

## **Генетический маркер «сенситивность к фенилтиокарбамиду» и клинический полиморфизм ревматоидного артрита**

*Белорусский государственный медицинский университет*

Цель исследования – изучение ассоциаций некоторых клинических вариантов и типов течения РА с генетическим маркером «сенситивность к ФТК». Сенситивность к ФТК определялась по классической капельной методике с 14 разведениями (от 0 до 13). Пациенты рассматривались как нетестеры тогда, когда порог вкусовой чувствительности к ФТК был у них от 0 до 4 разведения. Тестирование проведено у 130 больных РА (105 женщин, 25 мужчин).

Ключевые слова: фенилтиокарбамид, ревматоидный артрит.

Генетические исследования вкусовых ощущений за последнее десятилетие значительно расширились и углубились [10]. Наиболее полно на сегодняшний день изучена вкусовая чувствительность человека к горьким веществам, а именно, к фенилтиокарбамиду (ФТК). Это вещество способно вызывать ощущение горького вкуса при нанесении его на корень языка. С момента первой публикации A.L. Fox о взаимосвязи «химической конституции» и вкусовой чувствительности к ФТК прошло более 75 лет [9]. С тех пор показано, что способность ощущать вкус ФТК является генетически обусловленным признаком, который ранжируется наравне с цветом глаз и группами крови [12].

В конце XX века были открыты гены, кодирующие вкусовые рецепторы горечи у человека, которые были обозначены T2R или Tas2R [6]. Ген вкусовой чувствительности к ФТК расположен на 7 хромосоме – 7q34 [7].

Аллели гена T2R кодируют, в большинстве популяций, две разновидности G-протеина, формирующего вкусовую чувствительность к ФТК. Эти 2 белка отличаются между собой аминокислотами в трех позициях белковой цепи. Протеин тестеров имеет в позициях 49, 262 и 269 пролин, аланин и валин соответственно, поэтому этот протеин обозначается как PAV. Протеин нетестеров имеет в указанных позициях другие аминокислоты (аланин, валин, изолейцин соответственно) и обозначается как AVI. Аллели, кодирующие эти белки, получили название PAV и AVI [7]. Они определяют бимодальное распределение порогов чувствительности к ФТК и классическую модель рецессивного наследования. Неощущающие вкус ФТК или нетестеры (ФТК –), являются гомозиготами по рецессивному аллелю t, т.е. tt, а ощущающие вкус ФТК или тестеры (ФТК+), могут быть гомозиготами по PAV-аллелю (TT) или гетерозиготами по PAV-и AVI-аллелям (Tt). Среди европеоидов около 70-75% людей ощущают резкий горький вкус ФТК, тогда как 25-30% считают это вещество безвкусным [10].

Использование вкусовой чувствительности к ФТК в качестве генетического маркера предрасположенности к различным заболеваниям берет свое начало с исследования Н. Harris et al. (1949). В этом исследовании авторы изучили распределение тестеров и нетестеров среди больных эутироидным зобом и сахарным диабетом [8]. В последующие годы эти данные были подтверждены [3].

Судя по литературным данным, генетический маркер «сенситивность к ФТК» оказывает также влияние на особенности клинической картины и характер течения

(патокинез) некоторых болезней. Так, в исследовании А.Ф. Маленченко и соавт. (2007) было установлено что у нетестеров трансформация узлового зоба в рак щитовидной железы происходит в 1,5 раз быстрее, чем у тестеров [3].

Е.И. Козорез и Е.Л. Красавцев (2005) отметили более благоприятное течение ВИЧ-инфекции у нетестеров, но более частое развитие у них кандидоза кишечника и инфекции, вызванной вирусом Эпштейн-Барр [2].

Е.И. Карпенко и А.В. Лобов (2002) наблюдали у нетестеров более частый переход острого вирусного гепатита в хронический, а также более тяжелое течение хронического гепатита – большую частоту обострений и более длительный желтушный период [1].

