



Прогнозирование течения и исхода острого алкогольно-алиментарного панкреатита с учетом генетического статуса пациента по полиморфным локусам rs11546155 и rs6119534 гена *GGT7*

Самгина Т.А.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Минздрава Российской Федерации (ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава РФ), 305041, Курск, ул. К. Маркса,3; Россия

Для цитирования: Самгина Т.А. Прогнозирование течения и исхода острого алкогольно-алиментарного панкреатита с учетом генетического статуса пациента по полиморфным локусам rs11546155 и rs6119534 гена *GGT7*. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2022;204(8): 35–40. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-204-8-35-40

✉ Для переписки:

Самгина

Татьяна

Александровна

tass@list.ru

Самгина Татьяна Александровна, к.м.н., доцент кафедры хирургических болезней № 2, научный сотрудник НИИ генетической и молекулярной эпидемиологии

Резюме

Цель исследования: оценить роль полиморфных локусов rs11546155 и rs6119534 гена *GGT7* в прогнозировании риска развития осложнений и исхода ОААП.

Материалом исследования послужили образцы ДНК, полученные от 471 пациента с острым алкогольно-алиментарным панкреатитом и 573 здоровых индивидов. Диагностику заболевания проводили с использованием клинических рекомендаций, разработанных рабочей группой Российского общества хирургов. Для оценки ассоциаций аллелей и генотипов гена с риском развития острого панкреатита использовали критерий χ^2 и отношение шансов (OR) с 95%-ми доверительными интервалами (CI). Статистический анализ осуществлялся с использованием программы Statistica 10.0 (StatSoft, США), программы SNPStats.

Результаты исследования. В ходе исследования было обнаружено, что для rs6119534 *GGT7* генотип C/T ассоциировался с повышенным риском развития острого алкогольно-алиментарного панкреатита (OR=1,94; 95% CI=1,41–2,68; P<0,0001); генотип T/T rs6119534 *GGT7* более чем в пять раз чаще встречался среди пациентов с тяжелой степенью и ассоциировался с повышенным риском развития гнойного парапанкреатита (OR=7,99; 95%CI 1,35–47,18; P=0,017). Для rs11546155 *GGT7* аллель A являлся предиктором повышенного риска развития панкреонекроза (OR=1,92; 95%CI 1,22–3,03; P=0,004); носители генотипа A/A имели наиболее высокий уровень лейкоцитов в крови и предрасположенность к развитию аррозивного кровотечения (OR=20,16; 95%CI 1,82–223,37; P=0,05); генотипы G/A-A/A ассоциировались с повышенным риском развития инфицированного панкреонекроза (OR=1,82; 95%CI 1,06–3,12; P=0,03).

Заключение. Изученные SNPs могут использоваться в качестве диагностических и прогностических маркеров ОААП.

Ключевые слова: острый алкогольно-алиментарный панкреатит, прогнозирование, rs11546155, rs6119534 гена *GGT7*.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

EDN: LAFXWP



<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-204-8-35-40>

Predicting the course and outcome of acute alcoholic-alimentary pancreatitis, taking into account the genetic status of the patient according to the polymorphic loci rs11546155 and rs6119534 of the *GGT7* gene

T. A. Samgina

Kursk State Medical University, 3, Karla Marksa Str., Kursk, 305041, Russian Federation

For citation: Samgina T.A. Predicting the course and outcome of acute alcoholic-alimentary pancreatitis, taking into account the genetic status of the patient according to the polymorphic loci rs11546155 and rs6119534 of the *GGT7* gene. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2022;204(8): 35–40. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-204-8-35-40

✉ *Corresponding author:*

Tatiana A. Samgina
tass@list.ru

Tatiana A. Samgina, Cand. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Department of Surgical Diseases No.2; ORCID: 0000–0002–7781–3793

Summary

The aim of the study was to evaluate the role of the polymorphisms rs11546155 and rs6119534 of the *GGT7* gene in predicting the risk of complications and outcome of AAP.

