УДК: 616.37-002-036.11-036.12:575-22-036

ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА КАТИОННОГО ТРИПСИНОГЕНА ПРИ ОСТРОМ ПАНКРЕАТИТЕ

Мадатов Курбонбой Аминбоевич – Ph.D., старший преподаватель
Исмаилов Уктам Сафаевич – д.м.н., профессор
Шаропов Аслиддин Насриддинович – докторант
Ташкентский государственный медицинский университет (Ташкент, Узбекистан)

Аннотация. *В данной статье рассматривается влияние полиморфизма Arg122His в гене PRSS1 на частоту возникновения острого панкреатита. В механизме развития острого панкреатита важную роль наряду с генетическими факторами играют факторы окружающей среды. Выявлены этнические различия в частоте распределения аллелей и генотипов полиморфного варианта данного гена. Дальнейшее развитие молекулярно-генетических исследований путем изучения генетических основ панкреатита имеет решающее значение для разработки новых методов диагностики и определения стратегии лечения с индивидуальным подходом к каждому пациенту.*

Ключевые слова: *катионный трипсиноген (PRSS1), полиморфизм гена.*

O‘TKIR PANKREATITDA KATION TRIPSINOGEN GENI POLIMORFIZMINING PROGNOSTIK IMKONIYATLARI

Madatov Kurbonboy Aminboyevich – Ph.D., katta o‘qituvchi
Ismailov Uktam Safayevich – t.f.d., professor
Sharopov Asliddin Nasriddinovich – tayanch doktorant
Toshkent davlat tibbiyot universiteti (Toshkent, O‘zbekiston)

Annotatsiya. *Ushbu maqolada PRSS1 genidagi Arg122His polimorfizmining o‘tkir pankreatit yuzaga kelish chastotasiga ta’siri tahlil qilinadi. O‘tkir pankreatitning rivojlanish mexanizmida genetik omillar bilan bir qatorda atrof-muhit omillari ham muhim ahamiyatga ega. Mazkur genning polimorf varianti allellari va genotiplarining tarqalish chastotasida etnik farqlar aniqlangan. Pankreatitning genetik asoslarini o‘rganish orqali molekulyar-genetik tadqiqotlarni yanada rivojlantirish, har bir bemorga individual yondashuvni hisobga olgan holda diagnostikaning yangi usullarini ishlab chiqish va davolash strategiyasini belgilash uchun hal qiluvchi ahamiyatga ega.*

Kalit so‘zlar: *kation tripsinogen (PRSS1), gen polimorfizmi.*

PROGNOSTIC POTENTIAL OF CATIONIC TRYPSINOGEN GENE POLYMORPHISM IN ACUTE PANCREATITIS

Madatov Kurbonboy Aminboevich – Ph.D., senior lecturer
Ismailov Uktam Safaevich - D.M.Sc., professor
Sharopov Asliddin Nasriddinovich – doctoral student
Tashkent state medical university (Tashkent, Uzbekistan)

Abstract. *This article examines the impact of the Arg122His polymorphism in the PRSS1 gene on the incidence of acute pancreatitis. In the mechanism of acute pancreatitis development, environmental factors play an important role alongside genetic factors. Ethnic differences in the frequency distribution of alleles and genotypes of this gene's polymorphic variant were identified. Further advancement of molecular genetic research through studying the genetic basis of pancreatitis is crucial for developing new diagnostic methods and determining treatment strategies with an individualized approach to each patient.*

Keywords: *cationic trypsinogen (PRSS1), gene polymorphism.*

Актуальность проблемы. Острый панкреатит считают важной проблемой современной медицины. Несмотря на развитие современных подходов к лечению этого заболевания, количество случаев острого панкератита постоянно увеличивается. По темпам роста острый панкреатит опережает все другие неотложные заболевания органов брюшной полости [1, 4, 5]. На фоне увеличения числа больных острым панкреатитом наблюдается тенденция к увеличению доли летальных форм. Постоянно высокий уровень смертности при остром панкреатите связан со сложным, многоуровневым патогенезом заболевания, а некоторые механизмы реализации патологических реакций до сих пор остаются неясными [2, 4, 6, 8].

