



## РОЛЬ МУТАЦИИ ГЕНА ПАНКРЕАТИЧЕСКОГО СЕКРЕТОРНОГО ТРИПСИНА В РАЗВИТИИ ХРОНИЧЕСКОГО ПАНКРЕАТИТА

Кучерявый Ю.А.<sup>1</sup>, Бордин Д.С.<sup>2</sup>, Шулятьев И.С.<sup>2</sup>, Смирнов А.В.<sup>3</sup>, Тибилова З.Ф.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> ГОУ ВПО Московский государственный медико-стоматологический университет Минздравсоцразвития

<sup>2</sup> ГУЗ Центральный научно-исследовательский институт гастроэнтерологии ДЗ г. Москвы

<sup>3</sup> ФГЛПУ «Поликлиника №2 Минэкономразвития России», Москва

Кучерявый Юрий Александрович

103473, Россия, Москва, ул. Десятская, 20/1

E-mail: proped@mail.ru

### РЕЗЮМЕ

Впервые связь между мутациями в гене панкреатического секреторного ингибитора трипсина (SPINK1) у человека и развитием хронического панкреатита была установлена в 2000 году. К середине 2011 года число исследований, посвященных изучению влияния мутаций гена SPINK1 на развитие панкреатита, превысило 250, полученные результаты в значительной степени варьируют. По современным представлениям, мутации в гене SPINK1 связаны с развитием как острого, так и хронического панкреатита и определяются при всех его этиологических формах. В обзоре литературы приведены данные наиболее значимых исследований о роли мутаций гена SPINK1 при заболеваниях поджелудочной железы.

**Ключевые слова:** панкреатический секреторный ингибитор трипсина; мутации; хронический панкреатит.

### SUMMARY

For the first time the relationship between mutations in the pancreatic secretory trypsin inhibitor (SPINK1) in humans and the development of chronic pancreatitis was established in 2000.

By mid 2011 the number of studies on the influence of SPINK1 gene mutations on the development of pancreatitis exceeds 250, the results vary greatly. According to modern concepts, mutations in SPINK1 gene are associated with the development of both acute and chronic pancreatitis, and are defined in all etiological forms. Literature review shows the data of the most significant studies about the role of SPINK1 gene mutations in pancreatic diseases.

**Keywords:** pancreatic secretory trypsin inhibitor mutations; chronic pancreatitis.

Как известно, активность трипсина в поджелудочной железе (ПЖ) управляется главным образом панкреатическим секреторным ингибитором трипсина (ПИТ), который также известен (гомологичный ПИТ сывороточный белок) как serine protease inhibitor Kazal тип 1 (SPINK1), названный так по имени автора, выделившего этот белок из панкреатического сока в середине прошлого столетия [24]. В конце 80-х гг. прошлого века оказалось, что ПИТ синтезируется не только в ПЖ, но и в муциноproduцирующих клетках желудочно-кишечного тракта, а также в легких, печени, яичниках, грудных железах, в собирательных канальцах и переходном эпителии почечной лоханки [52].

ПИТ млекопитающих, как правило, имеет сигнальную часть на N-конце из примерно 20 аминокислот, в норме представлен одним или несколькими доменами Казала, которые у большинства биологических видов состоят из 50–60 остатков аминокислот [58]. Человеческий ген ПИТ содержит приблизительно 7,5 КБ и четыре экзона, он расположен на 5-й хромосоме (5q32). Анализ гена ПИТ показывает, что 40 bp фрагментов ДНК, расположенных между КБ-3,84 и -3,80, несут элемент, ответственный и за транскрипционную активность, и за интерлейкин-6-индуцированную экспрессию гена ПИТ, что объясняет целесообразность его гиперэкспрессии при остром воспалении для подавления активных форм

трипсина [62]. У человека ПИТ состоит из 79 аминокислот. Выделяют 2 части этого белка: первая — из 56 аминокислотных остатков, содержащая три дисульфидных мостика и специфичный для трипсина связывающий участок, сформированный связью Lys-Ile (лизин-изолейцин), и вторая часть — сигнальный пептид из 23 остатков аминокислот [3]. «Зрелый» ПИТ образуется после попадания сигнального пептида в полость эндоплазматического ретикула. Комплементарность ДНК гена ПИТ у человека и, например, крысы достигает 65% [58].

ПИТ синтезируется в ацинарных клетках ПЖ, содержится в зимогенных гранулах и действует как мощный естественный ингибитор трипсина (образует с трипсином прочную ковалентную связь, инактивируя его), предотвращая аутолиз ПЖ и, следовательно, развитие острого и хронического панкреатита. Доля ПИТ относительно всех белков панкреатического секрета колеблется в пределах 0,1–0,8% полного панкреатического белка [16; 46].

Итак, ПИТ представляет собой специфический субстрат для трипсина, необратимо связывающий серин фермента с лизином своего активного центра и тем самым блокирующий порядка 20% общего пула активированного трипсина в ткани ПЖ [53]. Количество синтезируемого ПИТ по отношению к трипсиногену составляет приблизительно 1 : 20 [19]. Когда уровень активности трипсина низкий, ПИТ за счет ингибирования трипсина предотвращает его последующую активацию и активацию других проэнзимов, однако количество трипсиногена значительно больше, чем ПИТ. Поэтому в период интенсивной активации трипсиногена ПИТ не может выполнять свою защитную роль. В этих обстоятельствах трипсин и трипсиноподобные ферменты возвращаются в цепь гидролиза, объединяющие две шаровидные области трипсина в R117, что вызывает длительную инактивацию трипсина и остановку каскада [1]. ПИТ также блокирует дальнейшую активацию выделения ферментов панкреатическими клетками посредством ингибирования протеазо-активированных рецепторов [18].