The material of the study was DNA samples obtained from 471 patients with acute alcoholic-alimentary pancreatitis and 573 healthy individuals. The disease was diagnosed using clinical guidelines developed by the working group of the Russian Society of Surgeons. Statistical analysis was carried out using the Statistica 10.0 and the SNPStats programs.

Results. The study found that for rs6119534 *GGT7*, the C/T genotype was associated with an increased risk of developing acute alimentary-alcohol pancreatitis (OR=1.94; 95% CI=1.41–2.68; P<0.0001); the T/T rs6119534 *GGT7* genotype was over five times more common among patients with severe disease and was associated with an increased risk of infected pancreatic necrosis (OR=7.99; 95% CI 1.35–47.18; P=0.017). For rs11546155 *GGT7*, allele A was a predictor of an increased risk of developing pancreatic necrosis (OR=1.92; 95% CI 1.22–3.03; P=0.004); carriers of the A/A genotype had the highest level of leukocytes in the blood and a predisposition to the development of erosive bleeding (OR=20.16; 95% CI 1.82–223.37; P=0.05); genotypes G/A-A/A were associated with an increased risk of infected pancreatic necrosis (OR=1.82; 95% CI 1.06–3.12; P=0.03).

Conclusion. SNPs can be used as diagnostic and prognostic markers of AAP.

Keywords: acute pancreatitis, rs11546155, rs6119534, *GGT7* gene

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest.

В основе развития острого алкогольно-алиментарного панкреатита (ОААП) лежат некроз ацинарных клеток поджелудочной железы и ферментная агрессия с поражением тканей и органов и присоединением вторичной гнойной инфекции [1].

Ведущая роль в патогенезе заболевания отводится ферментам поджелудочной железы и биотрансформации ксенобиотиков, цитокинам, нарушение в системе которых приводит к угнетению иммунного статуса, развитию окислительного стресса, увеличению проницаемости стенки кишки, вследствие чего происходит транслокация кишечной флоры, поступление токсинов в кровоток и лимфатическое русло [1, 2].

В связи с этим изучение генов, ответственных за синтез ферментов, участвующих, как в развитии окислительного стресса, так и в восстановительных процессах, является обоснованным и актуальным.

Проведенные в мире и России исследования определили связь некоторых генов ферментов поджелудочной железы, цитокинов и ферментов биотрансформации ксенобиотиков с риском развития острого алкогольно-алиментарного панкреатита, степенями тяжести и исходом заболевания [3, 4, 5, 6, 7].

Активация трипсиногена, инициированная приемом алкоголя, сопровождается нарушениями функционирования системы глутатиона и повреждением ткани поджелудочной железы [8, 9]. Глутатион является антиоксидантом с мощными восстановительными и детоксикационными свойствами [9], основная роль в обезвреживании продуктов перекисидации отводится глутатионтрансферазам, конъюгирующим продукты перекисного окисления липидов с глутатионом [10].

Ген гамма-глутамилтрансферазы 7 (*GGT7*) контролирует синтез фермента, расщепляющего

γ-глутаминовые связи конъюгатов глутатиона. Изменения активности фермента проявляются токсическим повреждением ткани ПЖЖ.

Установление влияния отдельных полиморфных локусов генов ферментов метаболизма глутатиона на риск развития осложнений и исход заболевания позволит хирургу прогнозировать клиническое

течение и своевременно определить тактику ведения пациента с учетом его генетического статуса.

Цель исследования: оценить роль полиморфных локусов rs11546155 и rs6119534 гена *GGT7* в прогнозировании риска развития осложнений и исхода острого алкогольно-алиментарного панкреатита.

Материалы и методы

Нами был обследован и пролечен 471 больной с ОААП (134 женщины и 337 мужчин) русской национальности (самоидентифицированы), находившийся на стационарном лечении в хирургических отделениях больниц города Курска – клинических баз кафедры – в период с 2015 г. по 2020 г.

