

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© Коллектив авторов, 2016
УДК: 616.37-002.2-092

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ АЛКОГОЛЬДЕГИДРОГЕНАЗЫ, МУКОВИСЦИДОЗА, ПАНКРЕАТИЧЕСКОГО СЕКРЕТОРНОГО ИНГИБИТОРА ТРИПСИНА, КАТИОННОГО ТРИПСИНОГЕНА У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ПАНКРЕАТИТОМ

С.В. Тарасенко^{1,2}, А.Ю. Богомолов^{1,2}, А.А. Никифоров¹, О.В. Зайцев^{1,2}, А.А. Натальский^{1,2}, С.Н. Соколова^{1,2}, Е.С. Максимова², Т.С. Рахмаев^{1,2}, О.А. Кадыкова¹

Рязанский государственный медицинский университет
им. акад. И.П. Павлова, ул. Высоковольтная, 9,
390026, г. Рязань, Российская Федерация (1)
Городская клиническая больница скорой медицинской помощи,
ул. Дзержинского, 11, 390013, г. Рязань, Российская Федерация (2)

Обследовано 63 больных с верифицированным диагнозом хронический панкреатит. Первая группа была представлена 31 пациентом с осложнёнными клиническими формами хронического панкреатита, вторую группу составили 32 пациента с неосложненными формами. В рамках исследования проведен анализ полиморфизмов генов *PRSS1* (мутация *R122H*) – ген катионного трипсиногена, *CFTR1* (мутация *del508*) – ген муковисцидоза-1, *CFTR2* (мутация *Gly542Ter*) – ген муковисцидоза-2, *SPINK1* (мутация *N34S*) – ген панкреатического секреторного ингибитора трипсина, ген АДГ (*ADH1B*2*). В ходе исследования выявлена статистически достоверная корреляция между полиморфизмом гена алкогольдегидрогеназы и риском развития осложнённых форм хронического панкреатита.

Ключевые слова: хронический панкреатит, полиморфизм генов.

POLYMORPHISM OF GENES FOR ALCOHOL DEHYDROGENASE, CYSTIC FIBROSIS, PANCREATIC SECRETORY TRYPSIN INHIBITOR, A CATIONIC TRYPSINOGEN IN PATIENTS WITH CHRONIC PANCREATITIS

S.V. Tarasenko^{1,2}, A.Y. Bogomolov^{1,2}, A.A. Nikiforov¹, O.V. Zaytsev^{1,2}, A.A. Natal'skiy^{1,2}, S.N. Sokolova¹, E.S. Maksimova², T.S. Rachmaev^{1,2}, O.A. Kadykova¹

Ryazan State Medical University named after academician I.P. Pavlov,
Visocovoltnaya str., 9, 390026, Ryazan, Russian Federation (1)
Emergency hospital, Dzerzhinsky str., 11, 390013, Ryazan, Russian Federation (2)

The study involved 63 patients with a verified diagnosis of chronic pancreatitis. In the 1st group included 31 patients with a complicated clinical forms of chronic pancreatitis, in 2nd group included 32 patients with uncomplicated forms. The study analyzed the polymorphisms of genes *PRSS1* (mutation *R122H*) – gene for cationic trypsin gene, *CFTR1* (mutation *del508*) – the gene for cystic fibrosis-1, *CFTR2* (mutation *Gly542Ter*) – the gene for cystic fibrosis-2, *SPINK1* (mutation *N34S*) – gene for pancreatic secretory trypsin inhi-

bitor, gene ADH (ADH1B * 2). The study found a statistically significant correlation between ADH gene polymorphism and the risk of complicated forms of chronic pancreatitis.

Keywords: *chronic pancreatitis, genetic polymorphism.*

За последние десятилетие отмечается рост и «омоложение» заболеваний хроническим панкреатитом (ХП). ХП является мультифакториальным заболеванием, в развитии которого играют роль как внешние факторы риска, так и внутренние, в т.ч. генетические особенности человека [1]. Любой морфогенетический процесс является результатом действия многих генов, так называемой генной сети, которая определяет синтез ферментов и структурных белков. Исследования полиморфизмов генов в настоящее время активно проводятся в различных направлениях клинической медицины [2].

Патоморфологической основой развития хронического панкреатита является выраженная структурная перестройка, склероз и фиброз паренхимы поджелудочной железы, что приводит к нарушению оттока секрета железы, к увеличению поджелудочной железы в размерах и, нередко, сдавлению парапанкреатических структур [3]. ХП отличается разнообразием клинических форм [4].

К осложненным клиническим формам ХП относили:

- хронический абдоминальным болевой синдром, неподдающийся медикаментозной терапии, либо рецидивирующий сразу же после прекращения консервативной терапии;

- сдавление холедоха с развитием синдрома механической желтухи;

- сдавление воротной вены с развитием синдрома портальной гипертензии;

- сдавление двенадцатиперстной кишки и развитие дуоденостаза [5].