Учитывая значимую биологическую роль ПИТ в контроле над активными формами протеаз в ПЖ, логично предположить, что дисфункция этого белка, вызванная мутациями кодирующего гена, может быть причиной развития или фактором, повышающим риск развития, атаки острого панкреатита (ОП), и как следствие трансформации в хронический панкреатит (ХП) [40,58]. Интерес к этой проблеме подчеркивает большое количество научных работ, представленных в *табл. 1*. Так, согласно данным Национальной библиотеки США [20], число исследований, посвященных изучению влияния мутаций гена SPINK1 на развитие панкреатита, к середине 2011 года превысило 250, однако полученные результаты в значительной степени варьируют.

Впервые связь между мутациями в гене SPINK1 у человека и развитием ХП была установлена в 2000 году [7; 45; 59]. Несколькими годами позже

была создана экспериментальная модель, демонстрирующая, что у гетерозиготных мышей с мутацией гена ПИТ не обнаруживаются никаких макро- и микроскопических изменений ПЖ, в том числе и признаков ХП. В то же время у гомозиготных мышей с мутацией гена ПИТ ПЖ исчезла. Поскольку у этих мышей авторами были найдены остатки некротизированной ацинарной паренхимы, был сделан вывод о произошедшем аутолизе ПЖ, что, с одной стороны, подтверждает значение мутации гена ПИТ [42], а с другой — свидетельствует о высокой пенетрантности при гомозиготном наследовании мутации. В двух других последовательных недавних экспериментальных исследованиях было доказано, что у трансгенных мышей с увеличенной продукцией ПИТ (на 190%) отмечаются менее тяжелые воспалительные и структурные изменения при серулеин-индуцированном ОП, а также менее выраженный поствоспалительный фиброз [39; 40]. Эта экспериментальная модель также доказывает физиологическую роль ПИТ в превенции ОП и ХП.

Полученные экспериментально данные также косвенно подтверждаются работами, в которых применялись синтетические низкомолекулярные ингибиторы протеаз (в России до сих пор как лекарственные препараты они не зарегистрированы), проникающие в отличие от старых антипротеазных препаратов (контрикал) непосредственно в паренхиму и протоки ПЖ. Так, использование габексата у людей уменьшало риск развития ОП после эндоскопической ретроградной панкреатохолангиографии [6]. Применение другого синтетического ингибитора протеаз — камостата уменьшало выраженность фиброза в ПЖ за счет влияния на активность звездчатых клеток [15]. Ингибиторы трипсина, непосредственно уменьшая активность этого фермента, вероятно, предотвращают нежелательные эффекты (в том числе экспрессию провоспалительных цитокинов и аутокринную активацию миофибробластов), которые следуют вслед за массивной интрапанкреатической активацией зимогенов, приводящей к панкреатиту [40]. Уже давно имеется гипотеза, что индукция фиброза ПЖ, по всей видимости, происходит посредством активации панкреатических звездчатых клеток [43]. Однако до сих пор неизвестно, активирует ли трипсин непосредственно звездчатые клетки или, что более вероятно, они превращаются в миофибробласты паракринным или аутокринным путем посредством экспрессии воспалительных медиаторов.

Итак, на основании известных фактов к настоящему моменту сложилась гипотеза, что если генетическая мутация ПИТ нарушает его функцию, то трипсин может легко вызывать аутолиз ПЖ с развитием ОП или ХП. Было предположено, что мутация гена ПИТ может вызывать предрасположенность к развитию ХП, понижая функцию блокирования активации трипсина [1]. Пять независимых групп на основании начатых одновременно исследований

Таблица 1

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ, ИДЕНТИФИЦИРОВАННЫЕ В ГЕНЕ SPINK1 ЗА ПЕРИОД 1996–2006 ГГ. [21] С ДОП., ИЗМ.							
Аминокислотный вариант	Локализация	Нуклеотидная замена *	N наблюдений	Первое описание/подтверждение	Клинические особенности	Исследования <i>in vitro</i>	
Большая делеция	Промотор - интрон 2	c.1-320_c.55 + 961del1336 bp	1	Masson et al. 2006 [37]	Masson et al. 2006 [37]		
	Промотор	c.1-253T > C	***	Chen et al. 2000 [11]; Witt et al. 2000 [59]			
	Промотор	c.1-215G > A	1	Kaneko et al. 2001 [23]; Kume et al. 2005 [29]		Kume et al. 2006 [30]	
	Промотор	c.1-215G > T	1	Chandak et al. 2002 [8]	Chandak et al. 2002 [8]		
	Промотор	c.1-164G > C	***	Bernardino et al. 2003 [4]			
	Промотор	c.1-147A > G	2	Keiles et al. 2006 [25]			
	Промотор	c.1-142T > C	1	Keiles et al. 2006 [25]			
	5' UTR**	c.1-53C > T	1	Witt et al. 2000 [59]			
	Промотор	c.1-41G > A	5	Keiles et al. 2006 [25]			
	Промотор	c.1-7T > G	***	Bernardino et al. 2003 [4]			
	p.M1T	Экзон 1	c.2T > C	1	Witt et al. 2000 [59]		
	p.L12F	Экзон 1		4	Keiles et al. 2006 [25]		
		Экзон 1	c.27delC	2	LeMeréchal et al. 2004 [33]	LeMeréchal et al. 2004 [33]	
L14P	Экзон 1	41T > C	1	Witt et al. 2000 [59]			
	Интрон 1	IVS1-62T > C	***	Witt et al. 2000 [59]			
	Интрон 1	IVS1-37T > C	****	Chen et al. 2000 [11]; Witt et al. 2000 [59]			
S25S	Экзон 2	75C > T	***	Bernardino et al. 2003 [4]			
	Интрон 2	IVS2 + 268A > G	****	Witt et al. 2000 [59]; Keiles et al. 2006 [25]			
	Интрон 2	IVS2-352A > G	***	Witt et al. 2000 [29]			
	Интрон 2	c.87 + 1G > A	1	LeMeréchal et al. 2004 [33]	LeMeréchal et al. 2004 [33]		
Y33stop	Экзон 3	98insA	***	Gaia et al. 2002 [14]			
p.N34S	Экзон 3	c.101A > G	> 200	Chen et al. 2000 [11]; Witt et al. 2000 [59]	Drenth et al. 2002 [13]; Threadgold et al. 2002 [55]; Truninger et al. 2002 [56]; Bhatia et al. 2002 [5]; Schneider et al. 2002 [50]; Teich et al. 2003 [54]; Keim et al. 2003 [26]; Perri et al. 2003 [44]; Matsubayashi et al. 2003 [38]; Chandak et al. 2004 [9]; Masamune et al. 2004 [36]; Gundling et al. 2004 [17]; Lempinen et al. 2005 [35]; Tukiainen et al. 2005 [57]; Kühn et al. 2005 [28]	Kuwata et al. 2002 [32]; Hirota et al. 2003 [18]	
p.D50E	Экзон 3	c.150T > G	1	Pfutzer et al. 2000 [45]			
p.Y54H	Экзон 3	c.160T > C	1	Schneider et al. 2002 [50]			