Материалом исследования послужили образцы ДНК, полученные от 471 пациента с ОААП и 573 (161 женщина и 412 мужчин) человек без заболеваний желудочно-кишечного тракта, отобранных в процессе проведенных за этот же период медицинских профилактических осмотров. Средний возраст больных составил 48,9 ± 13,1 года, здоровых лиц – 47,8 ± 12,1 года. Диагностику ОААП проводили с использованием клинических рекомендаций,

разработанных рабочей группой Российского общества хирургов. От всех пациентов получено добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Геномную ДНК выделяли стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Мультиплексное генотипирование полиморфных локусов проводили по технологии iPLEX на генетическом анализаторе MALDI-TOF MassARRAY-4 производства AgenaBioscience (США). Для оценки ассоциаций аллелей и генотипов гена с риском развития ОААП использовали критерий χ² и отношение шансов (OR) с 95% доверительными интервалами (CI). Для статистического анализа использовали программы Statistica 10.0 и SNPStats.

Результаты исследования

В таблице 1 представлена характеристика клинических форм и осложнений острого панкреатита в основной группе пациентов.

15 пациентов умерли, причинами летального исхода стали: полиорганная недостаточность, гнойно-септические осложнения (8) и аррозивное кровотечение (7).

Выявление клинически значимых генетических маркеров позволит прогнозировать особенности течения и исходы ОААП, риск развития осложнений, а на их основе персонализировать терапию каждого конкретного больного посредством выбора максимально эффективного и безопасного способа лечебной коррекции болезни и профилактики осложнений [11, 12].

В ходе исследования нами была установлена ассоциация генотипа C/T полиморфного локуса rs6119534 *GGT7* с повышенным риском развития ОААП (OR=1,94; 95% CI =1,41–2,68; P<0,0001).

С целью оценки потенциальной вовлеченности исследуемых полиморфных вариантов гена *GGT7* в формирование деструктивно-некротических изменений поджелудочной железы при ОААП в дизайне случай-контроль нами было установлено, что в формировании предрасположенности к развитию отечного ОААП принимал участие rs6119534 (генотип C/T, P<0,0001) гена *GGT7*. Причем обнаруженная ассоциация ДНК-маркера не зависела ни от пола, ни от возраста пациентов (в моделях множественной регрессии учитывалась поправка на указанные кофакторы). С клинической точки зрения особенно важным было выявление генетических маркеров, повышающих риск развития панкреонекроза в начальной стадии заболевания. Для реализации данной задачи мы проанализировали ассоциации исследуемых полиморфных вариантов гена с риском развития панкреонекроза, используя данные только больных ОААП.

Таблица 1
Характеристика клинических форм и осложнений острого алкогольно-алиментарного панкреатита в основной группе пациентов
Table 1
Characteristics of clinical forms and complications of acute alcoholic pancreatitis in patients

Клинические формы и осложнения острого панкреатита Clinical forms and complications of acute pancreatitis	Количество пациентов (%)
Клинические формы ОП	
Отечный панкреатит	251 (53,3)
Стерильный панкреонекроз	123 (26,1)
Инфицированный панкреонекроз	97 (20,6)
Всего	471 (100)
Осложнения ОП	
Перитонит	93 (19,7)
Перипанкреатический инфильтрат	154 (32,7)
Псевдокиста	101 (21,4)
Абсцесс ПЖ и гнойно-некротический парапанкреатит	111 (23,6)

Таблица 2

Статистически значимые ассоциации полиморфных вариантов генов со степенью тяжести острого панкреатита

Примечание:

* Р-уровень значимости связи SNP со степенью тяжести острого панкреатита, тест χ^2 Пирсона (df=4)

Table 2

Statistically significant associations of polymorphic gene variants with the severity of acute pancreatitis

Note:

* P-significance level of SNP relationship with the severity of acute pancreatitis, Pearson's χ^2 test (df=4)

Ген (SNP ID)	Генотипы, Genotypes	Степени тяжести острого панкреатита, severity of acute pancreatitis						p*
		Легкая степень, mild		Средняя степень, moderate		Тяжелая степень, severe		
		n	%	n	%	n	%	
GGT7 (rs6119534)	CC	35	19.6	31	28.2	16	20.5	0.03
	CT	142	79.3	79	71.8	58	74.4	
	TT	2	1.1	0	0.0	4	5.1	

Рисунок 1

Эффект генотипов полиморфных локусов rs11546155 и rs6119534 гена GGT7

Picture 1

Effect of genotypes of polymorphic loci rs11546155 and rs6119534 of the GGT7 gene

