



ЗНАЧЕНИЯ АНАЛИЗА ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ И ОБЩЕГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ МЕЖДУ НИМИ В РАЗВИТИИ ОСТРОГО ПАНКРЕАТИТА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Турсунов Фирдавс Нуриддинович¹

1 курс базового докторанта хирургии

¹Ташкентская медицинская академия Узбекистана.

Исмаилов Уктам Сафаевич²

кафедра хирургии и трансплантологии д.м.н., профессор

²Ташкентской медицинской академии, Узбекистана.

<https://doi.org/10.5281/zenodo.7223352>

Аннотация. В данной статье представлена информация об анализе значимости полиморфизма генов цитокинов и общего взаимодействия при панкреатите.

Ключевые слова: Острый панкреатит, взаимодействием генетических, наследственная предрасположенность, генетические механизмы, интерлейкин-1, интерлейкин-6, интерлейкин-10, генетический полиморфизм.

Annotation. This article provides information on the analysis of the significance of cytokine gene polymorphisms and general interactions in pancreatitis.

Key words: acute pancreatitis, interaction of genetic, genetic predisposition, genetic mechanisms, interleukin-1, interleukin-6, interleukin-10, genetic polymorphism.

Актуальность проблемы: Среди острых хирургических заболеваний острый панкреатит составляет 6,5%, занимая третье место среди других заболеваний органов брюшной полости после острого аппендицита и острого холецистита.

Диагностические трудности при этом заболевании встречаются в 8-10% случаях, летальность при тяжелых формах достигает 50% и выше.

По данным зарубежных авторов, в США ежегодно госпитализируют около 21 000 больных острым панкреатитом [2-4]. В России, Западной Европе и Северной Америке заболеваемость различными формами острого панкреатита составляет 80 случаев на 100 000 населения в год [4,7,10,24]. По мнению различных авторов, диагностика и прогноз острого панкреатита представляет собой совокупность ряда параметров в сочетании с комплексными мерами оценки и прогноза (Ranson, Osborne, APACHE-2, SAPS), направленными на определение риска летального исхода на ранних стадиях.

Однако точно прогнозировать динамику патологического состояния при их использовании сложно. Выявление дополнительных субъектов тяжелого острого панкреатита и высокой вероятности летального исхода у больных с органной дисфункцией остается актуальным вопросом, особенно у больных с тяжелым течением заболевания. Анализ литературы последних лет показывает, что роль генетических факторов до конца не изучена. Согласно современным представлениям об этиологии и патогенезе, развитие ОП определяется сложным взаимодействием генетических и средовых факторов [2-4].

В этой связи представляет интерес изучение этиопатогенетических факторов деструктивных форм острого панкреатита с целью его прогнозирования и раннего оперативного лечения. Обзор данных современной литературы свидетельствует о пристальном внимании исследователей к генетическим факторам риска развития панкреатита. Первые идеи генетического детерминирования предрасположенности к

панкреатиту были высказаны еще в середине XX века. Тогда впервые заговорили о наследственном хроническом панкреатите [26]. Заболевание характеризуется периодическими атаками острого панкреатита в отсутствие известных провоцирующих факторов, дебютирует в детстве и обнаруживается, по крайней мере, у двух других членов семьи. Так, L. Le Vodíc et al. [32], изучив 249 членов семьи из восьми поколений, установили, что данная нозология наследуется по аутосомно-доминантному типу с неполной (80%) пенетрантностью. Эти работы и положили начало изучению генетических изменений, связанных с панкреатитом.

Согласно современным представлениям об этиологии и патогенезе, ОП представляет собой заболевание, развитие которого определяется сложным взаимодействием генетических и средовых факторов. Несмотря на многочисленные исследования, проведенные в последние годы, генетические механизмы реализации предрасположенности к развитию ОП и его осложнений изучены недостаточно [2–4].

Z. Yang et al. [1], показал, что мутация 308A/G гена не повышает риск развития острого панкреатита (аналогичные результаты получены и в отношении варианта 238G/A). Для интерлейкинов найдено множество полиморфных вариантов. Показано, что генотип 174C/C интерлейкина-6 ассоциирован с острым панкреатитом билиарной этиологии [28]. Генотип 251A/T интерлейкина-8, по одним данным, чаще встречается у больных панкреатитом, а по другим – присутствует с одинаковой частотой и у больных, и у здоровых. Различий в частоте различных вариантов генотипа интерлейкина-10 (1082A/G, 819T/C и 592A/C) и интерлейкина-6 (174G/C) не найдено [27, 30].

