



МУТАЦИЯ ГЕНА ПАНКРЕАТИЧЕСКОГО СЕКРЕТОРНОГО ИНГИБИТОРА ТРИПСИНА N34S У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ИДИОПАТИЧЕСКИМ ПАНКРЕАТИТОМ

Кучерявый Ю.А.¹, Петрова Н.В.², Тибилова З.Ф.¹, Смирнов А.В.³, Оганесян Т.С.¹, Казюлин А.Н.¹, Маев И.В.¹

¹ ГОУ ВПО Московский государственный медико-стоматологический университет Минздравсоцразвития

² Лаборатория генетической эпидемиологии Медико-генетического научного центра РАМН

³ ФГЛПУ «Поликлиника № 2 Минэкономразвития России», Москва

Кучерявый Юрий Александрович
103473, Москва, ул. Делегатская, 20/1
E-mail: proped@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Цель исследования: определить частоту и прогностическую значимость мутации N34S в отношении развития ХП в смешанной российской популяции.

Методы. В исследование включено 83 больных идиопатическим ХП и 103 здоровых лица. Диагноз ХП базировался на клинико-инструментальных данных в соответствии с критериями M-ANNHEIM. У всех включенных в исследование методом ПЦР с последующим рестрикционным анализом проведен анализ мутации N34S в гене ПИТ.

Результаты. Мутация N34S была выявлена у 12 больных ХП и у 3 человек контрольной группы, что составило 14,6 и 2,9% соответственно; $p < 0,05$. Отношение шансов (ОШ) развития идиопатического ХП при наличии мутации N34S составило 4,62 (95%-ный доверительный интервал (ДИ): 1,21–18,37). Статистически достоверно отличалась и частота гомозигот по мутантному аллелю — 10,97 и 0,97% в основной и контрольных группах соответственно; $p < 0,05$. Наличие мутации не сказывалось на частоте и тяжести функциональных нарушений ПЖ, но мутация N34S статистически достоверно чаще встречалась у больных кальцифицирующим панкреатитом ($p < 0,01$) и с наличием псевдокист ($p < 0,05$). ОШ развития кальцификации у лиц с наличием N34S составило 13,44 (95% ДИ: 6,29–23,78).

Заключение. Полученные данные свидетельствуют, что мутация N34S играет немалую роль в развитии ХП в российской популяции и может определять 10% и более случаев идиопатического ХП.

SUMMARY

Purpose: To determine the frequency and prognostic significance of mutation N34S in the development of CP in a mixed Russian population.

Methods. The study included 83 patients with idiopathic CP and 103 healthy individuals. The diagnosis of CP was based on clinical and instrumental data in accordance with the criteria of M-ANNHEIM. Everyone involved in this study using PCR followed by restriction analysis performed the N34S mutation analysis in the gene for the ICU.

Results. N34S mutation was detected in 12 patients with CP and in 3 of the control group, which accounted for 14.6 and 2.9% respectively; $p < 0,05$. The odds ratio (OR) of idiopathic CP in the presence of mutation N34S was 4.62 (95% confidence interval (CI): 1,21-18,37). The difference in frequency of homozygotes the mutant allele was statistically significant: 10.97 and 0.97% in the main and control groups, respectively; $p < 0,05$. The presence of mutations did not affect the frequency and severity of functional disorders of the pancreas, but the mutation N34S was statistically significantly more common in patients with calcifying pancreatitis ($p < 0,01$) and the presence of pseudocysts ($p < 0,05$). OR the development of calcification in patients with the presence of N34S was 13.44 (95% CI: 6,29-23,78).

Conclusion. These data suggest that the mutation N34S plays a significant role in the development of CP in the Russian population and can detect more than 10% of cases of idiopathic CP.

Хронический панкреатит (ХП) — это группа заболеваний поджелудочной железы (ПЖ) различной этиологии, характеризующаяся вариабельной воспалительной инфильтрацией мезенхимальными клетками паренхимы и протоков органа; итогом длительного персистирования такого воспаления является развитие необратимых изменений экстрацеллюлярного матрикса и фиброза [9; 18]. В клиническом аспекте ХП является болезнью, в большинстве случаев характеризующейся рецидивирующими эпизодами малоспецифичного болевого абдоминального синдрома и, как правило, прогрессирующей экзокринной и эндокринной недостаточностью ПЖ [2; 29].

