

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ADH1B, CYP2C19 (*2/*3) ПРИ ДЕСТРУКТИВНОМ ПАНКРЕАТИТЕ

Рыбачков В.В.¹, Хохлов А.Л.¹, Шульгина М.А.*¹, Березняк Н.В.¹, Царева И.Н.¹, Баранов Г.А.², Завьялов Д.В.¹, Червяков Ю.В.¹

¹ ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет», Ярославль

² ФГБОУ ВО «Российский университет медицины», Москва

DOI: 10.25881/20728255_2023_19_1_18

Резюме. Обоснование: клиническая значимость генетической предрасположенности к панкреонекрозу достаточно неопределенная и требует дальнейшего изучения.

Цель: изучить клиническую значимость полиморфизма генов ADH1B, CYP2C19 (CYP2C19*2, CYP2C19*3) в крови при остром деструктивном панкреатите.

Методы: генетическое тестирование на предмет полиморфизма генов ADH1B, CYP2C19 (*2/*3) выполнено у 72 русских больных с панкреонекрозом. Все пациенты поступали в хирургический стационар в экстренном порядке. Диагноз деструктивного панкреатита ставился на основании клинического и ультразвукового мониторинга, данных лапароскопии (14 больных — 19,4%), а также подтверждался при выполнении оперативного вмешательства. Хирургическое пособие сводилось к пункционной и дренажной санации жидкостных образований у 36 больных (50%). Генетическое исследование проводилось в период с 2020 по 2022 гг. включительно у пациентов, находящихся на лечении в хирургическом стационаре.

Результаты: в исследуемой группе полиморфизмы гена ADH1B встречались с частотой 34,7%. Полиморфизмы гена CYP2C19 выявлены в 37,5% случаев. Полиморфизмов по фенотипу CYP2C19*3 во всех группах выявлено не было.

Заключение: Установлено, что увеличение частоты мутации гена ADH1B ассоциировано с формированием панкреатического абсцесса и гнойно-некротического панкреатита, а гена CYP2C19 преимущественно только панкреатического абсцесса.

Ключевые слова: панкреонекроз, клиническое течение, генетический полиморфизм, ADH1B, CYP2C19.

Обоснование

Улучшение результатов лечения любого заболевания в значительной степени связано в первую очередь с объективной оценкой происходящих в организме изменений, их ранней диагностикой и применением современных методов лечения с высоким уровнем радикализма. Для реализации данного направления, по-видимому, необходим дифференцированный подход в каждом конкретном случае с учетом сложившейся клинической ситуации [1]. Среди спектра хирургической патологии таким заболеванием, безусловно, является деструктивный панкреатит. Его частота постоянно возрастает, а уровень летальности нередко превышает 30–40% и не имеет отчетливой тенденции к снижению [2]. Одной из причин сложившейся ситуации, по-видимому, является отсутствие доказательных клинических критериев, позволяющих прогнозировать при асептическом панкреонекрозе развитие различных

CLINICAL SIGNIFICANCE OF ADH1B, CYP2C19 GENE POLYMORPHISM (*2/*3) IN CASE OF DESTRUCTIVE PANCREATITIS

Rybachkov V.V.¹, Khokhlov A.L.¹, Shulgina M.A.*¹, Bereznyak N.V.¹, Tsareva I.N.¹, Baranov G.A.², Zavyalov D.V.¹, Chervyakov Yu.V.¹

¹ Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl

² Moscow State University of medicine, Moscow

Abstract. Background: the clinical significance of the genetic predisposition to pancreatic necrosis is rather uncertain and requires further study.

Aims: to study the clinical significance of polymorphisms of the ADH1B, CYP2C19 (CYP2C19*2, CYP2C19*3) genes in the blood in acute destructive pancreatitis.