В развитие заболевания вносят вклад как генетическая предрасположенность и сложное взаимодействие множества генов, так и различные факторы внешней среды. Вопросы, затрагивающие генетические механизмы развития панкреатита и его осложнений, на данный момент изучены недостаточно. В настоящее время выявлен ряд мутаций, которые рассматриваются как основные факторы наследственной предрасположенности к панкреатиту. Например, из-за мутации в гене катионического трипсиногена (PRSS1) трипсиноген устойчив к аутолизу и подвержен легкой аутоактивации, которая может привести к развитию генетически обусловленного острого панкреатита. Мутация в гене панкреатического ингибитора трипсина (SPINK1) нарушает инактивацию трипсина в тканях поджелудочной железы, что приводит к активации ферментов поджелудочной железы, протеолитическому некрозу тканей поджелудочной железы и лизису стенок венул [3, 7, 9].

Опубликовано небольшое количество работ, посвященных генетическим аспектам панкреатита, однако в клинической практике не выявлен спектр генетического полиморфизма, приемлемый для комплексной диагностики панкреатита. В литературе часто встречаются противоречивые сведения о роли того или иного полиморфизма в патогенезе развития панкреатита и важности его выявления. Также существуют расхождения между результатами исследований европейских и азиатских научных центров. Таким образом, определение оптимального диагностического спектра генетических полиморфизмов позволяет своевременно прогнозировать развитие острого панкреатита.

Целью нашего исследования явилось прогнозирование и улучшение результатов лечения острого панкреатита путем оценки клинической значимости полиморфизмов гена катионического трипсиногена (PRSS1).

Материалы и методы исследования. Данное исследование проводилось в хирургическом отделении Республиканской клинической больницы No1 и в отделении молекулярной генетики РГИАМ. Для решения этих проблем был проведен анализ диагностических и лечебных мероприятий у 68 больных, госпитализированных с острым панкреатитом различной этиологии.

Для проведения исследования, в зависимости от методов диагностики и лечения, нами были сформированы стандартизированные группы по возрасту и полу. Пациенты были разделены на две группы: - основная (n=68), пациенты с клиническими признаками острого панкреатита; - контрольная (n=70), здоровые люди, у которых изучался полиморфизм Arg122His в гене PRSS1.

Контрольную группу составили 38 здоровых мужчин (n=38) и женщин (n=32) в возрасте от 25 до 66 лет (средний возраст 56,7±8,4). Возраст пациентов основной группы составил от 29 до 75 лет (средний возраст - 57,3±9,3 года). Из них 37 (52,2%) женщин и 31 (47,8%) мужчин. Таким образом, сравниваемые группы больных были сопоставимы по полу (основная: 37 мужчин, 31 женщина; контрольная: 38 мужчин, 32 женщины; χ^2= 0.018, p=0.89) и возрасту (56,7±8,4 и 57,3±9,3; t=0.048, df=146, p=24.17), и эти сравниваемые группы не отличались друг от друга по вышеуказанным показателям (p<0,05).

Диагноз острого панкреатита устанавливается на основании сочетания как минимум двух из следующих признаков, исключая другую хирургическую патологию: типичная клиническая картина (сильная поясообразная боль, не купируемая антиспазмодиками, неконтролируемая рвота, употребление алкоголя, острой пищи или холелитиаз в анамнезе и др. Характерные признаки ультразвукового исследования: увеличение, снижение эхогенности, мутные контуры поджелудочной железы; наличие свободной жидкости в брюшной полости; гиперэнзимемия (гиперамилаземия или гиперлипаземия), превышение верхней границы нормы в три раза и более.

Образцы, используемые для генетической типизации, взяты из полной периферической венозной крови. Материалы собирались с помощью вакуумных трубок с антикоагулянтом ЭДТА-К3, наносимым на стену. Выделение ДНК для анализа лейкоцитов полной крови проводили с использованием реактива "ДНК-экспресс-кровь" российского производства (ООО "НПФ "Литех," Москва).

Анализ данных проводился с использованием статистического пакета "STATISTICA" версии 6.0 с соблюдением принципов и требований статистической обработки материала в биологических и медицинских исследованиях.