В странах Запада алкоголь на протяжении многих лет считают наиболее важным фактором риска для развития ХП [13]. Отчасти поэтому в течение многих десятилетий ХП расценивался как достаточно однородное и, как правило, неизлечимое заболевание, наиболее часто встречающееся в районах с низким уровнем дохода на душу населения, который определенно влияет на качество продуктов питания и частоту злоупотребления алкоголем и табакокурением. Крупные клинические исследования последних десятилетий доказали, что подобное представление является ошибочным и в определенной мере дискриминационным, а если глубже изучить историю панкреатологии, то даже и не основанным на реальных фактах [20; 24]. Фиброз ПЖ с развитием функциональной панкреатической недостаточности при ХП, согласно современным представлениям, является исходом широкого диапазона экзогенных (экологических, инфекционных, нутритивных, токсических) и эндогенных (генетических, воспалительных) изменений, совокупность которых и приводит с вариабельным вкладом разных составляющих к развитию заболевания у конкретного индивидуума [5; 10; 11]. Подобный подход в понимании танатогеनेза ХП поддерживается большинством современных экспертов в области панкреатологии и отражен в современных классификационных системах этого заболевания [27].

Именно наличием генетических изменений и объясняется развитие многих случаев панкреатита, его тяжести и осложнений. Следуя генетической теории развития и прогрессирования ХП, становится понятно, почему у одних лиц, длительное время злоупотребляющих алкоголем, развивается ХП, а у других — нет. Различные генные мутации и полиморфизмы, вероятно, определяют восприимчивость человека к развитию ХП, как правило, за счет ослабления протективных механизмов ПЖ [9]. Лавинообразное увеличение числа вновь открытых мутаций, появляющихся в периодической печати ежегодно, свидетельствует, что до сих пор открыта только меньшая часть возможных генетических изменений, приводящих к развитию ХП [8; 18]. Поэтому канонической стала точка зрения, что если

диагноз наследственный панкреатит (НП) предполагается согласно особенностям клинического течения и семейному анамнезу, а генетический скрининг не выявляет конкретной мутации, то это не исключает диагноз НП [2].

В среднем у трети всех пациентов с ХП не удается идентифицировать этиологический фактор на этапе стандартного скрининга, то есть выявить наиболее часто встречающиеся этиологические формы — токсико-метаболический (алкоголь, курение, гипертриглицеридемия и др.) и/или билиарнозависимый ХП, что следует трактовать как идиопатический ХП [15]. Таким образом, под идиопатическим панкреатитом понимают клинические, морфологические и гистологические признаки, типичные для панкреатитов, без возможности идентификации этиологического фактора на момент обследования. Чаще он наблюдается у мужчин в соотношении 7:1. Выделяются ранний и поздний идиопатический панкреатиты, тропический ХП и неклассифицируемые случаи идиопатического панкреатита. Ранний (ювенильный) идиопатический ХП, развивающийся в возрасте 15–25 лет, и поздний (сенильный) идиопатический ХП, дебютирующий в возрасте 55–65 лет, кардинально отличаются от алкогольного ХП значительно более медленными темпами кальцификации ПЖ [2; 15].

Таким образом, группа идиопатического панкреатита отличается крайней клинической неоднородностью, при этом непонятны причины преимущественного заболевания идиопатическим ХП в детском, юношеском и пожилом возрасте. Каковы же возможные причины этого феномена? Ответ на этот вопрос получен за последние 15 лет, когда представленность идиопатического панкреатита в структуре этиологических причин ХП значительно уменьшилась. Это связано с фундаментальными открытиями в панкреатологии, генетике, а также с совершенствованием диагностических методик, позволяющих достоверно выявлять у больных идиопатическим ХП причины развития заболевания: билиарный микролитиаз, дисфункцию сфинктера Одди, наследственные заболевания и аномалии развития ПЖ, а также с признанием роли аутоиммунных заболеваний в патогенезе ХП [2].