Materials and methods: genetic polymorphism testing of the genes ADH1B, CYP2C19*2, CYP2C19*3 was performed in 72 Russian patients with pancreatic necrosis. All patients were admitted to the surgical hospital in an emergency. The diagnosis of destructive pancreatitis was made on the basis of clinical and ultrasound monitoring, laparoscopy data (14 patients — 19.4%), and was also confirmed during surgical intervention. Surgical aid was reduced to puncture and drainage sanitation of fluid formations in 36 patients (50%). The genetic study was conducted in the period from 2020 to 2022 inclusive in patients undergoing treatment in a surgical hospital.

Results: in the study group, polymorphisms of the ADH1B gene occurred with a frequency of 34.7%. Polymorphisms of the CYP2C19 gene were detected in 37.5% of cases. Polymorphisms of the CYP2C19*3 phenotype were not detected in all groups.

Conclusions: it was found that an increase in the frequency of mutation of the ADH1B gene is associated with the formation of pancreatic abscess and purulent-necrotic pancreatitis, and the CYP2C19 gene is predominantly only pancreatic abscess.

Keywords: pancreatic necrosis, clinical course, genetic polymorphism, ADH1B, CYP2C19.

вариантов его течения [3–5]. Это, безусловно, позволит своевременно проводить упреждающую превентивную терапию и улучшить в конечном итоге результаты лечения [6; 7].

Одним из приоритетных направлений в этом плане является применение генетического тестирования [8; 9]. Согласно существующим представлениям одним из механизмов развития панкреонекроза является генетическая предрасположенность [10]. Однако её клиническая значимость достаточно неопределенная и требует дальнейшего изучения.

Изложенные моменты явились отправными для выполнения настоящего исследования.

Цель

Изучить клиническую значимость полиморфизма генов ADH1B, CYP2C19 (CYP2C19*2, CYP2C19*3) в крови при остром деструктивном панкреатите.

* e-mail: schulgina.margo2012@yandex.ru

Методы

Выбор данных генов был обусловлен тем, что частота их полиморфизма, возможно, связана с повышенным риском развития острого панкреатита. Полиморфизм вариантов генов ADH1B, CYP2C19 (CYP2C19*2, CYP2C19*3) изучен у 72 больных с деструктивным панкреатитом в возрасте от 25 до 79 лет. Вычисление проводилось с использованием критерия χ^2 (хи-квадрат) с поправкой Йетса на непрерывность, критерия χ^2 (хи-квадрат) с поправкой на правдоподобие, либо точного двустороннего критерия Фишера.

Диагноз деструктивного панкреатита ставился на основании клинического и ультразвукового мониторинга, данных лапароскопии (14 больных — 19,4%), а также подтверждался при выполнении оперативного вмешательства. Хирургическое пособие сводилось к пункционной и дренажной санации жидкостных образований у 36 больных (50%).

В исследуемой группе мужчин было 44 (61,1%), женщин 28 (38,9%). В фазу развития асептического панкреонекроза тяжесть состояния больных по шкале SAPSII колебалась от 26,4 до 82,6 баллов и определялась потенциальными вариантами течения воспалительного процесса. Максимальная величина наблюдалась у больных с развитием в дальнейшем гнойно-некротического панкреатита (71,4±21,2 баллов). По клиническому течению перипанкреатический инфильтрат наблюдался в 66,7%, панкреатический абсцесс — в 11,1% и гнойно-некротический панкреатит — в 22,2% случаев.

Комплекс лечебных мероприятий осуществлялся в соответствии с существующими клиническими рекомендациями. В фазу асептического панкреонекроза для предупреждения развития гнойных осложнений назначались антибиотики широкого спектра действия (меропенем, имипенем, ванкомицин, тиенам). Общая летальность составила 5,5%, послеоперационная — 11%. Продолжительность пребывания больных в хирургическом стационаре колебалась от 4 суток до 3 месяцев.

Генетические исследования проводились у больных в стационарных исследованиях. В качестве контроля проводились исследования у 42 условно здоровых людей в возрасте от 20 до 55 лет, которые проходили плановое хирургическое лечение по поводу грыж передней брюшной стенки. Среди них мужчин было 17, женщин 25.