Хорошо известно, что важнейшую роль в патогенезе ОП и его осложнений играет активация цитокинового каскада, сопровождающаяся выбросом различных медиаторов воспаления и способствующая деструктивно-воспалительным изменениям поджелудочной железы [2–5]. Важнейшими провоспалительными цитокинами являются интерлейкин-1 (IL-1) и туморнекротизирующий фактор альфа (TNF α). Они вызывают образование на внутренней оболочке стенки сосудов очагов адгезии лейкоцитов, которые, проникая через сосудистую стенку, стимулируют синтез и выделение лейкоцитами и эндотелиальными клетками интерлейкина-6 (IL-6) и интерлейкина-8 (IL-8), тем самым заставляя клетки продуцировать лейкотриены, гистамин, простагландины, оксид азота и другие медиаторы воспаления [6]. IL-6 основной медиатор ответа белков острой фазы воспаления, его уровень отражает активность всех провоспалительных цитокинов [7,8,9]. Примечательно, что длительное повышение концентрации IL-6 в сыворотке крови у больных с деструктивным панкреатитом коррелирует высокой частотой развития осложнений и летальностью пациентов [10]. Интерлейкин-10 (IL-10) относится к группе противовоспалительных цитокинов и является ингибитором активности Т-хелперов 1-го типа. Основная его функция состоит в угнетении синтеза цитокинов и снижении активности макрофагов, в том числе продукции провоспалительных цитокинов [6].

Изучение роли полиморфизмов генов цитокинов в развитии ОП остается актуальным направлением исследований. Так, исследования по изучению роли полиморфизмов генов двух основных провоспалительных интерлейкинов IL-1 (rs1143634 и rs16944) и IL-6 (rs1800795 и rs1800796) в развитии ОП в китайской популяции показали, что у носителей генотипа +3954T/T IL-1 повышен риск развития ОП [11]. Также установлена

связь полиморфизма (rs5029924) гена TNF α IP3 с риском развития ССВР при ОП вследствие повышения продукции белка A20 у жителей Китая [12]. В проведенном китайскими учеными мета-анализе, включавшем 1220 больных ОП и 1351 здорового индивида, выявлено отсутствие взаимосвязи ОП и полиморфизмов генов IL-1 β : 3954 C/T (rs1143634) и 511 C/T (rs16944), IL-6: 174 G/C (rs1800795) и 634 C/G (rs1800796), IL-10: 1082 A/G (rs1800896), 819 C/T (rs1800871) и 592 C/A (rs1800872) [4], что может свидетельствовать о межпопуляционных различиях в ассоциациях генов с риском развития болезни. Изучение роли полиморфизмов генов цитокинов в развитии ОП остается актуальным направлением исследований.

Заслуживает внимание следующее исследование, в котором изучена генетические аспекты ОП:

Диагноз ОП установлен в соответствии с критериями классификации «Атлант-92» и её модификаций, предложенных Международной ассоциацией панкреатологов - International Association of Pancreatology (г. Кочин, 2011г.) и Международной рабочей группой по классификации ОП в 2012 году (Acute Pancreatitis Classification Working Group) с использованием общеклинических, лабораторных (общий и биохимический анализы крови) и инструментальных (ультразвуковое исследование и магнитно-резонансная томография поджелудочной железы, эзофагогастродуоденоскопия) методов исследования [13,21].

У всех обследуемых проводились забор венозной крови для молекулярно-генетических исследований. Геномная ДНК выделена стандартным методом — путем фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование полиморфизмов (rs16944) гена IL-1, (rs1800795) гена IL-6, (rs1800896) гена IL-10 проведено с использованием полимеразной цепной реакции в режиме реального времени путем дискриминации аллелей с помощью TaqMan зондов на амплификаторе CFX96 (Bio-Rad Laboratories, США) с использованием протоколов, опубликованных в литературе [15,22]. С целью проверки качества генотипирования 10% проб было выбрано случайным образом «случай контроль» для повторного анализа, результаты которого не отличались от первоначальных. Для оценки ассоциаций аллелей и генотипов изучаемых полиморфизмов генов с риском развития ОП использован критерий χ^2 и отношение шансов (OR) с 95% доверительными интервалами (CI). Статистический анализ осуществлен с использованием программы Statistica 6.0 («StatSoft», США).

За статистически достоверные различия приняты значения, при которых $p < 0,05$ [14,24].

При изучении результатов исследований выяснено следующее.