Уже более 10 лет доступны данные, что у 20–40% пациентов с ранним началом идиопатического ХП могут присутствовать мутации гена панкреатического секреторного ингибитора трипсина (ПИТ или SPINK1) [23], приводящие к дисфункции этого белка и, как следствие к возможности неконтролируемой интрапанкреатической активации трипсина [2]. В то же время согласно данным исследований, проведенных в Италии, мутация N34S в гене ПИТ была выявлена только у 3,9–4,1% больных идиопатическим панкреатитом, причем авторами было отмечено, что данная мутация не имеет никакой связи со временем манифестации заболевания и

клиническим течением панкреатита [25]. В связи с большой вариабельностью частоты мутации N34S в различных странах большой интерес для нас представляют работы, выполненные в России или на генетически близких популяциях. В первом случае мы имеем дело с единичными публикациями, показывающими низкую частоту встречаемости этой мутации в смешанной российской популяции — в пределах 1,85–3,06% у больных ХП [1; 3]. Однако мутация N34S выявлялась статистически достоверно чаще у больных идиопатическим ХП относительно прочих этиологических форм заболевания, что предполагает генетическую основу заболевания по крайней мере у части больных идиопатическим ХП [1]. С другой стороны, в генетически близких популяциях отмечается существенно более высокая частота встречаемости мутации N34S, достигающая 10% у детей с ХП [28] и 28,6% у взрослых с идиопатическим ХП против 6,5% в контроле [12].

Результаты крупного метаанализа 24 исследований, включающих 2421 случай ХП (и 4857 контроль), свидетельствуют о высоком риске развития ХП у носителей мутации N34S — отношение шансов (ОШ) для развития ХП достигает 11,00 (95%-ный доверительный интервал (ДИ) 7,59–15,93), а для идиопатического ХП еще выше — 14,97 (95% ДИ 9,09–24,67) [4].

Таким образом, чрезвычайно важно определить частоту и прогностическую значимость мутации N34S в отношении развития ХП в смешанной российской популяции, что и послужило целью проведения данного исследования.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на базе гастроэнтерологического отделения ЦКБ № 2 им. Н.А. Семашко ОАО «РЖД» в период с 2009 по 2011 год (директор клиники — д.м.н., проф. М.Р. Калинин). Анализ ДНК проводился в лаборатории генетической эпидемиологии Медико-генетического Научного центра РАМН (зав. лабораторией — проф. Р.А. Зинченко).

В рамках одномоментного экспериментального исследования обследовано 185 человек, проживающих в Москве и Московской области, в том числе 82 больных идиопатическим панкреатитом (35 мужчин и 47 женщин), и 103 человека контрольной группы (42 мужчины и 61 женщина), у которых диагноз ХП был исключен. Средний возраст больных ХП составил $41,3 \pm 5,3$ года (от 19 до 67 лет), в контрольной группе — $37,6 \pm 4,1$ года (от 18 до 58 лет).

Критерии включения больных в исследование:

- возраст от 18 до 80 лет;
- европеоидная раса;
- признаки хронического панкреатита («определенный» или «вероятный» ХП по классификации M-ANNHEIM [27]);
- отсутствие семейного анамнеза ХП;
- отсутствие анамнеза, предполагающего алкогольный ХП (употребление 80 и более (для мужчин)

и 40 и более (для женщин) граммов чистого этанола в сутки в течение пяти и более лет до появления первого симптома ХП [12];

- показатель пачко-лет менее 2 для курильщиков табака [12; 27; 33];
- подписанное информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии исключения:

- холедохолеитаз;
- признаки аутоиммунного панкреатита;
- гиперкальциемия, гипертриглицеридемия;
- любая патология, препятствующая адекватному скринингу ХП и/или интерпретации полученных клинических данных, включая злокачественный опухолевой процесс любой локализации, декомпенсированные заболевания сердечно-сосудистой системы, органов дыхания, печени, почек, тяжелые неврологические и психические заболевания, urgentную патологию органов брюшной полости, наркоманию, токсикоманию и др.;

— обструктивный панкреатит и аномалии развития ПЖ, билиарного тракта, двенадцатиперстной кишки (*pancreas divisum*, кисты холедоха, парафатеральный дивертикул и т. п.);

— беременность и лактация.