Забор крови проводился после добровольного информированного согласия пациентов. Исследуемым образцом являлась венозная кровь, которую после получения помещали в пробирку с антикоагулянтом ЭДТА. Биоматериал переносился в пробирку амплификатора для проведения метода ПЦР «SNP-ЭКСПРЕСС» в режиме реального времени. Амплификатор обеспечивает циклический нагрев и охлаждение биоматериала, активизируя процесс расхождения цепей ДНК. При доведении содержимого до нужной температуры добавлялись праймеры, которые прикрепляются к определенным нуклеотидам, выделяя заданный участок генома. После этого вносился энзим ДНК-полимераза для активации процесса репликации и выделения полиморфизмов исследуемого гена.

Дизайн исследования

Одноцентровое, проспективное, контролируемое исследование.

Генетическое исследование проводилось в клинико-диагностической лаборатории Ярославского ГМУ у 72 больных с деструктивным панкреатитом, находящихся на лечении в хирургическом стационаре в период с 2020 по 2022 гг., включительно.

Для определения частоты мутации генов ADH1B, CYP2C19 при различных вариантах течения деструктивного панкреатита пациенты подразделялись на три группы: пациенты с перипанкреатическим инфильтратом (48 человек), с панкреатическим абсцессом (8 человек), с гнойно-некротическим парапанкреатитом (16 человек).

В качестве контроля проводились исследования у 42 условно здоровых людей в возрасте от 20 до 55 лет, которые проходили плановое хирургическое лечение по поводу грыж передней брюшной стенки.

Критерии соответствия

Все больные, у которых выполнены исследования, были госпитализированы с клиническими проявлениями асептического панкреонекроза. Это подтверждалось анамнезом заболевания, его длительностью, данными ультразвукового метода исследования и лапароскопии.

Условия проведения

Исследования проведены в лаборатории генетики Ярославского ГМУ. Во время исследования штатный состав лаборатории не менялся.

Продолжительность исследования

Для каждого больного исследование проводилось одномоментно, поскольку генотип каждого пациента на протяжении жизни не меняется.

Описание медицинского вмешательства

При выполнении хирургических операций предоперационная подготовка, специфика анестезии и послеоперационное ведение больных осуществлялись с учетом особенностей выполнения полостных операций.

Основной исход исследования

Основным показателем, без оценки значения которого цель не может быть достигнута, являлась степень трансформации асептического панкреонекроза при комплексном лечении в каждом конкретном случае.

Дополнительные исходы исследования

Исследования в данной ситуации не проводились.

Анализ в подгруппах

Группы пациентов с потенциальным развитием в последующем перипанкреатического инфильтрата, панкреатического абсцесса и гнойно-некротического пара-

панкреатита по степени их тяжести оценивались в период асептического панкреонекроза по шкале SAPSII.

Методы регистрации исходов

Выздоровление базировалось на данных клиники и мониторинга УЗИ. Летальный исход основывался на показателе клинико-биологической смерти.

Этическая экспертиза

Не проводилась ввиду отсутствия показаний для ее проведения.

Статистический анализ

Методика статистического анализа проведена в описательной части статьи.

Результаты

В исследуемой группе частота мутаций гена ADH1B при деструктивном панкреатите достоверно встречалась в 34,7% случаев. Исходя из данных, представленных в таблице 1, следует, что мутация гена ADH1B чаще ассоциирована с развитием заболевания у мужчин (43,2%).

Частота мутаций этого гена среди женщин не превысила 21,4%. В группе сравнения оказалась существенно ниже и составила 2,4%. Что касается возрастного аспекта при мутации гена ADH1B, то наиболее часто деструктивный панкреатит в данной категории протекал у пациентов

в возрасте от 40 до 59 лет (54,8%). Мутации исследуемого гена встречались значительно реже ($p < 0,05$) среди пациентов с началом заболевания в молодом (20%) и пожилом (18,7%) возрасте.

