. 500–504. doi: 10.1177/1091581815603935
 11. Saha S.K., Lee S.B., Won J., Choi H.Y., Kim K., Yang G.M., Dayem A.A., Cho S.G. Correlation between oxidative stress, nutrition, and cancer initiation // *Int. J. Mol. Sci.* 2017. Vol. 18, № 7. e1544. doi: 10.3390/ijms18071544

Поступила в редакцию 28.06.2017
Получена после доработки 14.02.2018

ANALYSIS OF MICRONUCLEI FREQUENCY IN EPITHELIAL CELLS AND LYMPHOCYTES AND ITS CORRELATION WITH GLUTATHIONE-S-TRANSFERASE GENE POLYMORPHISM IN PATIENTS WITH TICK-BORNE ENCEPHALITIS

O. V. Anan'eva¹, N. N. Ilyinskikh^{2,3}, E. N. Ilyinskikh^{2,3},
E. V. Zamyatina³, A. M. Durov^{4,5}

Objective — to study the changes in the frequency of micronucleated peripheral blood lymphocytes and buccal epithelial cells in patients with tick-borne encephalitis (TBE) during the acute and convalescent periods of the disease and their correlation with variants of glutathione-S-transferase (*GSTM1* or *GSTT1*) genes in the patient's genotype.

Material and methods. The study included 54 patients with TBE and 35 healthy (control) residents of the Tomsk and Tyumen regions. The enrolled participants were examined by clinical, laboratory and cytogenetic methods. The latter included micronucleus assay in buccal cells and peripheral blood cytokinesis-blocked lymphocytes. The material for the study (peripheral blood and buccal cell smears) was obtained repeatedly during the admission of patients to treatment, and after 1 week, 1, 3 and 6 months. The allele variants of the *GSTM1* and *GSTT1* genes were detected by polymerase chain reaction.

Results The study demonstrated a significant increase in the frequency of micronucleated cells in TBE patients compared with the control group. The most significant and the most prolonged increase in the frequency of micronucleated cells was associated with the mutant inactive alleles of the *GSTM1*(0/0) and *GSTT1*(0/0) genes.

Conclusion. If a TBE patient was a carrier of the mutant inactive alleles of *GSTM1*(0/0) and *GSTT1*(0/0) genes, the cytogenetic instability in T lymphocytes of the peripheral blood could persist for half a year.

Key words: buccal epithelium, cytokinesis-blocked lymphocytes, glutathione-S-transferase, micronucleus analysis, tick-borne encephalitis

¹ Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Tyumen State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, 54 Odesskaya St., Tyumen 625023; ² Department of Ecology, Environmental Sciences and Environmental Engineering, National Research Tomsk State University, 36 Lenin Avenue, Tomsk 634050; ³ Department of Biology and Genetics, Siberian State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, 2 Moscow tract, Tomsk 634050; ⁴ Department of Physical Culture and Sport, Institute of Physical Education, Tyumen State University, 6 Volodarskogo St., Tyumen 625003; ⁵ Department of Biology and Genetics, Tyumen State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, 54 Odesskaya St., Tyumen 625023