Методы обследования пациентов

Клиническое обследование пациентов включало сбор жалоб и анамнеза, физикальные методы, анкетирование, позволяющие определить характерные жалобы, начало и длительность заболевания, а также провести первичную оценку соответствия критериям включения и исключения.

Инструментальные методы диагностики в рамках первичного скрининга включали все следующие методы:

- общие анализы крови и мочи;
- биохимический анализ крови (определяли уровни содержания общего белка и альбумина, билирубина, щелочной фосфатазы, общей и панкреатической амилазы, сывороточной липазы, гамма-глутамилтранспептидазы, трансаминаз, мочевины, креатинина; протромбиновый индекс);
- общий анализ кала (оценка стеатореи, исключение паразитарной инвазии);
- эластаза-1 кала;
- ультразвуковое исследование органов брюшной полости и почек (по стандартной методике с определением размеров и структуры печени, поджелудочной железы, селезенки, желчного пузыря, почек);
- компьютерная томография органов брюшной полости, при недостаточной информативности проводилась магнитно-резонансная панкреатохолангиография;
- эндоскопическое обследование (эзофагогастродуоденоскопия) с обязательной оценкой состояния большого дуоденального сосочка.



- выделение геномной ДНК проводили из лейкоцитов венозной крови с использованием набора реактивов *Wizard Genomic DNA Purification Kit* фирмы *Promega* (США) в соответствии с рекомендациями производителя.

Идентификация мутации N34S (AAT>AGT) в 3-м экзоне гена *SPINK1* осуществлялась методом рестрикционного анализа с использованием специфичных праймеров: 5' TTC TGT TTA ATT CCA TTTT AGG CCA AAT GCT GCA 3' и 5' GGC TTTT ATC ATA CAA GTG ACT TCT 3'. Амплифицировался фрагмент ДНК длиной 221 пн; далее — рестрикция *Hru8I*. В случае аллеля 34S (G) получались фрагменты длиной 137 ± 84 (пн). В случае аллеля N34 (A) — фрагмент 221 пн. Разделение продуктов рестрикции проводили в полиакриламидном геле; окрашивание осуществлялось бромистым этидием; визуализация в УФ.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы приложения *Microsoft — Statistica* для *Windows* (версия 8,0; *StatSoft*, США). Для установления достоверности различий при сравнении результатов для переменных с нормальным распределением использовался *t*-критерий Стьюдента. Различия в распределении мутаций были проанализированы непараметрическим методом χ^2 , в малых группах — с поправкой Йейтса. Данные представлены как среднее \pm стандартное отклонение для переменных с нормальным распределением. Критерием достоверности считалось $p < 0,05$. Для расчета чувствительности и специфичности прогностических признаков, а также прогностической ценности положительного результата теста (наличия признака) и отношения шансов выстраивалась четырехпольная таблица с последующим определением показателей.

Этика. Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом ГОУ ВПО МГМСУ Минздравсоцразвития. Каждый пациент получал подробную информацию о проводимом исследовании и подписывал информированное согласие на участие в исследовании.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Определение мутации N34S в гене *SPINK1* было осуществлено у всех больных ХП и у всех лиц контрольной группы, последние из которых не имели клинико-инструментальных признаков ХП. Мутация была выявлена у 12 больных ХП и у 3 человек контрольной группы, что составило 14,6 и 2,9% соответственно; $p < 0,05$. Мутации в равной степени встречались и у мужчин, и у женщин. ОШ развития идиопатического ХП при наличии мутации N34S составило 4,62 (95% ДИ: 1,21–18,37). Статистически достоверно отличалась и частота гомозигот по мутантному аллелю — 10,97 и 0,97% в основной и контрольных группах соответственно; $p < 0,05$. Полученные нами данные о распространенности мутации N34S гена ПИТ в

смешанной популяции Москвы и Московской области оказались вполне близкими к результатам ряда зарубежных исследований [12; 23; 28].

Анализ клинико-генетических сопоставлений выявил ряд любопытных данных: наличие мутации не сказывалось на частоте и тяжести функциональных нарушений ПЖ, но мутация N34S статистически достоверно чаще встречалась у больных кальцифицирующим панкреатитом ($p < 0,01$) и с наличием псевдокист ($p < 0,05$). Таким образом, ОШ развития кальцификации у лиц с наличием N34S составило 13,44 (95% ДИ: 6,29–23,78).