Эти и ряд других данных побудили нас исследовать связи клинического полиморфизма и патокинеза РА с генетической гетерогенностью по маркеру «сенситивность к ФТК».

Цель исследования – изучение ассоциаций некоторых клинических вариантов и типов течения РА с генетическим маркером «сенситивность к ФТК».

#### Материал и методы

Генетический маркер «сенситивность к ФТК» определен у 130 больных РА, белорусов по национальности. Из них 105 женщин в возрасте от 17 до 76 лет ( $46,2 \pm 1,1$  года) и 25 мужчин в возрасте от 22 до 67 лет ( $44,1 \pm 2,1$  года). Диагноз РА устанавливался в соответствии с критериями American College Rheumatology (ACR, 1987). Средняя длительность болезни на момент тестирования составила для женщин  $5,8 \pm 0,5$  года, а для мужчин  $5,0 \pm 1,0$  года. Основные показатели клинической характеристики больных представлены в таблице 1.

Таблица 1. Клиническая характеристика больных РА

Показатель	Диапазон	Женщины		Мужчины	
		Частота		Частота	
		абс.	отн., %	абс.	отн., %
Серологический вариант	серо (+)	73	69,5	12	48,0
	серо (-)	32	30,5	13	52,0
Активность процесса	0	0	0	0	0
	1	8	7,6	4	16,0
	2	60	57,2	9	36,0
	3	37	35,2	12	48,0
Рентгенологическая стадия	0	3	2,9	1	4,0
	1	37	35,2	6	24,0
	2	17	16,2	8	32,0
	3	32	30,5	6	24,0
	4	16	15,2	4	16,0
Функциональный класс	1	0	0	1	4,0
	2	26	24,8	6	24,0
	3	72	68,6	16	64,0
	4	7	6,7	2	8,0
Индекс прогрессирования	1	4	3,8	4	16,0
	2	40	38,1	9	40,0
	3	42	40,0	8	32,0
	4	19	18,1	4	16,0
Индекс повреждения	0	0	0	1	4,0
	1	66	62,9	13	52,0
	2	38	36,2	11	44,0
	3	1	0,9	0	0
Индекс тяжести DUSOI*	1	3	2,9	1	4,0
	2	53	50,4	13	52,0
	3	46	43,8	10	40,0
	4	3	2,9	1	4,0

\* DUSOI – the Duke Severity of Illness checklist.

Чувствительность к ФТК определялась по методике, описанной Ю.Г. Рычковым и соавт. (1979), согласно которой используется серия разведений насыщенного раствора в прогрессии 2,6\*2-н г/л. Всего 14 проб – от разведения «0» до разведения «13» [4].

Результаты и обсуждение

Иммунологический вариант РА и фенотипы ФТК. Частота встречаемости серологических вариантов РА (серопозитивный – РФ+ и серонегативный – РФ – ) среди тестеров и нетестеров в общей группе больных, а также отдельно у женщин и мужчин, представлена в таблице 2. В общей группе больных ревматоидный фактор в крови был выявлен 85 больных (65,4%).

Таблица 2. Распределение серологических вариантов РА среди тестеров и нетестеров

Группы больных РА	ФТК <sub>0-4</sub> (нетестеры)		ФТК <sub>5-13</sub> (тестеры)	
	РФ <sup>-</sup>	РФ	РФ <sup>+</sup>	РФ <sup>-</sup>
РА + (n, %)	24 (61,5)	15 (38,5)	61 (67,0)	30 (33,0)
РА (n, %)	22 (73,3)	8 (26,7)**	54 (68,0)	24 (32,0)
РА (n, %)	2 (22,2)*	7 (77,8)**	10 (62,5)*	6 (37,5)

\* – p > 0,05; \*\* – p > 0,001.

