

ВЛИЯНИЕ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ФАКТОРОВ НА ПРОГНОЗ И ТЯЖЕСТЬ ТЕЧЕНИЯ ОСТРОГО АЛКОГОЛЬНОГО И ИДИОПАТИЧЕСКОГО ПАНКРЕАТИТА

М. А. Рукосуева, Е. В. Снытко

Красноярская государственная медицинская академия, ректор – д.м.н., проф. И.П.

Артюхов; кафедра общей хирургии, зав. – д.м.н., проф. Ю.С. Винник.

Научные руководители: д.м.н., проф. Ю.С. Винник, проф. Д.В. Черданцев.

Резюме. *Исследован генетический фон популяции жителей Красноярского края в отношении мутаций генов PRSSI, SPINK1, CFTR, GSTM1 GSTT1, доказано влияние мутаций данных генов на риск возникновения, характер течения и исход острого алкогольного и идиопатического панкреатита.*

Ключевые слова: *острый панкреатит, ген катионного трипсиногена (PRSSI), ген секреторного ингибитора трипсина (SPINK1), ген трансмембранного регуляторного белка муковисцидоза (CFTR), ген глутатин-S-трансферазы M1 (GSTM1), ген глутатин-S-трансферазы T1 (GSTT1).*

Острый панкреатит – одно из самых сложно диагностируемых и, вместе с тем, широко распространенных заболеваний пищеварительной системы. Клинические проявления чрезвычайно разнообразны, и поставить диагноз бывает непросто даже с применением современных лабораторных и инструментальных методов. Специфическая терапия острого панкреатита практически отсутствует. Заболеванию сопутствуют целый ряд осложнений, угрожающих жизни, а клиническое течение и исход непредсказуемы.

Острый панкреатит является мультифакториальным заболеванием, так как в его патогенезе участвуют как наследственные факторы, так неблагоприятные факторы окружающей среды. Перспективным является изучение генетических механизмов,

вовлеченных в патогенез острого панкреатита, так как именно они способны раскрыть тонкости течения заболевания на молекулярном уровне.

Целью настоящего исследования было дать оценку влиянию генетических факторов на риск возникновения, характер течения и исход острого панкреатита алкогольной и идиопатической этиологии.

В качестве исследуемых генов была выбрана диагностическая панель из 5 генов наиболее часто, по данным литературы, ассоциированных с развитием панкреатита:

1. Ген катионного трипсиногена (PRSS1), при мутации которого трипсиноген становится устойчивым к аутолизу и подверженным более легкой аутоактивации [1, 2, 4, 5].;
2. Ген секреторного ингибитора трипсина (SPINK1), мутации которого нарушают естественный процесс блокады активированного трипсина в ткани поджелудочной железы [2, 3, 4];
3. Ген трансмембранного регулятора муковисцидоза (CFTR). Его разнообразные мутации реализуются на клеточном уровне недостаточной гидратацией и защелачиванием первичного секрета экзокринных желез и увеличением его вязкости [4, 6];
4. Гены ферментов глутатион-трансфераз GSTM1 и GSTT1. Данные ферменты осуществляют биотрансформацию ксенобиотиков, в том числе этанола, во второй фазе детоксикации. Белковый продукт гена GSTM1 экспрессируется в панкреатической паренхиме, поэтому принимает участие в обезвреживании экзо- и эндогенных токсинов непосредственно в поджелудочной железе. Фермент гена GSTT1 участвует в детоксикации многих поллютантов, его делеция увеличивает вероятность хромосомных повреждений при воздействии оксидов и пероксидов, промежуточных метаболитов, в том числе метаболитов этанола [7].

Материалы и методы

Были обследованы 150 жителей г. Красноярска и Красноярского края, в период с 2003 по 2006 годы. В группу сравнения вошли 69 здоровых человека, являющиеся

жителями Красноярска и его регионов, из них мужчин – 42 и женщин – 27, средний возраст которых составил 30 лет. В первую исследуемую группу вошли 49 больных с алкогольной этиологией заболевания, из них мужчин было 31, женщин – 18. Средний возраст их составил 42,8 года. Вторая группа исследования включала 32 больных острым панкреатитом идиопатической этиологии, из которых было 19 мужчин и 13 женщин, средний возраст больных равнялся 39,2 года.

Диагноз устанавливался на основании анамнеза, данных объективного обследования, лабораторных и инструментальных методов. В момент поступления состояние у всех больных соответствовало средней степени тяжести.

Забор крови для исследования генетической предрасположенности к панкреатиту производили в первые сутки нахождения больного в стационаре.

Молекулярно-генетический анализ выполняли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Для генов PRSS1 и SPINK1 использовали ПЦР-ПДРФ-анализ с рестрикторами BstFN1 («Сибэнзим») и TspR1 («New England BioLab») соответственно. Анализ мутаций CFTR гена проводили с использованием диагностического набора фирмы «ДНК-лаборатория» на 8 наиболее распространенных мутаций: del21kb, delF508, del1507, 1677delTA, 2143delT, 2184insA, 394delTT, 3821delT. Визуализацию результатов осуществляли электрофоретически в 3% агарозном геле (для генов глутатион-S-трансфераз, PRSS1 и SPINK1) и в 7% – полиакриламидном геле для гена CFTR с окраской бромистым этидием.