Аминокислотный вариант	Локализация	Нуклеотидная замена *	N наблюдений	Первое описание/подтверждение	Клинические особенности	Исследования <i>in vitro</i>
p.P55S	Экзон 3	с.163C > T	< 10	Witt et al. 2000 [59]; Pfutzer et al. 2000 [45]	Lempinen et al. 2005 [35]; Tukiainen et al. 2005 [57]	
p.R65Q	Экзон 3	с.194G > A	1	Ockenga et al. 2001 [41]		
p.K66N	Экзон 3		1	Keiles et al. 2006 [25]		
	Интрон 2	IVS2-23 A >T	***	Witt et al. 2000 [59]		
	Интрон 3	IVS3 + 2T > C	<10	Witt et al. 2000 [59]; Pfutzer et al. 2000 [45]		Kume et al. 2006 [30]
	Интрон	IVS3-1643G > C	***	Witt et al. 2000 [59]		
	Интрон 3	IVS3-604G > A	****	Witt et al. 2000 [59]		
	Интрон 3	IVS3-476T > G	***	Witt et al. 2000 [59]		
	Интрон 3	IVS3-321C > T	***	Witt et al. 2000 [59]		
	Интрон 3	IVS3-66-65insTTTT	****	Witt et al. 2000 [59]; Keiles et al. 2006 [25]		
	Интрон 3	IVS3 + 125C > A	1	Pfutzer et al. 2000 [45]		
	Интрон 3	IVS3 + 184T > A	< 10	Pfutzer et al. 2000 [45]; Keiles et al. 2006 [25]		
p.R67C	Экзон 4	с.199C > T	1	Kuwata et al. 2001 [31]; Hirota et al. 2003 [18]	Kuwata et al. 2001 [31]	
p.G77G	Экзон 4	с.231G > A	***	Pfutzer et al. 2000 [45]		
	3'UTR**	272C > T	***	Witt et al. 2000 [59]; Pfutzer et al. 2000 [45]		

**Примечания:**

\* В соответствии с данными L.Rowen и соавт. 1996 [48] (адаптировано S.E. Antonarakis 1998) [2].

\*\* UTR — нетранслируемый регион (*untranslated region*);

\*\*\* — полиморфизм;

\*\*\*\* — сцепленная с мутацией N34S.

сообщили о наличии у пациентов с ХП мутаций гена ПИТ, расположенного на 5-й хромосоме [10; 23; 31; 45; 59]. Проведенными в дальнейшем исследованиями действительно было доказано, что мутации в гене ПИТ связаны с развитием ХП [12; 41; 60; 61]. Однако значение и особенности наследования мутаций гена ПИТ до сих пор неодинаково интерпретируются различными группами исследователей.

Проведенные исследования идентифицировали варианты мутаций в гене ПИТ у больных ХП; с наибольшей частотой была обнаружена миссенс-мутация N34S в 3-м экзоне гена ПИТ [27; 59]. Следует отметить, что мутация N34S была выделена совместно с двумя интронными мутациями: IVS1-37T > C и IVS3-69insTTTT, причем аналогичный набор мутаций (N34S + IVS1-37T > C + IVS3-69insTTTT) наблюдался в различных странах мира [12; 13; 18; 45; 59]. Мутация N34S была выявлена у 20–23% больных с ХП [22], у больных идиопатическим ХП [45; 59], алкогольным ХП [61], и тропическим кальцифицирующим ХП, причем в последнем случае частота выявления мутаций достигла 50% [8; 47].

Доказательством выдвинутой теории о значительной роли мутации N34S в развитии ХП может служить следующее [18]:

а) данные, основанные на теоретическом компьютерном анализе (Chou-Fosman и Robson-Garnier), свидетельствующие, что мутация N34S может затрагивать строение близлежащего активного участка и уменьшать биологическую функцию ПИТ;

б) частота мутации N34S у больных ХП значительно выше, чем у лиц без признаков ХП;

в) частота ассоциации ХП у гомозиготных близнецов с наличием мутации N34S достигает 98 %, что предполагает наличие унаследованного рецессивного признака.