Представлена частота выявления аллелей и генотипов полиморфизмов (rs16944) гена IL-1, (rs1800795) гена IL-6, (rs1800896) гена IL-10. Генотипы исследуемых полиморфизмов находились в соответствии с распределением Харди-Вайнберга ($p > 0,05$). Как видно из приведенных данных, аллель 511T (OR=0,76, 95%CI 0,59–0,97; $p=0,03$) и генотип 511TT (OR=0,32, 95% CI 0,20–0,53; $p=0,005$) были ассоциированы с пониженным риском развития ОП, а при генотипе 511CT IL-1 отмечается повышенный риск ОП (OR=2,02, 95% CI 1,42–2,87; $p=0,3$). Статистически значимых различий в частотах выявления аллелей и генотипов полиморфизмов (rs1800795) гена IL-6, (rs1800896) гена IL-10 не установлено.

Анализ ассоциации парных сочетаний генотипов IL-1 и IL-6 позволил установить, что комбинация генотипов 511CT×174GC (OR=2,25, 95%CI 1,45–3,49; p=0,0018) ассоциирована с повышенным риском развития ОП, а комбинации генотипов 511TT×174 GG (OR=0,09, 95% CI 0,02–0,41; p=0,0001), 511TT×174GC (OR=0,56, 95%CI 0,32–0,99; p=0,04), 511TT×174CC (OR=0,21, 95%CI 0,06–0,76; p=0,009), 511CC×1082GG (OR=0,15, 95%CI 0,04–0,44; p=0,0001) и 511CC×1082GA (OR=0,41, 95% CI 0,22–0,75; p=0,0033), наоборот, свидетельствуют о низком риске развития заболевания.

В ходе изучения исследований, проведенных учеными, была выявлена следующая информация: Статистически значимых различий в частотах выявления аллелей и генотипов полиморфизмов (rs1800795) гена IL-6, (rs1800896) гена IL-10, здоровых лиц показало, что комбинации этих полиморфизмов не оказывают влияния на риск развития ОП. Согласно результатам анализа парных сочетаний генотипов исследуемых генов с риском развития ОП при употреблении алкогольных напитков в течение 10 лет и более у пациентов с комбинацией генотипов 511CT×174GC риск развития заболевания повышен при алкогольном анамнезе более 10 лет (OR=2,88, 95%CI 1,59–5,23; p=0,0004) [23,24,25].

Результаты исследования показали, что комбинация генотипов полиморфизмов 511CT×174GC генов IL-1 и IL-6 ассоциирована с риском развития ОП. Результаты анализа парных сочетаний генотипов исследуемых генов с риском развития заболевания при употреблении алкогольных напитков в течение 10 лет и более свидетельствуют, что у пациентов с комбинацией генотипов 511CT×174GC повышен риск развития ОП при алкогольном анамнезе более 10 лет. В течение последних лет проведено большое количество исследований по изучению ассоциаций полиморфизмов генов цитокинов с риском развития ОП [4,11,12,16–18]. Так, английские ученые не выявили ассоциации полиморфизма 3954 C/T гена IL-1 с риском развития ОП среди европейцев [18,29]. Проведенный китайскими учеными метаанализ, в который были включены 1220 больных ОП и 1351 здоровый индивид, позволил установить связь полиморфизма 251 T/A гена IL-8 с развитием ОП среди китайцев, однако ассоциации изученных полиморфизмов генов IL-1β (rs1143634), IL-1β (rs16944), IL-6 (rs1800795), IL-6 (rs1800796), IL-10 (rs1800896), IL-10 (rs1800871), IL-10 (rs1800872) с развитием ОП не установлено [4]. В других исследованиях по изучению роли полиморфизмов 174 G/C и 634C/G гена IL-6 и 511 C/T гена IL-1β [20], 3954 C/T гена IL-1 и 1082 A/G гена IL-10, проведенных среди китайцев, ассоциаций с риском развития ОП не обнаружено, однако установлена важная роль данных полиморфизмов генов цитокинов в развитии септического шока [19].

Исследования по изучению роли полиморфизмов генов трех основных провоспалительных цитокинов IL-1β (rs1143634), IL-1β (rs16944), IL-6 (rs1800795), IL-6 (rs1800796) в развитии ОП показали, что среди китайцев у носителей (rs1143634) генотипа TT был повышен риск развития ОП [12]. Проведенное нами изучение роли полиморфизмов генов цитокинов генотипов (rs16944) гена IL-1, (rs1800795) гена IL-6, (rs1800896) гена IL-10 в развитии ОП у жителей узбекской национальности позволило не только выявить ассоциации генотипов и комбинаций генотипов полиморфизмов с развитием ОП, но и установить триггерное влияние факторов риска развития ОП, а именно употребления алкогольных напитков, на развитие заболевания у носителей определенных генотипов интерлейкинов.