Результаты и обсуждение

Общий генетический фон жителей города Красноярска и его окрестностей по частоте встречаемости исследуемых генов представлен в таблице 1.

Таблица 1

Частота встречаемости исследуемых генов в популяции жителей г.

Красноярска и его окрестностей

Важно отметить, что мутации генов PRSS1, SPINK1 и CFTR наблюдались исключительно у больных острым панкреатитом, что доказывает их роль в качестве генов предрасположенности к развитию острого панкреатита.

Сравнительный анализ распределения частоты встречаемости полиморфных вариантов гена GSTM1 в исследуемых группах и среди здоровых выявил ряд закономерностей (табл. 2).

Таблица 2

Распределение частот генотипов и аллелей генов GSTM1 у здоровых лиц и больных острым алкогольным и идиопатическим панкреатитом г. Красноярск (в %)

Примечания: «+» – обычный (нормальный) аллель гена; «0» – делеционный («нулевой») аллель гена.

В группе больных острым алкогольным панкреатитом была зафиксирована самая высокая частота встречаемости нулевого генотипа GSTM1 – 51% (у каждого второго больного), тогда как среди здоровых доноров она составила лишь 20,3%. Это позволяет полагать, что выявление данной мутации в гомозиготном состоянии, повышает риск возникновения острого алкогольного панкреатита на 51%.

Таблица 3

Распределение частоты полиморфных вариантов гена GSTT1 у здоровых лиц и больных острым алкогольным и идиопатическим панкреатитом (в %)

Примечания: «+» – обычный (нормальный) аллель гена и «0» – делеционный («нулевой»).

При исследовании распределения частот полиморфных вариантов гена GSTT1 среди здоровых лиц и больных острым алкогольным панкреатитом достоверных различий не получено (табл. 3), а в группе больных идиопатическим панкреатитом частота встречаемости нулевого варианта гена GSTT1 оказалась даже ниже, чем среди здоровых (3,1% и 17,4% соответственно). Это свидетельствует об отсутствии взаимосвязи генотипа «нулевого» аллеля GSTT1 с риском развития острого панкреатита.

Мутации генов катионного трипсиногена, секреторного ингибитора трипсина и трансмембранного регуляторного белка муковисцидоза в виду редкой встречаемости (табл. 1) также не являются предрасполагающими факторами в отношении риска возникновения острого панкреатита.

По клиническому течению заболевания среди больных острым алкогольным панкреатитом его отечная форма зарегистрирована у 37 (75,5%) больных, деструктивные – у 12 (24,5%). В группе больных острым идиопатическим панкреатитом деструктивные формы развились у 9 (28,1%) больных, а отечная форма – у 23 (71,9%).

У большинства больных с развившимися деструктивными формами алкогольного панкреатита генотипирование показало наличие мутаций, оказавших неблагоприятное воздействие на течение и исход заболевания: у 6 (50%) больных с деструктивным панкреатитом были выявлены «нулевые» генотипы GSTM1; гомозиготный делеционный вариант гена GSTT1 верифицирован – у 5 (41,6%); у 3 из 12 – с панкреонекрозом (25%) алкогольной этиологии обнаружены «нулевые» генотипы одновременно двух генов GSTT1 и GSTM1. У двух больных с тотальным поражением поджелудочной железы было зафиксировано по одной мутации генов катионного трипсиногена и регулятора муковисцидоза, частота данных мутаций составила по 8,33%.

Больные с двойными мутациями отличались наиболее тяжелым течением панкреатита с развитием тотального поражения поджелудочной железы и забрюшинной клетчатки, выраженной клиникой эндотоксикоза, при этом благоприятный исход заболевания имел место лишь у одного больного, тогда как двое больных (66,7%) погибли в течение первых 10 суток с момента госпитализации.

Генотипирование полиморфизмов исследуемых генов в группе больных острым идиопатическим панкреатитом показало, что у 8 из 9 больных деструктивными формами имеются мутации генов, непосредственно участвующих в регуляции ферментативной функции поджелудочной железы (PRSS1, SPINK1, CFTR), что доказывает значимость

этих мутаций в развитии деструктивных форм острого идиопатического панкреатита. У больных с отечной формой панкреатита ни одной мутации генов PRSS1, SPINK1, CFTR обнаружено не было.

При этом у пяти больных с деструктивными формами заболевания были выявлены «двойные» мутации исследуемых генов в различных комбинациях (табл. 4). У трех больных зафиксирована мутация N34S гена SPINK1 в гетерозиготном состоянии.

Таблица 4.