Итак, роль мутаций гена ПИТ в развитии ХП была оценена в нескольких исследованиях [4; 12; 23; 25; 28]. Наше исследование — первое, в котором была изучена частота мутации N34S у больных идиопатическим ХП в Москве и Московской области, и пока единственное в России, в котором удалось доказать, что данная мутация играет существенную роль в развитии по крайней мере 10% идиопатических панкреатитов.

Планируя дизайн исследования, мы исключали больных алкогольным ХП, так как до сих пор нет единого мнения о сочетанном влиянии алкоголя и мутации N34S на развитие ХП. В ряде ранее проведенных исследований было показано, что мутация N34S незначительно повышает риск развития ХП у лиц, злоупотребляющих алкоголем, относительно лиц, злоупотребляющих алкоголем, но без данной мутации [17; 22]. В то же время существуют данные о том, что эта мутация встречается у 5,8% [32], 7,8% [31], 10% [17] и даже 18% [12] больных алкогольным ХП, проживающих в различных странах Европы и США. Наибольшая частота выявления мутации N34S у больных алкогольным ХП отмечается в Индии, где она достигает 26,8% [6]. В то же время в Южной Корее частота выявления этой мутации у больных алкогольным ХП составляет всего 2,4% [16].

Наиболее простым объяснением таких несоответствий может служить генетическое разнообразие различных этнических групп. В нашем исследовании, включающем европеоидов Москвы и Московской области, частота гомозиготной мутации гена *SPINK1* составила 10,97%, что сопоставимо с большинством исследований в Европе и США. Гомозиготное носительство N34S отмечено только у 1 человека контрольной группы (0,97%), что также соответствует данным других исследований (0–2,8%) [19; 21; 26]. При этом следует отметить, что у пациента контроля с выявленной гомозиготной мутацией имелаась целая совокупность факторов, вероятно, объясняющих факт отсутствия у него признаков ХП: возраст 21 год, спортивный образ жизни без употребления алкоголя и курения табака, сбалансированный рацион регулярного питания.

Действительно, частота мутаций *SPINK1* у больных идиопатическим ХП колеблется в пределах до 6,4% во Франции [7] до 25% в Финляндии [17] и США [23]. Такая вариабельность результатов, безусловно, может быть также объяснена генетическими

отличиями изучаемой популяций. Однако более высокая частота регистрации N34S, чем при алкогольном ХП, все же позволяет предполагать, что мутированный ген SPINK1 ведет себя, скорее, как ген-модификатор болезни. Это отчасти подтверждается результатами исследования, проведенного в Германии и Швейцарии и демонстрирующего прочную ассоциацию генной мутации SPINK1 и развития «раннего» идиопатического ХП [30].

До сих пор остается спорным, оказывает ли мутация SPINK1 N34S влияние на клиническое течение ХП. Настоящее исследование с относительно небольшим числом наблюдений пока неспособно доказать известные ассоциации между наличием изучаемой мутации и тяжестью течения ХП [14; 19], а также возрастом начала манифестации болезни [23]. Нам удалось выявить более высокую и статистически значимую частоту мутации N34S у больных ХП с наличием кальцинатов и кист, однако взаимосвязь мутации с панкреатической недостаточностью отсутствовала, что было ранее отмечено в отдельных исследованиях [30].

В заключение следует отметить, что согласно современным представлениям физиологическая роль SPINK1 заключается в защите ПЖ от чрезмерной