В перспективе с практической точки зрения результаты генетического тестирования полиморфизмов генов IL-1 и IL-6 можно будет использовать для формирования среди населения, а также членов семей, отягощенных развитием панкреатита, группы риска развития болезни с целью проведения необходимых мероприятий по ее предупреждению. Исследование генетических полиморфизмов интерлейкинов может оказаться полезным для оценки цитокинового статуса пациентов с ОП с целью прогнозирования его исходов и разработки персонализированных подходов к лечению больных.

Полиморфизм генов других цитокинов, таких как трансформирующий фактор роста- β 1 и гамма-интерферон, по данным различных авторов, не играет роли в развитии хронического панкреатита, а также алкоголь-индуцированного панкреатита. Последнее показано также для фактора некроза опухоли- α и интерлейкина-10 [16,17]. Есть данные, свидетельствующие о роли полиморфизма гена белка теплового шока HSP70-2 в развитии панкреатита. Так, мутантный G-аллель HSP70-2 обнаруживается с гораздо большей частотой среди больных острым и хроническим панкреатитом [3].

Вышесказанное свидетельствует о несомненной взаимосвязи между определенными генными мутациями и отдельными формами острого и хронического панкреатита. Однако многие данные исследований носят противоречивый характер, а работы по изучению сочетаний мутаций при деструктивно-воспалительных заболеваниях поджелудочной железы весьма немногочисленны.

В настоящем исследовании установлено, что комбинация генотипов полиморфизмов 511CT \times 174GC генов IL-1 и IL-6 ассоциирована с риском развития ОП. Проведенный стратифицированный анализ показал, согласно результатам анализа парных сочетаний генотипов исследуемых генов с риском развития заболевания, у пациентов с комбинацией генотипов 511CT \times 174GC повышен риск развития ОП при алкогольном анамнезе более 10 лет.

References:

1. Yang Z., Qi X., Wu Q. [et al.]. Lack of association between TNF α gene promoter polymorphisms and pancreatitis: a metaanalysis // Gene. 2012. Vol. 503, No. 2. P. 229–234.
2. La Rusch J., Whitcomb D.C. Genetics of pancreatitis. Curr Opin Gastroenterol 2011;27:467-74.
3. Srivastava P., Shafiq N., Bhasin D.K. [et al.]. Differential expression of heat shock protein (HSP) 70-2 gene polymorphism in benign and malignant pancreatic disorders and its relationship with disease severity and complications // JOP. 2012. Vol. 13, No. 4. P. 414–419.
4. Yin Y.W., Sun Q.Q., Feng J.Q., Hu A.M., Liu H.L., Wang Q. Influence of interleukin gene polymorphisms on development of acute pancreatitis: asystematic review and meta-analysis. Mol Biol Rep 2013 Oct;40(10):5931-41.
5. Багненко С.Ф., Гольцов В.Р. Острый панкреатит: современное состояние проблемы и нерешённые вопросы. Альманах Института хирургии им. А.В.Вишневского 2008; 3(3): 104-12.