Частота сочетанных мутаций среди больных деструктивной формой острого идиопатического панкреатита

Важно отметить, что больные, имевшие «двойные» мутации как в группе с острым алкогольным, так и острым идиопатическим панкреатитом, характеризовались тяжелым течением панкреатита с выраженной клиникой эндотоксикоза, быстрым формированием очага некроза в ткани поджелудочной железы и парапанкреатической клетчатки. Летальный исход в течение первых 10 суток от момента госпитализации имел место у 2 из 3 больных алкогольным и у 4 из 5 – идиопатическим панкреонекрозом.

THE INFLUENCE OF HEREDITARY FACTOR ON SEVERE OF ACUTE ALCOHOLIC AND IDIOPATHIC PANCREATITIS IN KRASNOYARSK TERRITORY

E.V. Snytko, M.A. Rukosueva

Krasnoyarsk state medical academy

Genetic background of population of Krasnoyarsk Territory concerning mutations of PRSS1, SPINK1, CFTR, GSTM1, GSTT1 genes was researched. The influence of gene mutations on risk, nature and outcome of acute alcoholic and idiopathic pancreatitis was revealed.

Литература

1. Маев И.В., Кучерявый Ю.А. Роль мутации гена катионического трипсиногена (PRSS1-гена) в патогенезе хронического панкреатита // Клинич. медицина. – 2004. – №10. – С.

12-16.

2. Охлобыстин А.В. Новые данные о патогенезе наследственного панкреатита // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктологии. – 1999. – №4. – С.18-23.
3. Bernardino A.L.F., Guarita D.R., Carlos B.M. et al. CFTR, PRSS1 and SPINK1 Mutations in the Development of Pancreatitis in Brazilian Patients // JOP. J Pancreas (Online). – 2003. – Vol.4, N 5. – P.169-177.
4. Charnley R.M. Hereditary pancreatitis // World J. Gastroenterol. – 2003. – Vol. 9, N 1. – P.1-4.
5. Mutations in the cationic trypsinogen gene and evidence for genetic heterogeneity in hereditary pancreatitis / C. Ferec, O. Raguene, R. Salomon et al. // J. Med. Genet. – 1999. – Vol. 36. – P. 228–232.
6. Sharer N., Schwarz M., Malone G. et al. Mutations of the cystic fibrosis gene in patients with chronic pancreatitis // N. Engl. J. Med. – 1998. – Vol. 339. – P.645-652.
7. Standop J., Schneider M.B., Ulrich A. et al. The pattern of xenobiotic-metabolizing enzymes in the human pancreas // J. Toxicol. Environ. Health. – 2002. – Vol. 65, N 19. – P.1379-400.

Таблица 1

**Частота встречаемости исследуемых генов в популяции жителей г.
Красноярска и его окрестностей**

Исследуемый ген	Механизм мутации	Частота встречаемости генов в популяции	
		n	%
GSTM1 (глутатион-S-трансфераза)	Протяженная делеция	42	28,0
GSTT1 (глутатион-S-трансфераза)	Протяженная делеция	23	15,3
PRSS1 (катионный трипсиноген)	R122H (замена CGC→CAT)	6	4,0
SPINK1 (секреторный ингибитор трипсина)	N34S (замена A→G)	3	2,0
CFTR (трансмембранный регуляторный белок муковисцидоза)	del F508 (выпадение триплета нуклеотидов)	4	2,6

Таблица 2

Распределение частот генотипов и аллелей генов GSTM1 у здоровых лиц и больных острым алкогольным и идиопатическим панкреатитом г. Красноярск (в %)

Ген	Группа	Частота встречаемости				
		аллелей		генотипов		
		+	0	+/+	+/0	0/0
GSTM1	Здоровые лица	54,9	45,1	30,1	49,6	20,3
	Остр. алког. панкреатит	28,45	71,55	7,9	41,1	51,0
	Идиопат. острый панкреатит	75,0	25,0	59,4	31,2	9,4

Примечания: «+» – обычный (нормальный) аллель гена; «0» – делеционный («нулевой») аллель гена.

Таблица 3

Распределение частоты полиморфных вариантов гена *GSTT1* у здоровых лиц и больных острым алкогольным и идиопатическим панкреатитом (в %)

Ген	Характеристика группы	Частота встречаемость в группах				
		аллелей		генотипов		
		+	0	+/+	+/0	0/0
GSTT1	Здоровые доноры	58,7	41,3	34,8	47,8	17,4
	Больные острым алкогольным панкреатитом	57,1	42,9	34,7	44,9	20,4
	Больные острым идиопатическим панкреатитом	93,8	6,2	90,7	6,2	3,1

Примечания: «+» – обычный (нормальный) аллель гена и «0» – делеционный («нулевой»).

Таблица 4.

**Частота сочетанных мутаций среди больных деструктивной формой острого
идиопатического панкреатита**

Мутации исследуемых генов	Частота встречаемости признаков мутации в исследуемых генах (гетерозиготный вариант)			
	R122H мутация гена PRSS1		Делеция гена GSTT1	
	n	%	n	%
N34S мутация гена SPINK1 (гомозиготный вариант)	1	3,1	—	—
delF508 мутация генаCFTR (гетерозиготный вариант)	1	3,1	—	—
Делеция гена GSTM1 (гомозиготный вариант)	2	6,2	1	3,1