В последующем исследовании M. Hirota и соавт. (2003) в Японии было выявлено наличие еще двух мутаций в 4-м экзоне гена ПИТ (табл. 2). Одна из выявленных новых мутаций — R67C ранее не встречалась при проведении аналогичных исследований в других странах у больных ХП. На основании полученных данных авторы сделали вывод, что мутация R67C может быть типична только для

японцев [18]. Известно, что в норме ПИТ содержит три внутренних дисульфидных связи: 32С–61С, 39С–58С и 47С–79С. У больных ХП с выявленной мутацией R67C потенциально формируется дисульфидный мост между 67Cys и любым из других остатков цистеина. 67Cys может также формировать межмолекулярные дисульфидные связи типа гомодимера ПИТ или комплекса ПИТ с альбумином. Альтернативно 67Cys может легко быть окислен, и изменение молекулярной формулы также может приводить к отсутствию ингибирования трипсина.

Вторая мутация, найденная М. Hirota и соавт., локализовалась в 3-й нерасшифрованной области 4-го экзона — 272С > Т. Однако эта мутация была выявлена с высокой частотой даже у здоровых добровольцев и очевидно указывает на нормальный полиморфизм [18].

По результатам исследований, проведенных в Бразилии (А.Л.Ф.bernardino и соавт., 2003), были найдены четыре варианта замены в SPINK1 гене: -253Т > С и -164G > С (в промотирующей зоне), -7Т > G и с75С > Т (во 2-м экзоне). Три из этих замен с подобными частотами были найдены и среди пациентов контрольной группы (табл. 3), что, по всей видимости, также указывает на нормальный полиморфизм. Однако -253Т > С мутация достоверно чаще встречалась среди больных ХП, чем в контрольной группе (12,2% против 5,0%;  $p = 0,004$ ) [4].

Интересен тот факт, что среди выявленных мутаций не было отмечено ни одного случая

N34S либо R67C мутации, что трактовалось авторами как этническая особенность больных в Бразилии [4]. Результаты этих исследований достаточно сложно интерпретировать, поскольку подавляющее большинство обследованных было представлено больными алкогольным панкреатитом без какого-либо отягощенного анамнеза заболевания и только лишь двое больных (2,4%) имели наследственный анамнез, кроме того, отмечались достоверные возрастные и половые различия в основной и контрольной группах.

В 2004 году в Корее Lee К.Н., Yoon W.J. и соавт. проводилось исследование, в котором оценивали распространенность мутаций в гене SPINK1 при идиопатическом и алкогольном панкреатите. В результате авторы пришли к выводу, что мутации в данных генах не имеют отношения к развитию ХП в Корее [34].

Во Франции было обследовано 46 семей, не имеющих между собой родства, в состав каждой из которых входило по крайней мере два пациента с ХП. В результате были обнаружены две новые интронные мутации: с.27delС и с.87 + 1G > А. Первая мутация была обнаружена в двух семьях. В одной семье была продемонстрирована сегрегация с заболеванием на протяжении двух поколений с пенетрацией до 75%, но в другой эта же мутация

Таблица 2

ОБЗОР МУТАЦИЙ ГЕНА ПИТ В ЯПОНИИ (ПО HIROTA М. И СОАВТ. С СОКРАЩ., 2003) [18]				
Мутации	ХП (n = 74)	Идиопатический ювенильный ХП (n = 30)	Спорадические формы ХП (n = 44)	Здоровые лица (n = 66)
IVS1-37Т > С	8 (10,8%)	1 (3,4%)	0	0
Экзон 3: N34S	8 (10,8%)	1 (3,4%)	0	0
IVS3-69insTTTT	8 (10,8%)	1 (3,4%)	0	0
Экзон 4: R67C	1 (1,4%)	1 (3,4%)	0	0
Экзон 4: 272С > Т	2 (2,7%)	4 (13,3%)	6 (13,4%)	5 (7,6%)

Таблица 3

МУТАЦИИ И ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА SPINK1 В БРАЗИЛИИ (ПО А.bernARDINO И СОАВТ. С СОКРАЩ., 2003) [4]						
Ген	Локализация	Мутация	Полиморфизм	Частота в хромосомах пациентов	Частота в контрольной группе	P
SPINK1	Промоутер	—	-253Т > С	20/164 (12,2%)	20/400 (5,0%)	0,004
		—	-164G > С	4/164 (2,4%)	13/400 (3,3%)	0,788
	Экзон 1	—	-7Т > G	5/164 (3,0%)	8/300 (2,7%)	0,777
	Экзон 2	—	с75С > Т	1/164 (0,6%)	3/300 (1,0%)	1,000

проявила себя как фактор с низкой пенетрацией. Новая сплайсинговая мутация с.87 + 1G > A была обнаружена у одной семьи с наследственным анамнезом ХП [33].

В 2005 году в Финляндии изучалась связь мутаций SPINK1 гена с развитием ОП. В исследовании принимал участие 371 пациент с ОП, из которых 207 имели легкое и 164 — тяжелое течение заболевания. Этиология ОП во всех случаях была установлена. Большинство больных ( $n = 229$ ; 61,7%) перенесли алкогольный ОП. В качестве контрольной группы выступали 459 доноров крови. В результате мутация N34S была найдена у 29 (7,8%) пациентов и у 12 (2,6%) человек контрольной группы. Частота встречаемости мутации N34S была выше в подгруппах у пациентов с тяжелым течением ОП (15/164; 9,1%) и у пациентов с алкоголь-индуцированным ОП (21/229; 9,2%), что позволило авторам сделать вывод, что мутация N34S гена SPINK1 увеличивает восприимчивость к ОП [57].