Результаты исследования и их обсуждение. Ген PRSS1 расположен на длинном плече 7-й хромосомы (локализация 7q34) и состоит из 5 экзонов, кодирующих катионный трипсиноген (или трипсиноген 1). Катионный трипсиноген составляет 2/3 от общего трипсиногена поджелудочной железы. На сегодняшний день описано более 20 различных мутаций в гене PRSS1, большинство из которых в гетерозиготной форме приводят к развитию аутосомно-доминантного варианта панкреатита. В этой части мы изучили полиморфизм Arg122His гена PRSS1.

Исследование началось с изучения соответствия молекулярно-генетически исследуемых групп равновесию Харди-Вайнберга. При этом частотное распределение генотипов полиморфизма генов у больных острым панкреатитом и в общей выборке узбекской популяции со-

ответствовало равновесию Харди-Вайнберга (p > 0,05).

Анализ распределения частот генотипов и аллелей в контрольной группе показал, что частота встречаемости аллеля Arg составила 99,3%, а частота встречаемости аллеля His - 0,7%. Гомозиготы по аллелю Arg (генотип Arg/Arg) составили 98,6% (n=69) пациентов, гетерозиготы (генотип Arg/His) - 1 (1,4% (n=1) пациента. Гомозиготный генотип His/His пациентов и контрольной группы не наблюдался в обеих группах (табл.1).

Таблица 1.

Анализ результатов исследования влияния полиморфизма Arg122His в гене PRSS1 на частоту острого панкреатита

Полиморфизм		Аллель, генотип	Основная группа (n=68)		Контрольная группа (n=70)		χ^2, p, OR (95% CI)
			n	%	n	%	
Arg122His в гене PRSS1	Аллель	Arg	133	97,8	139	99,3	χ^2= 1,1, p =0,3; OR= 0,32 (0,03- 3,1)
		His	3	2,2	1	0,7	
	Генотип	Arg/Arg	65	95,6	69	98,6	χ^2= 1,1, p =0,3; OR= 0,31 (0,03- 3,1)
		Arg/His	3	4,4	1	1,4	
		His/His	0	0	0	0.0	

Результаты анализа на основе изучения полиморфных маркеров генов фактора PRSS1 (Arg122His) показали, что аллель (χ^2= 1,1, p =0,3; OR= 0,32 (0,03- 3,1)), и вероятность воздействия по генотипу оказалась недостоверной. Это свидетельствует о практически полном отсутствии роли полиморфизма генотипа PRSS1 (Arg122His) в генезе острого панкреатита.

Однако при отдельном изучении этих показателей только у больных с алкогольной этиологией (алиментарной) были получены иные результаты (табл.2).

Таблица 2.

Анализ результатов исследования влияния полиморфизма Arg122His в гене PRSS1 на частоту алкогольного (алиментарного) острого панкреатита

Полиморфизм		Аллель, генотип	Основная группа (n=29)		Контрольная группа (n=70)		χ^2, p, RR, OR (95% CI)
			n	%	n	%	
Arg122His в гене PRSS1	Аллель	Arg	55	94,8	139	99.3	χ^2= 4,12, p =0,042; RR=2,64 (1,44-4,9); OR= 7,6 (0,77- 3,1)
		His	3	5,2	1	0.7	
	Генотип	Arg/Arg	26	89,7	69	98,6	χ^2= 3,84, p =0,0499; RR=2,6 (1,4-5); OR= 7,4 (0,74- 74,1)
		Arg/His	3	10,3	1	1,4	
		His/His	0	0	0	0	

Полученные результаты показывают, что хотя полиморфизм гена PRSS1 (Arg122His), которому посвящена основная часть данного исследования, не имеет достоверного значения в развитии острого панкреатита в целом, при остром панкреатите алкогольной (алиментарной) этиологии полиморфизм этого гена играет статистически значимую роль (p<0,05).

При этом на уровне генотипа полиморфизма гена PRSS1 (Arg122His) в основной группе при остром панкреатите алкогольной этиологии гомозигота Arg/Arg составила 26 (89,7%), а гетерозигота Arg/His - 3 (10,3%). Сравнение с контрольной группой показало, что вероятность острого панкреатита алкогольной этиологии достоверно выше (χ^2= 3,84, p =0,0499), относительный риск (RR) - в 2,6 раза выше, отношение шансов (OR) - в 7,4 раза выше.

