



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

**Турсунов Фирдавс Нуриддинович<sup>1</sup>**

**1 курс базового докторанта хирургии**

**<sup>1</sup>Ташкентская медицинская академия Узбекистана.**

**Исмаилов Уктам Сафаевич<sup>2</sup>**

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

**<sup>2</sup>Ташкентской 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 $\alpha$ ). 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 $\alpha$  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 $\beta$ : 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  $\chi^2$  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- $\beta$ 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- $\alpha$  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 $\alpha$  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 $\beta$  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 генно-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.