У мужчин-тестеров, больных РА, по сравнению с мужчинами-нетестерами, статистически значимо чаще по фи-критерию Фишера встречался серопозитивный РА

( $p < 0,05$ ). У всех 4 мужчин с порогом чувствительности ФТКО был констатирован серонегативный РА, причем два из них являлись абсолютными нетестерами, т. е. не ощущали вкус кристаллов ФТК. Существенные различия были установлены по частоте встречаемости серонегативного РА у мужчин-нетестеров сравнительно с женщинами-нетестерами ( $p < 0,001$ ). Эти данные, с учетом полового диморфизма, позволяют предполагать наличие ассоциации между фенотипами чувствительности к ФТК и иммунологическими вариантами РА, а они, как известно, во многом определяют особенности его клинической картины, патокинеза и прогноза.

Активность процесса и фенотипы ФТК. Степень активности РА определялась по модифицированной методике W. Otto et al. (1977), утвержденной на Республиканской научно-практической конференции по ревматологии (2003).

Таблица 3. Степень активности РА в зависимости от фенотипа чувствительности к ФТК

Степень активности	РА + (n = 130)		РА (n = 105)		РА (n = 25)	
	ФТК <sup>+</sup> (n, %)	ФТК <sup>-</sup> (n, %)	ФТК <sup>+</sup> (n, %)	ФТК <sup>-</sup> (n, %)	ФТК <sup>+</sup> (n, %)	ФТК <sup>-</sup> (n, %)
1 (1-5 баллов)	8 (8,8)	4 (10,3)	6 (8,0)	2 (6,7)	2 (12,5)	2 (22,2)
2 (6-10)	50 (54,9)	19 (48,7)	44 (56,7)	16 (53,3)	6 (37,5)	3 (33,3)
3 (11-15)	39 (36,3)	16 (41,0)	25 (33,3)	12 (40,0)	39 (50,0)	4 (44,5)

У мужчин-нетестеров несколько чаще выявлялась минимальная (первая) степень активности по сравнению с женщинами-нетестерами, но эти различия по фи-критерию Фишера статистически незначимы ( $p > 0,1$ ).

Функциональный класс РА и фенотипы ФТК. Функциональный класс РА определялся по шкале, предложенной ACR.

Существенных различий между указанными в таблице 4 группами по уровню ФК не обнаружено. Максимальный усредненный уровень ФК наблюдался в группе женщин-тестеров (3,0). У мужчин-тестеров и мужчин-нетестеров этот параметр был 2,9 и 2,2 соответственно.

Таблица 4. Функциональный класс РА в зависимости от фенотипа чувствительности к ФТК

ФК	РА + (n = 130)		РА (n = 105)		РА (n = 25)	
	ФТК <sup>+</sup> (n, %)	ФТК <sup>-</sup> (n, %)	ФТК <sup>+</sup> (n, %)	ФТК <sup>-</sup> (n, %)	ФТК <sup>+</sup> (n, %)	ФТК <sup>-</sup> (n, %)
1	0 (0,0)	1 (2,6)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (11,1)
2	21 (23,1)	11 (28,2)	18 (24,0)	8 (26,7)	3 (18,8)	3 (33,3)
3	65 (71,4)	23 (59,0)	54 (72,0)	18 (60,0)	11 (68,7)	5 (55,6)
4	5 (5,5)	4 (10,3)	3 (4,0)	4 (13,3)	2 (12,5)	0 (0,0)

Рентгенологическая стадия РА и фенотипы ФТК. Рентгенологическая стадия РА трактовалась по O. Steinbrocker et al. (1949) [8]. Частота встречаемости рентгенологических стадий РА у тестеров и нетестеров представлена в таблице 5. Статистически значимых различий между указанными группами выявлено не было.