Согласно полученным данным (Табл. 2) частота мутаций гена CYP2C19*2 при деструктивном панкреатите составила 37,5%. В группе контроля полиморфизм гена CYP2C19*2 выявлен в 4,8% случаев. Мутаций полиморфного варианта CYP2C19*3 в группах пациентов с панкреонекрозами и грыжами передней брюшной стенки выявлено не было. Мутации в гене CYP2C19*2 встречались чаще среди женщин (50%), чем среди мужчин (29,5%). Что касается возраста на момент начала заболевания, то наблюдается тенденция к росту частоты мутаций с увеличением возраста. Так, в младшей возрастной группе частота мутаций в гене CYP2C19*2 составила 24%, в средней — 38,7%, в старшей — 56,2%.

При оценке частоты полиморфизмов в зависимости от вариантов течения деструктивного панкреатита установлена определенная закономерность. В частности, частота мутаций гена ADH1B наиболее выражена при появлении гнойных осложнений. При панкреатическом абсцессе и гнойно-некротическом панкреатите мутации данного гена встречались у 50% и 43,8% больных. В тоже время при перипанкреатическом инфильтрате только в 29,2% случаев. Выявленные изменения, по-видимому, могут выступать в качестве критериев прогнозирования степени деструкции при данной патологии. Что касается частоты мутации гена CYP2C19 (CYP2C19*2, CYP2C19*3), то она прослеживалась только со стороны варианта гена CYP2C19*2. Наибольшая частота мутации наблюдалась при панкреатическом абсцессе (75%). В то же время при перипанкреатическом инфильтрате и гнойно-некротическом парапанкреатите частота мутаций была выше показателей нормы более чем в 8 раз, но существенных различий в них не прослеживалось. Можно предположить, что частота мутации данного гена может выступать в качестве предиктора только при потенциальном развитии панкреатического абсцесса. Вместе с тем мутаций со стороны гена CYP2C19*3 при различных вариантах панкреонекроза не выявлено.

Табл. 1. Частота мутации гена ADH1B при панкреонекрозе

Группа больных		Частота мутаций гена ADH1B (Arg47His)	
		ADH1*1 (норма)	ADH2*1 (мутация)
Панкреонекроз всего (n = 72)		47 (65,3%)	25 (34,7%)*
Пол (n = 72)	Мужчины (n = 44)	25 (56,8%)	19 (43,2%)**
	Женщины (n = 28)	22 (78,6%)	6 (21,4%)
Возраст (n = 72)	До 39 лет (n = 25)	20 (80%)	5 (20%)
	От 40 до 59 лет (n = 31)	14 (45,2%)	17 (54,8%***)
	От 60 до 79 лет (n = 16)	13 (81,3%)	3 (18,7%)
Группа сравнения (n = 42)		41 (97,6%)	1 (2,4%)

Примечание: * — достоверность к группе контроля ($p < 0,05$);

** — достоверность к группе пациентов женского пола ($p < 0,05$);

*** — достоверность к другим возрастным группам ($p < 0,05$).

Нежелательные явления

Нежелательных явлений не было.

Табл. 2. Частота мутации при панкреонекрозе гена CYP2C19

Группа больных		Варианты гена CYP2C19			
		CYP2C19*2		CYP2C19*3	
		Норма	Мутация	Норма	Мутация
Панкреонекроз всего (n = 72)		45 (62,5%)	27 (37,5%)*	72 (100%)	—
Пол (n = 42)	Мужчины (n = 44)	31 (70,5%)	13 (29,5%)	44 (100%)	—
	Женщины (n = 28)	14 (50%)	14 (50%)	28 (100%)	—
Возраст на момент начала заболевания (n = 72)	До 39 лет (n = 25)	19 (76%)	6 (24%)	25 (100%)	—
	От 40 до 59 лет (n = 31)	19 (61,3%)	12 (38,7%)	31 (100%)	—
	От 60 до 79 лет (n = 16)	7 (43,8%)	9 (56,2%)	16 (100%)	—
Группа сравнения (n = 42)		40 (95,2%)	2 (4,8%)	42 (100%)	—

Примечание: * — достоверность к группе контроля ($p < 0,05$).