Неосложненными клиническими формами называли такое течение ХП, при котором в период ремиссии больные не предъявляли жалоб, по результатам инструментальных и лабораторных методов исследования не было получено данных о сдавлении парапанкреатических структур.

В настоящее время всё большее внимание получают исследования генетических предпосылок развития хронической патологии органов пищеварения [6].

Целью исследования было изучение полиморфизма следующих генов:

1. ген катионного трипсиногена *PRSSI*, мутация в котором приводит к устойчивости трипсиногена к аутолизу и обуславливает его более легкую аутоактивацию [7];

2. ген панкреатического секреторного ингибитора трипсина *SPINK1*, мутации в котором нарушают процесс инактивации трипсина в ткани поджелудочной железы [7];

3. ген муковисцидоза-1,2 *CFTR-1,2* (ген трансмембранного регулятора муковисцидоза), мутации в генах муковисцидоза проявляются на клеточном уровне недостаточной гидратацией и защелачиванием первичного секрета железы и увеличением его вязкости [7];

4. ген алкогольдегидрогеназы (АДГ), мутация которого ускоряет процесс трансформации этанола в ацетальдегид и способствует накоплению его в клетках у больных с ХП.

Материалы и методы

В исследование включили 63 больных, находившихся на стационарном лечении в Центре хирургии печени, поджелудочной железы и желчевыводящих путей г. Рязани. Все пациенты были обследованы, согласно стандартам обследования больных с ХП. Получено информированное согласие всех пациентов на участие в исследовании. Все пациенты были распределены на 2 группы сравнения. Первую группу составили 31 больной, 29 мужчин и 2 женщины, в возрасте $44,8 \pm 3,29$ с осложненными клиническими формами хронического панкреатита. Таким больным было показано или уже

выполнено хирургическое лечение ХП. Во вторую группу были включены 32 пациента, 26 мужчин и 6 женщин, в возрасте $44,7 \pm 5,09$, страдающие неосложненными клиническими формами ХП. Исследование проводилось проспективно.

Всем больным выполнялись стандартные общеклинические и биохимические анализы. Верификацию диагноза хронического панкреатита проводили с использованием общепринятых методов инструментальной диагностики: ультразвукового исследования (УЗИ), фиброгастроуденоскопии (ФГДС), прямых методов рентгеноконтрастного исследования желчевыводящих путей и протоковой системы поджелудочной железы, компьютерной томографии (КТ) и магнитно-резонансной томографии (МРТ).

Анализу подвергали геномную ДНК человека, выделенную из лейкоцитов цельной крови с помощью реагента «ДНК-экспресс-кровь» при помощи системы «SNP-экспресс-РВ» ООО НТП «Литех» (г. Москва). С образцом выделенной ДНК параллельно проводили две реакции амплификации – с двумя парами аллель-специфичных праймеров. Результаты анализа позволяли дать три типа заключений: нормальная гомозигота; гетерозигота; мутантная гомозигота.

Статистическую обработку выполняли при помощи пакета Microsoft Excel 7.0. При сравнении частот аллелей использовали критерий Фишера и χ^2 . Для оценки ассоциации изучаемых полиморфных вариантов генов с риском развития осложненных форм ХП рассчитывали отношение шансов OR (Odds Ratio). $OR = (a \times d) / (b \times c)$, где a – частота аллеля (генотипа) в выборке больных, b – частота аллеля (генотипа) в контрольной выборке, c – сумма частот остальных аллелей (генотипов) в выборке больных, d – сумма частот остальных аллелей (генотипов) в контрольной выборке. OR определены с 95% и 99% до-

верительным интервалом (CI). OR = 1 рассматривали как отсутствие ассоциации; OR > 1 – как положительную ассоциацию («повышенный риск развития патологии»), OR < 1 – как отрицательную ассоциацию аллеля или генотипа с заболеванием («пониженный риск развития патологии»).

Результаты и их обсуждение

Распределение генотипов в исследуемых группах оказалось следующим: нормальная гомозигота гена *SPINK1* (AA) в первой группе определена у 29 (93,5%) больных, во второй – 31 (96,9%); гетерозигота AG встречалась соответственно у 2 (6,5%) и 1 (3,1%) больных.

Гомозиготный вариант *CGC* гена *PRSSI* был определен у большинства: 27 (87,1%) больных в первой группе, у всех 32 (100%) – во второй группе. Гетерозиготный вариант *CAT* выделен в 4 случаях (12,9%) у первой группы и не определен во второй группе (0%).