Таблица 5. Рентгенологическая стадия РА в зависимости от фенотипа чувствительности к ФТК

ФК	РА + (n = 130)		РА (n = 105)		РА (n = 25)	
	ФТК <sup>+</sup> (n, %)	ФТК <sup>-</sup> (n, %)	ФТК <sup>+</sup> (n, %)	ФТК <sup>-</sup> (n, %)	ФТК <sup>+</sup> (n, %)	ФТК <sup>-</sup> (n, %)
0	1 (1,1)	2 (5,1)	1 (1,33)	2 (6,7)	0 (0,0)	0
1	26 (28,5)	12 (30,8)	26 (34,7)	11 (36,6)	0 (0,0)	1 (11,1)
2	16 (17,6)	7 (18,0)	13 (17,3)	4 (13,3)	3 (18,8)	3 (33,3)
3	35 (38,5)	13 (33,3)	24 (32,0)	8 (26,7)	11 (68,7)	5 (55,6)
4	13 (14,3)	5 (12,8)	11 (14,7)	5 (16,7)	2 (12,5)	0 (0,0)

Для того, чтобы нивелировать влияние длительности РА на результаты анализа связей фенотипов ФТК с ФК1-4 и рентгенологической стадией (РС1-4) болезни, мы использовали индекс тяжести (ИТ), предложенный А. Zielke [8]. Кроме того, в анализ включили пациентов, имеющих длительность болезни более 3 лет, так как по мнению большинства исследователей только спустя 2-3 года от начала РА можно сделать вывод типа его течения. В новой подгруппе оказалось 80 больных РА. Максимальный ИТ был выявлен у мужчин-тестеров (3,29), а минимальный – у женщин-тестеров (2,91). Статистически значимые различия между подгруппами по критерию Крамера-Уэлча выявлены не были, т.е. фенотипы ФТК+ и ФТК – не ассоциированы с ИТ Zielke РА.

Индекс прогрессирования РА и фенотипы ФТК. Количественная оценка типа течения РА проводилась с помощью индекса прогрессирования. Процесс нарастания степени тяжести РА с течением времени можно представить в виде динамического ряда, который аппроксимируется с помощью степенной функции  $y = a \cdot x^b$ , где  $x$  – длительность болезни в годах;  $a = 9,04$ ;  $b = 0,15$  – коэффициенты, обеспечивающие минимум среднего квадрата ошибки. Формула дает представление об изменении тяжести процесса во времени у «среднего» типичного больного РА [8]. В общей группе больных РА ( $n=130$ ) среднее значение индекса прогрессирования составило 3,44. В подгруппе больных с длительностью болезни более 3 лет ( $n=80$ ) этот параметр был равен 3,41, а в подгруппах больных-тестеров ( $n=56$ ) и больных-нетестеров ( $n=24$ ) – 3,41 и 3,40 соответственно. Статистически значимые различия между подгруппами по критерию Крамера-Уэлча не установлены, т.е. фенотипы ФТК+ и ФТК – не ассоциированы с индексом прогрессирования РА.

Индекс повреждения РА и фенотипы ФТК. Индекс повреждения РА, предложенный Д.Е. Каратеевым (2003), представляет собой сумму баллов ( $\min = 0$ ,  $\max = 12$ ) степени рентгенологических изменений в суставах, степени функциональных нарушений и выраженности вторичного амилоидоза. Проанализированы 3 подгруппы больных с длительностью болезни  $\geq 3$  лет, аналогичные тем, что были выделены при исследовании индекса прогрессирования РА. Статистически значимые различия между подгруппами по критерию Манна-Уитни выявлены не были, т.е. фенотипы ФТК+ и ФТК – не ассоциированы с индексом повреждения РА.

Индекс тяжести РА (DUSOI) и фенотипы ФТК. Этот индекс является балловой оценкой (от 0 до 4) четырех проявлений любой болезни, в нашем случае РА: 1) выраженность симптомов за прошедшую неделю, 2) выраженность осложнений за прошедшую неделю, 3) прогноз на ближайшие 6 месяцев без лечения, 4) курабельность или ожидаемый ответ на лечение [11]. Сумма баллов может колебаться от 0 до 16. Учитывая порядковый характер шкалы ИТ Duke, вычислялись медиана, минимум и максимум в общей выборке больных РА ( $n=130$ ), а также подгруппах ФТК+ ( $n=91$ ) и ФТК – ( $n=39$ ). Статистически значимые различия между подгруппами по критерию Манна-Уитни выявлены не были, т.е. фенотипы ФТК+ и ФТК – не ассоциированы с ИТ Duke.