A. Schneider подчеркивает, что мутации гена SPINK1 связаны с развитием как ОП, так и ХП и определяются при всех этиологических формах панкреатита (кроме аутоиммунного). Так как мутация N34S гена SPINK1 в общей популяции встречается довольно часто, маловероятно, что эта мутация самостоятельно инициирует развитие ХП. По мнению этого известного панкреатолога, вероятно, она представляет собой полигенетическую модель в совокупности с рядом других, до конца не определенных факторов (генетических и факторов окружающей среды) [51].

В 2004 году в Индии G.R. Chandak и соавт. анализировали связь мутаций гена SPINK1 с развитием рецидивирующих ОП и ХП. Было обследовано 290 лиц контрольной группы и 198 больных, у 120 из которых диагностирован идиопатический, у 41 — алкогольный и у 37 — семейный ХП. Кроме того, были обследованы 24 родственника пробандов с ХП, не имеющих признаков панкреатита. Было обнаружено, что мутация N34S

гена SPINK1 имеет выраженную корреляционную взаимосвязь с началом заболевания, развитием сахарного диабета, другими фенотипическими проявлениями. Авторы пришли к заключению, что в индийской популяции данная мутация играет большую роль в возникновении ХП [9].

В одном из исследований, проведенном в Италии, сопоставлялись клинические характеристики заболевания. Было обнаружено, что для ХП, связанного с мутациями в гене SPINK1, характерны относительно более позднее начало, стертая клиническая картина, частое развитие сахарного диабета, особенностью которого являлся ранний дебют [49].

Чуть менее десятилетия назад было высказано мнение, что именно интронные мутации (IVS1–37T > C + IVS3–69insTTTT), ассоциированные с мутацией N34S, в большей степени, чем собственно мутация N34S, могут быть связаны с нарушением функции ПИТ [18].

По результатам исследований V. Keim и соавт. (2003), сравнивших клинические особенности в группах больных ХП с мутациями генов PRSS1 и SPINK1, частота диабета, дилатация главного панкреатического протока и кальцификация были значительно выше в группе с наличием мутации N34S [26]. Это удивительно, поскольку мутация N34S расценивается, по крайней мере некоторыми авторами, как слабый генетический фактор риска. Высказывалось предположение, что мутация N34S может действовать только как модификатор болезни [45]. Отмечено, что приблизительно 1% всей популяции являются гетерозиготными носителями N34S [61]. При сравнении гетеро- и гомозиготных носителей N34S фенотипических различий выявлено не было (табл. 4) [26]. Напротив, результаты исследований V. Keim и соавт. (2003) показывают, что мутация N34S прогностически более неблагоприятна, чем мутации N29I или R122H. Этим данным соответствуют результаты исследований, в которых мутация N34S была найдена у 50% пациентов

Таблица 4

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПРИЗНАКОВ У ПАЦИЕНТОВ С ГОМО- И ГЕТЕРОЗИГОТНОЙ МУТАЦИЕЙ ПИТ N34S (ПО V.KEIM И СОАВТ. С СОКРАЩ., 2003) [26]			
Симптомы	Гомозиготы ( $n = 11$ )	Гетерозиготы ( $n = 33$ )	<i>P</i>
Длительность анамнеза (годы)	5,0 ± 2,7	5,0 ± 2,6	0,921
Исходный возраст (годы)	11,0 ± 5,5	13,0 ± 9,3	0,159
Диабет	0 (0%)	2 (6%)	1,000
Кальцификация	3 (27%)	9 (27%)	1,000
Дилатация главного панкреатического протока	3 (27%)	15 (45%)	0,480
Оперативное лечение	2 (18%)	7 (21%)	1,000
Пребывание в стационаре	11 (100%)	32 (97%)	1,000

с тропическим кальцифицирующим ХП, являющимся достаточно тяжелой формой ХП, которая характеризуется высокой степенью кальцификации и тяжестью диабета [8,47]. В то же время, по данным J. Drenth и соавт. (2002), у лиц с гомозиготными мутациями N34S заболевание проявляется позднее, чем у больных с мутациями гена PRSS1 [13].

Несомненно, одной из первоочередных задач, которую предстоит решить в ближайшем будущем, является определение связи мутаций в гене SPINK1 с возникновением рака ПЖ. В 2003 г. в Японии было проведено исследование, в котором оценивалась распространенность мутации N34S гена SPINK1 у 172 больных ХП, у 200 пациентов с аденокарциномой ПЖ и у 177 больных из контрольной группы с хроническим холециститом. В итоге мутация была определена у 5 (2,9%) больных ХП, у 4 (2,0%) больных раком ПЖ и у 3 (1,7%) — из контрольной группы. Лишь у трех больных ХП прослеживался семейный анамнез, и ни у одного из них не было обнаружено данной мутации. У двоих пациентов-носителей мутации отмечалось употребление алкоголя в анамнезе. У больных семейным раком ПЖ мутации N34S выявлено не было. Статистических отличий между группами авторы не обнаружили, что позволило сделать заключение об отсутствии

связи между раком ПЖ и мутацией N34S. [36]. Вместе с тем с учетом приведенных выше данных нельзя исключить, что среди большого количества носителей мутации N34S вероятен повышенный риск развития рака ПЖ, т.к. носительство данной мутации может служить связующим звеном между длительно существующим ХП и раком ПЖ.