Согласно полученным результатам, вероятность острого панкреатита алкогольной этиологии также показала высокие значения на алгельном уровне: вероятность была достоверно высокой (χ^2= 4,12, p =0,042), относительный риск (RR) был в 2,64 раза выше, отношение шансов (OR) - в 7,6 раза выше, риск в группе подверженных (Risk in Exposed) составил 75%, риск в группе неподверженных (Risk in Unexposed) - 28,4%, а общий риск (Overall Risk) - 29,3%.

Следовательно, хотя полиморфизм Arg122His в гене PRSS1 не оказывает существенного влияния на общие показатели острого панкреатита, он имеет высокую вероятность участия в возникновении острого панкреатита алкогольной (алиментарной) этиологии.

Одним из основных аспектов нашего исследования было изучение влияния исследуемых генных полиморфизмов на морфологический тип острого панкреатита.

В первую очередь мы изучили влияние полиморфизма гена PRSS1 (Arg122His) на морфологический тип острого панкреатита (таблица 3).

Таблица 3.

Влияние полиморфизма гена PRSS1 (Arg122His) на морфологический тип острого панкреатита

Группа	Частота генотипа, %			Частота аллеля, %	
	Arg/Arg	Arg/His	His/His	Arg	His
Здоровые (n=70)	69 (98,6%)	1 (1,4%)	0	139 (99,3%)	1 (0,7%)
Острый отечный панкреатит (n=45)	44 (64,7%)	1 (1,5%)	0	89 (65,4%)	1 (0,7%)
Стериальный и гнойный панкреонекроз (n=23)	21 (30,9%)	2 (2,9%)	0	44 (32,4%)	2 (1,5%)
P*	χ^2=0,1; p=0,75; RR=1,2, OR=1,6			χ^2=0,1; p=0,75; RR=1,2, OR=1,6	
P**	χ^2=2,93; p=0,09; RR=2,9, OR=6,6			χ^2=2,88; p=0,09; RR=2,8, OR=6,3	
P***	χ^2=1,51; p=0,22; RR=2,1, OR=4,2			χ^2=1,48; p=0,22; RR=2, OR=4	

p - разница между здоровыми людьми и пациентами с острым отечным панкреатитом;*

*p** - разница между здоровыми людьми и пациентами со стерильным и инфицированным панкреонекрозом;*

*p*** - разница между пациентами с острым отечным панкреатитом и пациентами со стерильным и инфицированным панкреонекрозом*

По результатам таблицы 3 показаны различия между морфологическими типами острого панкреатита для полиморфизма гена PRSS1 (Arg122His). При этом вероятность острого отечного панкреатита достоверно не различалась на уровне генотипа и аллеля (χ^2=0,1; p=0,75; RR=1,2, OR=1,6; Risk in Exposed=50%, Risk in Unexposed=38,9%, Overall Risk=39,1% и χ^2=0,1; p=0,75; RR=1,2, OR=1,6; Risk in Exposed=50%, Risk in Unexposed=39%, Overall Risk=39,1%). Тем не менее, вероятность этого состояния была в 1,6 (OR) раза выше, а диагностическая ценность составила 50%. При этом различий между генотипом и аллелем практически не наблюдалось.

Изучение вероятности стерильного и инфицированного панкреонекроза при полиморфизме гена PRSS1 (Arg122His) на уровне генотипов и аллелей также не дало достаточно достоверных результатов (χ^2=2,93; p=0,09; RR=2,9, OR=6,6). Однако было выявлено, что показатели вероятности стерильного и инфицированного панкреонекроза были несколько выше, чем при остром отечном панкреатите (OR=6,6; Risk in Exposed=66,7% и OR=1,6; Risk in Exposed=50%).

При сравнительном изучении полиморфизма гена PRSS1 (Arg122His) при остром отечном панкреатите и стерильном и инфицированном панкреонекрозе были получены низкие показатели как на уровне генотипа, так и на уровне аллеля (χ^2=1,51; p=0,22; RR=2,1, OR=4,2; Risk in Exposed=66,7%, Risk in Unexposed=32,3%, Overall Risk=33,8% и χ^2=1,48; p=0,22; RR=2, OR=4; Risk in Exposed=66,7%, Risk in Unexposed=33,1%, Overall Risk=33,8%).