Изучение полиморфизма *CFTR1* (мутация *del508*) выявило присутствие гомозигот в первой группе у 29 (93,5%) пациентов, во второй – 31 (96,9%). Гетерозиготный вариант встречался в 2 (6,5%), 2 (6,5%) случаях соответственно.

Полиморфизм *CFTR2* (мутация *Gly542Ter*) не был выявлен ни у одного больного.

Полиморфизм гена АДГ *ADH1B*1/ADH1B*2* гомозиготный вариант встретился в 1 группе в 20 (64,5%) случаях, во второй 30 (93,7%), гетерозиготы составили 11 (35,5%) и 2 (6,3%) соответственно. Число гетерозигот для гена АДГ оказалось наибольшим. Следует отметить, что по данным ранее проводимых исследований [8] в русских популяциях частота гетерозигот составляет 5,9%.

Патологические гомозиготы не были выявлены ни в одной группе. В таблице 1 обозначено число гомо- и гетерозигот и статистические расчеты.

Таблица 1

Распределение аллей у больных с хроническим панкреатитом

Полиморфизм	Группа 1, N	Группа 2, N	F-критерий, P	Критерий χ^2 , P	OR, P
Полиморфизм <i>PRSS1</i> (мутация <i>R122H</i>)					
гетерозигота	4 (12,9%)	0 (0%)	-	4,409 p<0,05	-
гомозигота	27(87,1%)	32 (100%)			
Полиморфизм <i>CFTR1</i> (мутация <i>del508</i>)					
гетерозигота	2 (6,5%)	1 (3,1%)	0,672 P > 0,05	0,384 p>0,05	2,138 (0,184 до 24,858) CI 95%
гомозигота	29 (93,5%)	31 (96,9%)			
Полиморфизм <i>CFTR2</i> (мутация <i>Gly542Ter</i>)					
гетерозигота	0 (0%)	0(0%)	-	-	-
гомозигота	31 (100%)	32 (100%)			
Полиморфизм <i>SPINK1</i> (мутация <i>N34S</i>)					
гетерозигота	2 (6,5%)	1 (3,1%)	0,672 P > 0,05	0,384 p>0,05	2,138 (0,184 до 24,858) CI 95%
гомозигота	29(93,5%)	31(96,9%)			
Полиморфизм гена АДГ <i>ADH1B*2</i>					
гетерозигота	11 (35,5%)	2 (6,3%)	3,055 P < 0,01	8,217 P < 0,01	8,250 (1,650 до 41,248) CI 95%
гомозигота	20 (64,5%)	30 (93,7%)			

У одного из пациентов отмечалось наличие полиморфизма генов и АДГ и *PRSS1*. Наибольшее значение отношения шансов в исследуемых группах превышает единицу более чем в 8 раз, это свидетельствует о том, что носительство гетерозиготы в гене АДГ является фактором риска развития осложненных форм ХП.

Выводы

1. Достоверных различий частоты встречаемости мутаций генов *CFTR*, *SPINK1*, *PRSS1* в группах сравнения не определено.

2. У больных с осложненным течением хронического панкреатита досто-

верно чаще встречается мутация гена алкогольдегидрогеназы.

3. Вероятнее всего полиморфизм гена алкогольдегидрогеназы является одним из факторов, предрасполагающих к осложненному течению хронического панкреатита.

4. Определение полиморфизма гена алкогольдегидрогеназы может использоваться в комплексной диагностике и прогнозировании характера течения хронического панкреатита.

5. Внедрение исследований полиморфизмов генов в хирургическую практику позволит оптимизировать диагностику и прогнозирование характера течения хронического панкреатита.

Конфликт интересов отсутствует.

Литература

1. Васильев Ю.В. Этиопатогенетические и клинические аспекты хронического алкогольного панкреатита // Гепатология. 2006. №3. С. 19-24.
2. Исаева Т.Н., Севостьянова К.С., Серяпина Ю.В., Шевела А.И., Морозов В.В. Ассоциации изменений гемоста-

за после эндовенозной лазерной коагуляции с генетическими полиморфизмами // Наука молодых (Eruditio Juvenium). 2014. №3. С. 72-82.

3. Григорьева И.Н. Острый и хронический панкреатит. Новосибирск, 2010.
4. Тарасенко С.В., Песков О.Д., Мирон Д.И., Артамонов С.В. Клинические