Таким образом, имеющиеся в настоящее время данные позволяют предположить существенную роль мутации N34S гена SPINK1 в развитии ХП. Разнонаправленность полученных в разных регионах мира данных, по всей видимости, обусловлена как влиянием этнических отличий между популяциями, так и различным дизайном исследований, что пока не позволяет провести систематизированный анализ этих результатов. Не исключено, что гетерозиготное носительство мутации N34S при воздействии факторов внешней среды может определенным образом индуцировать развитие ХП и способствовать более тяжелому его течению. Ответы на многие вопросы будут получены с выходом в свет результатов проводимых в настоящее время широкомасштабных эпидемиологических исследований.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Маев И.В. Болезни поджелудочной железы. В 2-х томах / И.В. Маев, Ю.А. Кучерявый. — М.: ОАО «Издательство «Медицина», издательство «Шико». 2008. — 976 с.
2. Antonarakis S.E. Recommendations for a nomenclature system for human gene mutations // Hum. Mutation 1998. Vol. 11(1). P. 1–3.
3. Bartelt D.C. Greene The primary structure of the human pancreatic secretory trypsin inhibitor. Amino acid sequence of the reduced S-aminoethylated protein / D.C. Bartelt, R. Shapanka, L.J. // Arch. Biochem. Biophys. 1977. Vol. 179(1). P. 189–199.
4. Bernardino A.L. CFTR, PRSS1 and SPINK1 mutations in the development of pancreatitis in Brazilian patients / A.L. Bernardino, D.R. Guarita, C.B. Mott et al. // JOP. 2003. Vol. 4(5). P. 169–177.
5. Bhatia E. Tropical calcific pancreatitis: strong association with SPINK1 trypsin inhibitor mutations / E. Bhatia, G. Choudhuri, S.S. Sikora et al. // Gastroenterology. 2002. Vol. 123(4). P. 1020–1025.
6. Cavallini G. Gabexate for the prevention of pancreatic damage related to endoscopic retrograde cholangiopancreatography. Gabexate in digestive endoscopy-Italian Group / G. Cavallini, A. Tittobello, L. Frulloni, et al. // N. Engl. J. Med. 1996. Vol. 335(13). P. 919–923.
7. Cavestro G.M. Genetics of chronic pancreatitis / G.M. Cavestro, G. Comparato, A. Nouvenne et al. // JOP. J. Pancreas (Online). 2004. Vol. 6(1). P. 53–59.
8. Chandak G.R. Mutations in the pancreatic secretory trypsin inhibitor gene (PSTI/SPINK1) rather than the cationic trypsinogen gene (PRSS1) are significantly associated with tropical calcific pancreatitis / G.R. Chandak, M.M. Idris, D.N. Reddy et al. // J. Med. Genet. 2002. Vol. 39. P. 347–351.
9. Chandak G.R. Absence of PRSS1 mutations and association of SPINK1 trypsin inhibitor mutations in hereditary and non-hereditary chronic pancreatitis / G.R. Chandak, M.M. Idris, D.N. Reddy et al. // Gut. 2004. Vol. 53. P. 723–728.
10. Chen J.M. Mutational analysis of the human pancreatic secretory trypsin inhibitor (PSTI) gene in hereditary and sporadic chronic pancreatitis / J.M. Chen, B. Mercier, M.P. Audrezet et al. // J. Med. Genet. 2000. Vol. 37. P. 67–69.
11. Chen J.M. Mutational analysis of the human pancreatic secretory trypsin inhibitor (PSTI) gene in hereditary and sporadic chronic pancreatitis / J.M. Chen, B. Mercier, M.P. Audrezet et al. // J. Med. Genet. 2000. Vol. 37(1). P. 67–69.
12. Chen J.M. Mutations of the pancreatic secretory trypsin inhibitor (PSTI) gene in idiopathic chronic pancreatitis / J.M. Chen, B. Mercier, M.P. Audrezet et al. // Gastroenterology. 2001. Vol. 120. P. 1061–1063.
13. Drenth J.P. Mutations in serine protease inhibitor Kazal type 1 are strongly associated with chronic pancreatitis / J.P. Drenth, te R. Morsche, J.B. Jansen // Gut. 2002. Vol. 50. P. 687–692.
14. Gaia E. Germline mutations in CFTR and PSTI genes in chronic pancreatitis patients / E. Gaia, P. Salacone, M. Gallo et al. // Dig. Dis. Sci. 2002. Vol. 47(11). P. 2416–2421.
15. Gibo J. Camostat mesilate attenuates pancreatic fibrosis via inhibition of monocytes and pancreatic stellate cells activity / J. Gibo, T. Ito, K. Kawabe et al. // Lab. Invest. 2005. Vol. 85(1). P. 75–89.
16. Greene L.J. Human pancreatic secretory trypsin inhibitor / L.J. Greene, M.H. Pubols, D.C. Bartelt // Methods Enzymol. 1976. Vol. 45. P. 813–825.
17. Gundling F. Chronic parotitis: not another SPINKosis / F. Gundling, F. Reitmeyer, A. Tannapfel et al. // Dig. Dis. 2004. Vol. 22(3). P. 292–295.
18. Hirota M. From acute to chronic pancreatitis: the role of mutations in the pancreatic secretory trypsin inhibitor gene / M. Hirota, K. Kuwata, M. Ohmuraya et al. // JOP. J. Pancreas (Online). 2003. Vol. 4(2). P.83–88.
19. Hirota M. The role of trypsin, trypsin inhibitor, and trypsin receptor in the onset and aggravation of pancreatitis / M. Hirota, M. Ohmuraya, H. Baba // J. Gastroenterol. 2006. Vol. 41. P. 832–836.
20. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
21. <http://www.uni-leipzig.de/pancreasmutation>
22. Jansen J.B. Genetic basis of chronic pancreatitis / J.B. Jansen, te R.A. Morsche, van H.P. Goor et al. // Scand. J. Gastroenterol. 2002. Vol. 236 (Suppl.). P. 91–94.
23. Kaneko K. Analysis of the human pancreatic secretory trypsin inhibitor (PSTI) gene mutations in Japanese patients with chronic pancreatitis / K. Kaneko, Y. Nagasaki, T. Furukawa et al. // J. Hum. Genet. 2001. Vol. 46. P. 293–297.
24. Kazal L. Isolation of a crystalline trypsin inhibitor-anticoagulant protein from pancreas / L. Kazal, D. Spicer, R. Brahinsky // J. Am. Chem. Soc. 1948. Vol. 70. P. 3034–3040.
25. Keiles S. Identification of CFTR, PRSS1, and SPINK1 mutations in 381 patients with pancreatitis / S. Keiles, A. Kammesheidt // Pancreas. 2006. Vol. 33(3). P. 221–227.
26. Keim V. The course of genetically determined chronic pancreatitis / V. Keim, H. Witt, N. Bauer et al. // JOP. 2003. Vol. 4(4). P. 146–154.
27. Keim V. Role of genetic disorders in acute recurrent pancreatitis / V. Keim // World J. Gastroenterol. 2008. Vol. 14. P. 1011–1015.
28. Kühn A.C. Chronic pancreatitis with pancreaticolithiasis and pseudocyst in a 5-year-old boy with homozygous SPINK1 mutation /