#### Выводы

1. У мужчин-тестеров (ФТК+), больных РА, по сравнению с мужчинами-нетестерами (ФТК –), статистически значимо чаще встречался серопозитивный РА ( $p < 0,05$ ); у всех четырех мужчин-нетестеров с порогом чувствительности ФТК0 был констатирован серонегативный РА.

2. У мужчин-нетестеров (ФТК – ) сравнительно с женщинами-нетестерами (ФТК – ) существенно значимо чаще встречался серонегативный РА ( $p < 0,001$ ).

3. Анализ ассоциаций фенотипов «ФТК+» и «ФТК – » с индексами тяжести, прогрессирования и повреждения не выявил статистически значимых различий, что не позволяет использовать генетический маркер «сенситивность к ФТК» с прогностической целью при РА.

### **Литература**

1. Карпенко, Е. И. Течение и удельный вес острых и хронических вирусных гепатитов у лиц, чувствительных и нечувствительных к фенилтиомочевине / Е. И. Карпенко, А. В. Лобов // Актуальные проблемы медицины: сб. науч. тр. Гомель. 2002. Вып. 3. С. 77 – 80.

2. Козорез, Е. И. Клинические особенности ВИЧ-инфекции у больных чувствительных и нечувствительных к фенилтиомочевине / Е. И. Козорез, Е. Л. Красавцев // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации. Витебск: ВГМУ, 2005. С. 145 – 148.

3. Маленченко, А. Ф. Чувствительность к фенилтиокарбамиду при тиреоидной патологии / А. Ф. Маленченко, В. В. Татхичин, И. В. Хлусова // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. 2007. №: 2. С. 8 – 12.

4. Рычков, Ю. Г. Дальнейшие исследования по генетике гиперсенситивности к фенилтиокарбамиду у человека (экспериментальные, популяционные и семейные данные) / Ю. Г. Рычков, С. Р. Бородина // Генетика. 1973. Том 9. № 7. С. 141 – 152.

5. Сорока, Н. Ф. Ревматоидный артрит: проблемы диагностики и лечения / Н. Ф. Сорока, В. Е. Ягур. Минск: Беларусь, 2000. 190 с.

6. Adler, E. A novel family of mammalian taste receptors / E. Adler [et al.] // Cell. 2000. Vol. 100. P. 693 – 702.

7. Drayna, D. Genetic analysis of a complex trait in the Utah Genetic Reference Project: a major locus for PTC taste ability on chromosome 7q and a secondary locus on chromosome 16p / D. Drayna [et al.] // Hum. Genet. 2003. Vol. 112. P. 567 – 572.

8. Harris, H. Taste sensitivity to phenylthiourea in goitre and diabetes; preliminary communication / H. Harris, H. Kalmus, W.R. Trotter // Lancet. 1949. Vol. 2. P. 1038 – 1039.

9. Fox, A. L. The relationship between chemical constitution and taste / A. L. Fox // Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash.). 1932. Vol. 18. P. 115 – 120.

10. Kim, U.-K. Genetics of human taste perception. Concise review / U.-K. Kim [et al.] // J. Dent. Res. 2004. Vol. 83, № 6. P. 448 – 453.

11. Parkerson, G. R. The Duke Severity of Illness checklist (DUSOI) for measurement of severity and comorbidity / G. R. Parkerson, W. E. Broadhead, T. Chiu-Kit. J. Clin. Epidemiol. 1993. Vol. 46. P. 379 – 393.

12. Race, R. R. Blood groups in man / R. R. Race, R. Sanger. Oxford: Blackwell, 1958. 377 p