6. Синенченко Г.И., Пивоварова Л.П., Шиляев А.В., Двойнов В.Г. Прогностические критерии тяжести острого деструктивного панкреатита. Вестн Рос военно-мед акад 2007; 1(17): 100-5
7. Biffi W., Moore E., Moore F., Pelerson V. Interleukin-6 in the injured patient. *Ann Surg* 1996; 224:647-64.
8. Castell J.V., Gomes-Lechon M.J., David M. et al. Interleukin-6 is the major regulator of acute phase protein in synthesis in adult human hepatocytes. *FEBS Lett* 1989;242: 237-9.
9. Opal S., De Palo V. Anti-inflammatory cytokines. *Chest* 2000; 1(17):1162-72.
10. Heath D., Cruickshank A., Gudgeon M., Jehanli A. Shenkin A., Imrie C. Role of interleukin-6 in mediating the acute phase protein response potential as early means of severity assessment in acute pancreatitis. *Gut* 1993; 34(1):41-5.
11. Chi D.Z., Chen J., Huang D.P. Influence of interleukin-1 β and interleukin-6 gene polymorphisms on the development of acute pancreatitis. *Gen Mol Res* 2015 Feb 3;14(1):975-80.
12. Liu Y., Dan G., Wu L. et al. Functional effect of polymorphisms in the promoter of TNFAIP3 (A20) in acute pancreatitis in the Han Chinese population. *PLoS One* 2014 Jul 22; 9(7):103-4.
13. Banks P.A., Bollen T.L., Dervenis C., Gooszen H.G. et al. Acute Pancreatitis Classification Working Group. Classification of acute pancreatitis 2012: revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus. *Gut* 2013;62(1): 102-11.
14. Furtwaengler N.A., de Visser R.O. Lack of international consensus in low-risk drinking guidelines. *Drug Alcohol Rev* 2013;32:11-8.
15. Koressar T., Remm M. Enhancements and modifications of primer design program Primer3. *Bioinformatics* 2007;23:1289-91.
16. Schneider A., Larusch J., Sun X. [et al.]. Combined bicarbonate conductance-impairing variants in CFTR and SPINK1 variants are associated with chronic pancreatitis in patients without cystic fibrosis // *Gastroenterology*. 2011. Vol. 140, No. 1. P. 162–171.
17. Schneider A., Barmada M.M., Slivka A. [et al.]. Analysis of tumor necrosis factor-alpha, transforming growth factor-beta 1, interleukin-10, and interferon-gamma polymorphisms in patients with alcoholic chronic pancreatitis // *Alcohol*. 2004. Vol. 32, No. 1. P. 19–24.
18. Powell J.J., Fearon K.C., Siriwardena A.K., Ross J.A. Evidence against a role for polymorphisms at tumor necrosis factor, interleukin-1 and interleukin-1 receptor antagonist gene loci in the regulation of disease severity in acute pancreatitis. *Surgery* 2001; 129:633-40.
19. Zhang D.L., Zheng H.M., Yu B.J., Jiang Z.W., Li J.S. Association of polymorphisms of IL and CD14 genes with acute severe pancreatitis and septic shock. *World J Gastroenterol* 2005;11:4409-13.
20. Chen X.Q. A study on the association between the interleukin-1b, interleukin-6 gene polymorphisms and the condition of patients with acute pancreatitis. Fujian Medical University (Master thesis); 2007. P. 1-49.
21. Tischendorf J.J., Yagmur E., Scholten D. et al. The interleukin-6 (IL-6)-174 G/C promoter genotype is associated with the presence of septic shock and the ex vivo secretion of IL-6. *Int J Immunogenet* 2007 Dec; 34(6):413-8.
22. Ferri C., Sciacca F.L., Grimaldi L.M.E. et al. Lack of association between IL-1A and IL-1B promoter polymorphisms and multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 2000; 69:564-5.

23. Furuta T., el-Omar E.M., Xiao F. et al. Interleukin 1 beta polymorphisms increase risk of hypochlorhydria and atrophic gastritis and reduce risk of duodenal ulcer recurrence in Japan. *Gastroenterology* 2002; 123(1):92-105.
24. Самгина Т.А., Животова Г.А., Назаренко П.М., Полоников А.В. Роль полиморфизмов генов цитокинов в развитии острого панкреатита: анализ межгенных и гено-средовых взаимодействий. *Рос журн гастроэнтерол гепатол колопроктол* 2017; 27(3):27-33.
25. Lerch M.M., Mayerle J., Aghdassi A.A. [et al]. Advances in the etiology of chronic pancreatitis // *Dig. Dis.* 2010. Vol. 28, No. 2. P. 324–329.
26. Comfort M.W., Steinberg A.G. Pedigree of a family with hereditary chronic relapsing pancreatitis // *Gastroenterology*. 1952. Vol. 21, No. 1. P. 54–63.
27. Chen J.M., Mercier B., Ferec C. Strong evidence that the N21I substitution in the cationic trypsinogen gene causes disease in hereditary pancreatitis // *Gut*. 1999. Vol. 45, No. 6. P. 916.
28. De Madaria E., Martinez J., Sempere L. [et al.]. Cytokine genotypes in acute pancreatitis: association with etiology, severity, and cytokine levels in blood // *Pancreas*. 2008. Vol. 37, No. 3. P. 295–301.
29. Drenth J.P., de Morsche R., Jansen J.B. Mutations in serine protease inhibitor Kazal type 1 are strongly associated with chronic pancreatitis // *Gut*. 2002. Vol. 50, No. 5. P. 687–692.
30. Hofner P., Balog A., Gyulai Z. [et al]. Polymorphism in the IL-8 gene, but not in the TLR4 gene, increases the severity of acute pancreatitis // *Pancreatology*. 2006. Vol. 6, No. 6. P. 542–548.
31. Lee S.H., Ryu J.K., Jeong J.B. [et al]. Polymorphisms of the MCP-1 and HSP70-2 genes in Korean patients with alcoholic chronic pancreatitis // *Dig. Dis. Sci.* 2008. Vol. 53, No. 6. P. 1721–1727.
32. Le Bodic L., Bignon J.D., Raguenes O. [et al]. The hereditary pancreatitis gene maps to long arm of chromosome 7 // *Hum. Mol. Genet.* 1996. Vol. 5, No. 4. P. 549–554.