активности трипсиногена. Мутации гена SPINK1, ассоциированные с ХП, были обнаружены при всех, за исключением аутоиммунной, формах заболевания. Поскольку мутация N34S нередко встречается у лиц без ХП, маловероятно, что только наличие гомозиготного носительства определит развитие хронического панкреатита. Таким образом, представляется, что у большинства пациентов со SPINK1-ассоциированным ХП данная мутация действует как модификатор болезни либо в составе многогенной модели вместе с другими неидентифицированными генетическими, экзогенными и экологическими кофакторами развития ХП. Продолжение данной работы по изучению спектра соматических мутаций в российской популяции, возможно, подтвердит данное предположение в будущем. Наиболее многообещающий ген-кандидат для такого взаимодействия — это ген трансмембранного регулятора кистозного фиброза (CFTR), так как генетические альтерации в пределах этого гена еще более распространены в населении в целом и ассоциированы с развитием ХП.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кучерявый Ю.А., Петрова Н.В., Оганесян Т.С. и др. Генетические особенности различных форм панкреатитов: значение вклада мутаций в генах SPINK1 и CFTR // Тезисы докл. XI съезда НОГР 1–2 марта 2011 г., Москва. — С. 114–115.
2. Маев И.В., Кучерявый Ю.А. Болезни поджелудочной железы. В 2-х томах. — М.: Медицина, Шико, 2008. — 976 с.
3. Ямлиханова А.Ю. Основные факторы риска и качество жизни у больных острым и хроническим панкреатитом: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Новосибирск, 2010. — С. 23.
4. Aoun E., Chang C.C., Greer J.B. et al. Pathways to injury in chronic pancreatitis: decoding the role of the high-risk SPINK1 N34S haplotype using meta-analysis // PLoS One. — 2008. — Vol. 3(4). — P. 1–8.
5. Braganza J.M., Lee S.H., McCloy R.F., McMahon M.J. Chronic pancreatitis // Lancet. — 2011. — Vol. 377(9772). — P. 1184–1197.
6. Chandak G.R., Idris M.M., Reddy D.N. et al. Absence of PRSS1 mutations and association of SPINK1 trypsin inhibitor mutations in hereditary and non-hereditary chronic pancreatitis // Gut. — 2004. — Vol. 53. — P. 723–728.
7. Chen J.M., Mercier B., Audrezet M.P. et al. Mutations of the pancreatic secretory trypsin inhibitor (PSTI) gene in idiopathic chronic pancreatitis // Gastroenterology. — 2001. — Vol. 120. — P. 1061–1064.
8. Chen J.M., Férec C. Chronic pancreatitis: genetics and pathogenesis // Annu. Rev. Genomics H. Genet. — 2009. — Vol. 10. — P. 63–87.
9. Derikx M.H., Drenth J.P. Genetic factors in chronic pancreatitis; implications for diagnosis, management and prognosis // Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol. — 2010. — Vol. 24. — P. 251–270.
10. DiMagno M.J., DiMagno E.P. Chronic pancreatitis // Curr. Opin. Gastroenterol. — 2010. — Vol. 26. — P. 490–498.
11. Etemad B., Whitcomb D.C. Chronic pancreatitis: diagnosis, classification, and new genetic developments // Gastroenterology. — 2001. — Vol. 120. — P. 682–707.
12. Gasiorowska A., Talar-Wojnarowska R., Czupryniak L. et al. The prevalence of cationic trypsinogen (PRSS1) and serine protease inhibitor, Kazal type 1 (SPINK1) gene mutations in Polish patients with alcoholic and idiopathic chronic pancreatitis // Dig. Dis. Sci. — 2011. — Vol. 56. — P. 894–901.
13. Gullo L., Barbara L., Labò G. Effect of cessation of alcohol use on the course of pancreatic dysfunction in alcoholic pancreatitis // Gastroenterology. — 1988. — Vol. 95. — P. 1063–1068.
14. Keim V., Witt H., Bauer N., Bodeker H. et al. The course of genetically determined chronic pancreatitis // JOP. — 2003. — Vol. 4. — P. 146–154.
15. Layer P., Yamamoto H., Kalthoff L. et al. The different courses of early- and late-onset idiopathic and alcoholic chronic pancreatitis // Gastroenterology. — 1994. — Vol. 107. — P. 1481–1487.
16. Lee K.H., Ryu J.K., Yoon W.J. et al. Mutation analysis of SPINK1 and CFTR gene in Korean patients with alcoholic chronic pancreatitis // Dig. Dis. Sci. — 2005. — Vol. 50. — P. 1852–1856.
17. Lempinen M., Paju A., Kemppainen E. et al. Mutations N34S and P55S of the SPINK1 gene in patients with chronic pancreatitis or pancreatic cancer and in healthy subjects: a report from Finland // Scand. J. Gastroenterol. — 2005. — Vol. 40. — P. 225–230.
18. Lerch M.M., Mayerle J., Aghdassi A.A. et al. Advances in the etiology of chronic pancreatitis // Dig. Dis. — 2010. — Vol. 28. — P. 324–329.
19. Masamune A., Kume K., Shimosegawa T. Differential roles of the SPINK1 gene mutations in alcoholic and nonalcoholic chronic pancreatitis // J. Gastroenterol. — 2007. — Vol. 42. — P. 135–140.
20. Mitchell R.M., Byrne M.F., Baillie J. Pancreatitis // Lancet. — 2003. — Vol. 26. — P. 1447–1455.
21. Mora J., Comas L., Ripoll E. et al. Genetic mutations in a Spanish population with chronic pancreatitis // Pancreatol. — 2009. — Vol. 9. — P. 644–651.
22. Perri F., Piepoli A., Stanziale P. et al. Mutation analysis of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene, the cationic trypsinogen (PRSS1) gene, and the serine protease inhibitor, Kazal type 1 (SPINK1) gene in patients with alcoholic chronic pancreatitis // Eur. J. Hum. Genet. — 2003. — Vol. 11. — P. 687–692.
23. Pfutzer R.H., Barmada M.M., Brunskill A.P. et al. SPINK1/PSTI polymorphisms act as disease modifiers in familial and idiopathic chronic pancreatitis // Gastroenterology — 2000. — Vol. 119. — P. 615–623.
24. Pitchumoni C.S. Chronic pancreatitis: a historical and clinical sketch of the pancreas and pancreatitis // Gastroenterologist. — 1998. — Vol. 6. — P. 24–33.
25. Salacone P., Bancone C., Gallo M. et al. Mutations of pancreatic secretory trypsin inhibitor and cystic fibrosis transmembrane conductance regulator genes in patients with pancreatitis // JOP. J. Pancreas (Online). — 2001. — Vol. 2 (Suppl. 5). — P. 349.
26. Schneider A., Pfutzer R.H., Barmada M.M. et al. Limited contribution of the SPINK1 N34S mutation to the risk and severity of alcoholic chronic pancreatitis: a report from the United States // Dig. Dis. Sci. — 2003. — Vol. 48. — P. 1110–1115.
27. Schneider A., Löhr J.M., Singer M.V. The M-ANNHEIM classification of chronic pancreatitis: introduction of a unifying classification system based on a review of previous classifications of the disease // J. Gastroenterol. — 2007. — Vol. 42. — P. 101–119.