Исходя из вышеизложенного, можно сделать вывод, что полиморфизм гена PRSS1 (Arg122His) достоверно влияет на возникновение острого панкреатита (p<0,05), но не оказывает достоверного влияния на его морфологические формы (p>0,05). Однако это увеличивает вероятность некротических изменений в несколько раз (OR=6,6).

Заключение. Таким образом, в механизме развития острого панкреатита важную роль наряду с генетическими факторами играют факторы внешней среды. На сегодняшний день определена роль полиморфизма гена PRSS1 (Arg122His), участвующего в механизме развития панкреатита. Выявлены этнические различия в распределении частот аллелей и генотипов полиморфного варианта данного гена. Дальнейшее развитие молекулярно-генетических исследований путем изучения генетических основ заболевания при панкреатите имеет важное значение для разработки новых методов диагностики и определения тактики лечения с индивидуальным подходом к каждому пациенту. Изученные нами полиморфизмы гена PRSS1 (Arg122His) поразному влияют на развитие острого панкреатита, факторы, приводящие к нему (алкоголь), и течение заболевания. При этом полиморфизм гена PRSS1 (Arg122His) достоверно играет роль в развитии острого панкреатита при алкогольном панкреатите.

ЛИТЕРАТУРА

1. Тарасенко С. В., Натальский А. А., Богомолов А. Ю., Баконина И. В., Кадыкова О. А., Андрианова К. В. Генетические полиморфизмы как предрасполагающие факторы хронического панкреатита. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2018; Т. 159, № 11. С. 38-43.

2. Шульпекова Ю. О., Кардашева С. С., Охлобыстин А. В., Ивашкин В. Т. Роль генетических факторов в развитии и прогрессировании панкреатита. Вопросы детской диетологии. 2020; Т. 18, № 3. С. 19-28.

3. Arif, A.; Jaleel, F.; Rashid, K. Accuracy of BISAP score in prediction of severe acute pancreatitis. Pak. J. Med. Sci. 2019, 35, 1008–1012. [CrossRef]

4. Mofidi, R.; Du_, M.;Wigmore, S.; Madhavan, K.; Garden, O.; Parks, R. Association between early systemic inflammatory response, severity of multiorgan dysfunction and death in acute pancreatitis. Br. J. Surg. Inc. Eur. J. Surg. Swiss Surg. 2006, 93, 738–744. [CrossRef]

5. Toth, E.; Maleth, J.; Zavogyan, N.; Fanczal, J.; Grassalkovich, A.; Erdos, R.; Pallagi, P.; Horvath, G.; Tretter, L.; Balint, E.R.; et al. Novel mitochondrial transition pore inhibitor N-methyl-4-isoleucine cyclosporin is a new therapeutic option in acute pancreatitis. J. Physiol. 2019, 597, 5879–5898. [CrossRef]

6. Vasudevan, S.; Goswami, P.; Sonika, U.; Thakur, B.; Sreenivas, V.; Saraya, A. Comparison of Various Scoring Systems and Biochemical Markers in Predicting the Outcome in Acute Pancreatitis. Pancreas 2018, 47, 65–71. [CrossRef] [PubMed]

7. Wu, B.U.; Johannes, R.S.; Sun, X.; Tabak, Y.; Conwell, D.L.; Banks, P.A. The early prediction of mortality in acute pancreatitis: A large population-based study. Gut 2018, 57, 1698–1703. [CrossRef] [PubMed]

8. Watanabe T, Yamashita K, Arai Y, et al. Chronic fibroinflammatory responses in autoimmune pancreatitis depend on IFN-α and IL-33 produced by plasmacytoid dendritic cells. J Immunol 2017; 198:3886-3896.

9. Minaga K, Watanabe T, Hara A, et al. Identification of serum IFN-α and IL-33 as novel biomarkers for type 1 autoimmune pancreatitis and IgG4-related disease. Sci Rep 2020; 10:14879.