Табл. 3. Частота мутации генов ADH1B, CYP2C19 при различных вариантах течения деструктивного панкреатита

Гены/ мутации	Варианты течения деструктивного панкреатита		
	Перипанкреатический инфильтрат (n = 48)	Панкреатический абсцесс (n = 8)	Гнойно-некротический парапанкреатит (n = 16)
ADH1B Норма	34 (70,8%)	4 (50%)	9 (56,2%)
ADH1B Мутация	14 (29,2%)*	4 (50%)*	7 (43,8%)*
CYP2C19 Норма	32 (66,7%)	2 (25%)	11 (68,8%)
CYP2C19 Мутация	16 (33,3%)*	6 (75%)*	5 (31,2%)*

Примечание: % от числа пациентов в каждой группе * — достоверность к группе контроля (p<0,05).

Обсуждение

Резюме основного результата исследования

Достоинства и возможные недостатки работы представлены в данной статье. В перспективном плане целесообразно расширение спектра генетического тестирования при данной патологии.

Обсуждение основного результата исследования

Увеличение частоты мутации гена ADH1B может выступать в качестве предиктора при потенциальном развитии панкреатического абсцесса и гнойно-некротического панкреатита, а увеличение частоты мутации гена CYP2C19 — панкреатического абсцесса. Выявленные изменения, по-видимому, могут выступать в качестве критериев прогнозирования степени деструкции при данной патологии.

Ограничения исследования

Одним из имеющихся ограничений в исследовании является этическое ограничение — недопустимость вовлечения в исследование человека без его согласия.

Для исследования проведена выборка пациентов с деструктивными формами острого панкреатита.

Соблюдение строгой методологии лабораторных исследований, несоблюдение которой способно существенным образом повлиять на результаты и выводы исследования.

Заключение

Развитие панкреонекроза происходит при повышенной частоте полиморфизмов генов ADH1B, CYP2C19*2. Повышение частоты мутаций гена ADH1B ассоциировано с развитием деструктивного панкреатита у мужчин в возрасте от 40 до 59 лет. Частота мутаций в гене CYP2C19*2 встречалась чаще среди женщин, чем среди мужчин и повышалась с увеличением возраста на момент начала заболевания. Увеличение частоты мутации гена ADH1B ассоциировано с формированием панкреатического абсцесса и гнойно-некротического панкреатита, а гена CYP2C19 преимущественно только панкреатического абсцесса. Полученные данные, по-видимому, могут являться

отправными для реализации персонализированного подхода при лечении данного контингента больных.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов (The authors declare no conflict of interest).