28. Sobczynska-Iomaszewska A., Bak D., Oratewska B. *et al.* Analysis of CFTR, SPINK1, PRSS1 and AAT mutations in children with acute or chronic pancreatitis // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* — 2006. — Vol. 43. — P. 299–306.
29. Steer M.L., Waxman I., Freedman S. Chronic pancreatitis // *N. Engl. J. Med.* — 1995. — Vol. 332. — P. 1482–1490.
30. Truninger K., Witt H., Kock J. *et al.* Mutations of the serine protease inhibitor, Kazal type 1 gene, in patients with idiopathic chronic pancreatitis // *Am. J. Gastroenterol.* — 2002. — Vol. 97. — P. 1133–1137.
31. Lukkainen E., Kylanpaa M.L., Kemppainen E. *et al.* Pancreatic secretory trypsin inhibitor (SPINK1) gene mutations in patients with acute pancreatitis // *Pancreas.* — 2005. — Vol. 30. — P. 239–242.
32. Witt H., Luck W., Becker M., Böhmig M. *et al.* Mutation in the SPINK1 trypsin inhibitor gene, alcohol use, and chronic pancreatitis // *JAMA.* — 2001. — Vol. 285. — P. 2716–2717.
33. Yadav D., Slivka A., Sherman S. *et al.* Smoking is underrecognized as a risk factor for chronic pancreatitis // *Pancreatology.* — 2010. — Vol. 10. — P. 713–719.

Работа выполнена в рамках гранта президента РФ по государственной поддержке молодых российских ученых — кандидатов наук МК-508.2010.7