- A.C. Kühn, N. Teich, K. Caca et al. // *Pediatr. Radiol.* 2005. Vol. 35(9). P. 902–905.
29. Kume K. Mutations in the serine protease inhibitor Kazal Type 1 (SPINK1) gene in Japanese patients with pancreatitis / K. Kume, A. Masamune, H. Mizutamari et al. // *Pancreatol.* 2005. Vol. 5(4–5). P. 354–360.
30. Kume K. [-215G>A; IVS3+2T>C] mutation in the SPINK1 gene causes exon 3 skipping and loss of the trypsin binding site / K. Kume, A. Masamune, K. Kikuta et al. // *Gut.* 2006. Vol. 55(8). P. 1214.
31. Kuwata K. Genetic mutations in exons 3 and 4 of the pancreatic secretory trypsin inhibitor in patients with pancreatitis / K. Kuwata, M. Hirota, H. Sugita et al. // *J. Gastroenterol.* 2001. Vol. 36. P. 612–618.
32. Kuwata K. Functional analysis of recombinant pancreatic secretory trypsin inhibitor protein with amino-acid substitution / K. Kuwata, M. Hirota, H. Shimizu et al. // *J. Gastroenterol.* 2002. Vol. 37(11). P. 928–934.
33. Le Marechal C. Two Novel Severe Mutations in the Pancreatic Secretory Trypsin Inhibitor Gene (SPINK1) Cause Familial and/or Hereditary Pancreatitis / C. Le Marechal, J.M. Chen, C. Le Gall et al. // *Hum. Mutat.* 2004. Vol. 23(2). P. 205–210.
34. Lee K.H. Mutations of SPINK1 and PRSS1 gene in Korean patients with chronic pancreatitis / K.H. Lee, W.J. Yoon, J.K. Ryu et al. // *Korean J. Gastroenterology.* 2004. Vol. 44(2). P. 93–98.
35. Lempinen M. Mutations N34S and P55S of the SPINK1 gene in patients with chronic pancreatitis or pancreatic cancer and in healthy subjects: a report from Finland / M. Lempinen, A. Paju, E. Kempainen et al. // *Scand. J. Gastroenterol.* 2005. Vol. 40(2). P. 225–230.
36. Masamune A. Hereditary pancreatitis as the premalignant disease: a Japanese case of pancreatic cancer involving the SPINK1 gene mutation N34S / A. Masamune, H. Mizutamari, K. Kume et al. // *Pancreas.* 2004. Vol. 28(3). P. 305–310.
37. Masson E. Detection of a large genomic deletion in the pancreatic secretory trypsin inhibitor (SPINK1) gene / E. Masson, C. Le Marechal, J.M. Chen et al. // *Eur. J. Hum. Genet.* 2006. Vol. 14(11). P. 1204–1208.
38. Matsubayashi H. Polymorphisms of SPINK1 N34S and CFTR in patients with sporadic and familial pancreatic cancer / H. Matsubayashi, N. Fukushima, N. Sato et al. // *Cancer Biol. Ther.* 2003. Vol. 2(6). P. 652–655.
39. Nathan J.D. Transgenic expression of pancreatic secretory trypsin inhibitor-I ameliorates secretagogue-induced pancreatitis in mice / J.D. Nathan, J. Romac, R.Y. Peng et al. // *Gastroenterology.* 2005. Vol. 128(3). P. 717–727.
40. Nathan J.D. Protection against chronic pancreatitis and pancreatic fibrosis in mice overexpressing pancreatic secretory trypsin inhibitor / J.D. Nathan, J. Romac, R.Y. Peng et al. // *Pancreas.* 2010. Vol. 39(1). P. 24–30.
41. Ockenga J. Low prevalence of SPINK1 gene mutations in adult patients with chronic idiopathic pancreatitis / J. Ockenga, T. Dork, M. Stuhmann // *J. Med. Genet.* 2001. Vol. 38. P. 243–244.
42. Ohmuraya M. Generation of pancreatic secretory trypsin inhibitor gene knockout mice. – In: Ogawa M, Yamamoto T, Hirota M, eds. *The Biological Response to Planned and Unplanned Injuries: Cellular, Molecular and Genetic Aspects* / M. Ohmuraya, K. Hirokawa, M. Araki et al. // Amsterdam (NL): Elsevier. 2004.
43. Omary M.B. The pancreatic stellate cell: a star on the rise in pancreatic diseases / M.B. Omary, A. Lugea, A.W. Lowe et al. // *J. Clin. Invest.* 2007. Vol. 117(1). P. 50–59.
44. Perri F. 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 / F. Perri, A. Piepoli, P. Stanziale et al. // *Eur. J. Hum. Genet.* 2003. Vol. 11(9). P. 687–692.