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Винник Ю.С., Черданцев Д.В., Маркова Е.В. и др. Генетические аспекты панкреатита // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). — 2004. — Т.43. — №2. — С.12-17. [Vinnik YS, Cherdantsev DV, Markova EV, et al. Genetic aspects of pancreatitis. Siberian Medical Journal. 2004; 43(2): 12-17. (In Russ.)]
2. Климович И.И., Страпо В.П. Сравнительная характеристика непосредственных результатов консервативного и оперативного лечения пациентов с острым деструктивным панкреатитом // Актуальные проблемы медицины: материалы ежегодной итоговой научно-практической конференции, Гродно. 25–26 января 2018 года / Ответственный редактор В.А. Снежицкий. — Гродно: Гродненский государственный медицинский университет, 2018. — С.374-378. [Klimovich II, Strapko VP. Comparative characteristics of the immediate results of conservative and surgical treatment of patients with acute destructive pancreatitis. Actual problems of medicine: materials of the annual final scientific and practical conference, Grodno, January 25-26, 2018; 374-378. (In Russ.)]
3. Samgina TA, Nazarenko PM, Polonikov AV, et al. The role of some xenobiotic biotransformation genes SNP in the development of acute pancreatitis. Bulletin of Russian State Medical University. 2020; 1: 34-39. doi: 10.24075/BRSMU.2020.008.
4. Галченкова О.Г., Мазаник М.Е. Роль цитохрома P450 в патогенетических механизмах различных заболеваний // Современная медицина: новые подходы и актуальные исследования: сборник статей по материалам XLVIII международной научно-практической конференции, Москва. 25 мая 2021 года. — 2021. — Т.5. — №44. — С.19-27. [Galchenkova OG, Mazanik ME. Role of cytochrome p450 in pathogenetic mechanisms of various diseases. Modern medicine: new approaches and current research: a collection of articles based on the materials of the XLVIII International Scientific and Practical Conference, Moscow, May 25, 2021; 5(44): 19-27. (In Russ.)]
5. Имаева А.К., Галлямова Л.Ф., Мустафин Т.И., и др. Прогнозирование развития острого панкреатита на основании молекулярно-генетического исследования // Молекулярная медицина. — 2021. — Т.19. — №2. — С.34-40. [Imaeva AK, Gallyamova LF, Mustafin TI, et al. Prediction of the development of acute pancreatitis based on molecular genetic research. Molecular Medicine. 2021; 19(2): 34-40. (In Russ.)] doi: 10.29296/24999490-2021-02-05.
6. Whitcomb D, Preston R, Aston C, et al. A gene for hereditary pancreatitis maps to chromosome 7q35. Gastroenterology. 1996; 110(6): 1975-80. doi: 10.1053/gast.1996.v110.pm8964426.
7. Боринская С.А., Ким А.А., Рубанович А.В. и др. Влияние аллелей гена ADH1B и уровня образования на характер потребления алкоголя у российских мужчин // Acta Naturae (русскоязычная версия). — 2013. — Т.5. — №3 (18). — С.103-110. [Borinskaya SA, Kim AA, Rubanovich AV, et al. The impact of ADH1B alleles and educational status on levels and modes of alcohol consumption in Russian male individuals. Acta Naturae. 2013; 5(3): 99-106. (In Russ.)]
8. Самгина Т.А., Бушуева О.Ю., Канищев Ю.В. и др. Вклад полиморфизма rs708272 гена CYP2C19 в развитие осложненного острого панкреатита // Университетская наука: взгляд в будущее: Сборник научных трудов по материалам Международной научной конференции, посвященной 85-летию Курского государственного медицинского университета. В 2 т. — Курск: Курский государственный медицинский университет, 2020. — Т.1. — С.457-460. [Samgina TA, Bushueva OYu, Kanishchev YuV, et al. Contribution of polymorphism rs708272 of the CYP2C19 gene to the development of complications of acute pancreatitis. University Science: a look into the future: A collection of scientific papers based on the materials of the International Scientific Conference dedicated to the 85th anniversary of Kursk State Medical University. 2020; 1: 457-460. (In Russ.)]
9. Рыбачков В.В., Хохлов А.Л., Сорогин С.А., и др. Частота мутаций генов TNF α , VEGFA, IL6 при язвенном колите // Вестник НМХЦ им. Н.И. Пирогова. — 2022. — №2. — С.49-51. [Rybachkov VV, Khokhlov AL, Sorogin SA, et al. Clinical significance of genetic testing in patients with ulcerative colitis. 2022; 2: 49-51. (In Russ.)]
10. Mayerle J, Sendler M, Hegyi E, et al. Genetics, Cell Biology, and Pathophysiology of Pancreatitis. Gastroenterology. 2019; 156(7): 1951-1968. doi: 10.1053/j.gastro.2018.11.081.