- формы деструктивного панкреатита // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. 2001. №3-4. С. 40-42.
5. Калинин А.В. Хронический панкреатит: распространенность, этиология, патогенез, классификация и клиническая характеристика этиологических форм (Сообщ. 1) // Клинические перспективы гастроэнтерологической гепатологии. 2006. №6. С. 5-15.
 6. Натальский А.А., Тарасенко С.В., Зайцев О.В., Песков О.Д. Современные представления о печеночной недостаточности в хирургии // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. 2014. №4. С. 138-147.
 7. Gasiorowska A, Talar-Wojnarowska R, Smolarz B. The prevalence of pancreatic serine protease inhibitor Kazal type 1 (SPINK 1) and cationic trypsinogen gene (PRSS1) mutations in polish patients with chronic alcoholic pancreatitis and pancreatic cancer // *Pancreatology*. 2006. №6. P. 393-394.
 8. Марусин А.В., Степанов В.А., Спиридонова М.Г., Пузырев В.П. Полиморфизм генов алкогольдегидрогеназ ADH1B и ADH7 в русской популяциях Сибирского региона // Молекулярная биология. 2004. Т. 38, №4. С. 625-631.
- ### References
1. Vasiliev YV. Etiopatogeneticheskie i klinicheskie aspekty hronicheskogo alkogol'nogo pankreatita [Etiopathogenic and clinical aspects of chronic alcoholic pancreatitis]. *Gepatologiya [Hepatology]*. 2006; 3: 19-24. (in Russian)
 2. Isaeva TN, Sevostyanova KS, Serapina YV, Shevela AI, Morozov VV. Assotsiatsii izmenenij gemostaza posle ehndovenoznoj lazernoj koagulyatsii s geneticheskimi polimorfizmami [Association changes hemostasis after endovenous laser coagulation with genetic polymorphisms]. *Nauka molodyh (Eruditio Juvenium) [Science of the young (Eruditio Juvenium)]*. 2014; 3: 72-82. (in Russian)
 3. Grigorieva IN. *Ostryj i hronicheskij pankreatit [Acute and chronic pancreatitis]*. Novosibirsk; 2010. (in Russian)
 4. Tarasenko SV, Peskov OD, Mirov DI, Artamonov SV. Klinicheskie formy destruktivnogo pankreatita [Clinical forms of destructive pancreatitis]. *Rossijskij mediko-biologicheskij vestnik imeni akademika I.P. Pavlova [I.P. Pavlov Russian Medical Biological Herald]*. 2001; 3-4: 40-42. (in Russian)
 5. Kalinin AV. Hronicheskij pankreatit: rasprostranennost', ehtiologiya, patogenez, klassifikaciya i klinicheskaya harakteristika ehtiologicheskikh form (Soobshch. 1) [Chronic pancreatitis: incidence, etiology, pathogenesis, classification and clinical characteristics of etiological forms (message 1)]. *Klinicheskie perspektivy gastroehnterologicheskoy gepatologii [Clinical prospects of gastroenterology hepatology]*. 2006; 6: 5-15. (in Russian)
 6. Natalskiy AA, Tarasenko SV, Zaitsev OV, Peskov OD. Sovremennyye predstavleniya o pechenochnoj nedostatochnosti v hirurgii [Modern notions of liver failure in surgery]. *Rossijskij mediko-biologicheskij vestnik imeni akademika I.P. Pavlova [I.P. Pavlov Russian Medical Biological Herald]*. 2014; 4: 138-147. (in Russian)
 7. Gasiorowska A, Talar-Wojnarowska R, Smolarz B. The prevalence of pancreatic serine protease inhibitor Kazal type 1 (SPINK 1) and cationic trypsinogen gene (PRSS1) mutations in polish patients with chronic alcoholic pancreatitis and pancreatic cancer. *Pancreatology*. 2006; 6: 393-394.
 8. Marusin AV, Stepanov VA, Spiridonov MG, Puzyrev VP. Polimorfizm genov alkogol'degidrogenaz ADH1B i ADH7 v russkij populyatsiyah Sibirskogo regiona [Gene polymorphism and alcohol dehydrogenases ADH1B ADH7 to the Russian populations in Siberia]. *Molekulyarnaya biologiya [Molecular Biology]*. 2004; 38(4): 625-631. (in Russian)

Тарасенко С.В. – д.м.н., профессор, зав. кафедрой госпитальной хирургии ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России.

Богомолов А.Ю. – очный аспирант кафедры госпитальной хирургии ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России.

E-mail: alexej.rzgmu@gmail.com

Никифоров А.А. – к.м.н., доцент, зав. ЦНИЛ ГБОУ ВПО ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России.

Зайцев О.В. – д.м.н., доцент кафедры госпитальной хирургии ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России.

Соколова С.Н. – к.м.н., доцент кафедры госпитальной хирургии ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России.

Натальский А.А. – к.м.н., ассистент кафедры госпитальной хирургии ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России.

E-mail: lorey1983@mail.ru

Максимова Е.С. – врач-терапевт, специалист по функциональной диагностике ГБУ РО «ГК БСМП», г. Рязань.

Рахмаев Т.С. – ассистент кафедры госпитальной хирургии ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России.

Кадыкова О.А. – ассистент кафедры госпитальной хирургии ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России.