45. Pfulzer R.H. SPINK1/PSTI polymorphisms act as disease modifiers in familial and idiopathic chronic pancreatitis / R.H. Pfulzer, M.M. Bar-mada, A.P. Brunskill et al. // *Gastroenterology.* 2000. Vol. 119. P. 615–623.
46. Pubols M.H. Trypsin inhibitor from human pancreas and pancreatic juice / M.H. Pubols, D.C. Bartelt, L.J. Greene // *J. Biol. Chem.* 1974. Vol. 249. P. 2235–2242.
47. Rossi L. SPINK1/PSTI mutations are associated with tropical pancreatitis in Bangladesh / L. Rossi, R.H. Pfulzer, S. Parvin et al. // *Pancreatol.* 2001. Vol. 1. P. 242–245.
48. Rowen L. The complete 685-kilobase DNA sequence of the human beta T cell receptor locus / L. Rowen, B.F. Koop, L. Hood // *Science.* 1996. Vol. 272(5269). P. 1755–1762.
49. Salacone P. CFTR, SPINK1 and PRSS1 genes mutations in patients affected by sporadic chronic pancreatitis / P. Salacone, C. Arduino, P. Salmin et al. // *JOP. J. Pancreas (Online).* 2004. Vol. 6(5). P. 507–508.
50. Schneider A. SPINK1/PSTI mutations are associated with tropical pancreatitis and type II diabetes mellitus in Bangladesh / A. Schneider, A. Suman, L. Rossi et al. // *Gastroenterology.* 2002. Vol. 123(4). P. 1026–1030.
51. Schneider A. Serine protease inhibitor Kazal type 1 mutations and pancreatitis / A. Schneider // *Gastroenterol. Clin. North. Am.* 2004. Vol. 33. P. 789–806.
52. Shibata T. Distribution of pancreatic secretory trypsin inhibitor in various human tissues and its inactivation in the gastric mucosa / T. Shibata, M. Ogawa, N. Takata et al. // *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* 1987. Vol. 55. P. 243–248.
53. Tani S. The protective effect of the trypsin inhibitor urinastatin on cerulein-induced acute pancreatitis in rats / S. Tani, M. Otsuki, H. Itoh et al. // *Pancreas.* 1988. Vol. 3(4). P. 471–476.
54. Teich N. N34S, a pancreatitis associated SPINK1 mutation, is not associated with sporadic pancreatic cancer / N. Teich, H.U. Schulz, H. Witt et al. // *Pancreatol.* 2003. Vol. 3(1). P. 67–68.
55. Threadgold J. The N34S mutation of SPINK1 (PSTI) is associated with a familial pattern of idiopathic chronic pancreatitis but does not cause the disease / J. Threadgold, W. Greenhalf, I. Ellis et al. // *Gut.* 2002. Vol. 50(5). P. 675–681.
56. Truninger K. Mutations of the serine protease inhibitor, Kazal type 1 gene, in patients with idiopathic chronic pancreatitis / K. Truninger, H. Witt, J. Köck et al. // *Am. J. Gastroenterol.* 2002. Vol. 97(5). P. 1133–1137.
57. Tukiainen E. Pancreatic secretory trypsin inhibitor (SPINK1) gene mutations in patients with acute pancreatitis / E. Tukiainen, M.L. Kyllan-paa, E. Kempainen et al. // *Pancreas.* 2005. Vol. 30(3). P. 239–242.
58. Wang G.P. Pancreatic secretory trypsin inhibitor: More than a trypsin inhibitor / G.P. Wang, C.S. Xu // *World J. Gastrointest. Pathophysiol.* 2010. Vol. 1(2). P. 85–90.
59. Witt H. Mutations in the gene encoding the serine protease inhibitor, Kazal type 1 are associated with chronic pancreatitis / H. Witt, W. Luck, H.C. Hennies et al. // *Nat. Genet.* 2000. Vol. 25. P. 213–216.
60. Witt H. SPINK1 mutations in chronic pancreatitis / H. Witt, H.C. Hennies, M. Becker // *Gastroenterology.* 2001. Vol. 120. P. 1060–1061.
61. Witt H. Mutation in the SPINK1 trypsin inhibitor gene, alcohol use, and chronic pancreatitis / H. Witt, W. Luck, M. Becker et al. // *JAMA.* 2001. Vol. 285. P. 2716–2717.
62. Yasuda T. Identification of the IL-6-responsive element in an acute-phase-responsive human pancreatic secretory trypsin inhibitor-encoding gene / T. Yasuda, M. Ogawa, A. Murata et al. // *Gene.* 1993. Vol. 131. P. 275–280.

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