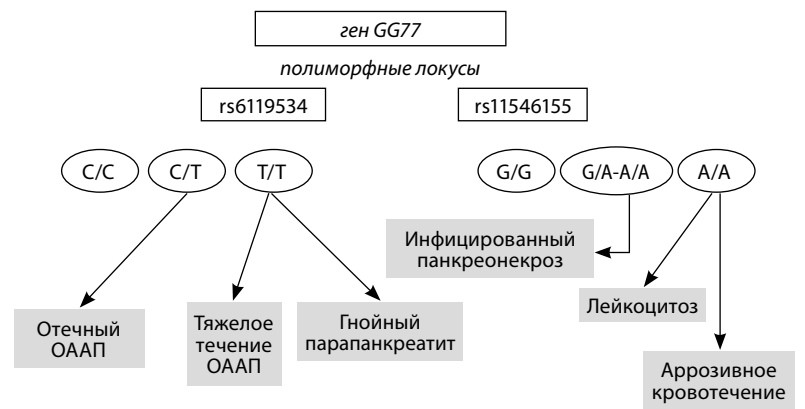


Таблица 3

Установленные связи исследованных полиморфных вариантов генов с количественными показателями крови больных

Table 3

Established associations of the studied polymorphic gene variants with quantitative parameters of the blood of patients

Ген (SNP ID)	Генотипы, Genotypes	Окисленный глутатион, GSSG			Активные формы кислорода, reactive oxygen species			Лейкоциты, leukocytes			Амилаза, amylase		
		Me	Q1/Q3 ¹	P ²	Me	Q1/Q3 ¹	P ²	Me	Q1/Q3 ¹	P ²	Me	Q1/Q3 ¹	P ²
GGT7 (rs11546155)	G/G	6.35	2.86/9.49	0.83	2.68	2.02/3.69	0.51	7.80	6.50/11.80	0.03 ^D	148.0	81.0/244.0	0.20
	G/A	5.35	3.56/10.93		2.39	1.50/4.63		9.85	6.90/13.90		166.5	86.0/310.5	
	A/A	4.61	3.29/5.93		1.98	1.78/2.18		10.60	9.05/12.15		534.0	534.0/534.0	

Примечание:

¹ медианы и 25%/75% квартили показателей крови у носителей различных генотипов;

² уровень статистической значимости связи SNP с нормализованными показателями крови (линейный регрессионный анализ);

D – доминантная модель.

Note:

¹ median and 25%/75% quartile of blood counts in carriers of different genotypes;

² level of statistical significance of the relationship between SNP and normalized blood parameters (linear regression analysis);

D – dominant model.

В результате было установлено, что только полиморфный вариант rs11546155 *GGT7* (аллель А, OR=1,92; 95%CI 1,22–3,03; $P=0,004$), являлся предиктором повышенного риска развития панкреонекроза. Выявленная ассоциация также не зависела от пола и возраста пациентов.

Анализ ассоциации полиморфных вариантов генов со степенью тяжести острого панкреатита осуществлялся в группе пациентов с ОААП посредством оценки 9-полных таблиц сопряженности (3×3) и теста χ^2 Пирсона ($df=4$). В таблице 2 представлены сводные данные по установленным статистически значимым ассоциациям исследуемых SNPs со степенью тяжести ОП. Установлено, что генотип T/T rs6119534 *GGT7* более чем в пять раз чаще встречался среди пациентов с тяжелой степенью.

Исследование промежуточных фенотипов, патогенетически связанных с развитием ОААП, также является важным методологическим подходом к оценке вовлеченности генов в конкретные механизмы развития патологии на клеточном, биохимическом и метаболическом уровнях. В связи с этим, нами были исследованы связи полиморфных локусов гена *GGT7* с промежуточными фенотипами острого панкреатита: уровнем окисленного глутатиона (GSSG), уровнем активных форм кислорода (ROS), уровнем амилазы и лейкоцитов в крови. Учитывая тот факт, что распределение исследуемых количественных показателей статистически значимо отличалось от нормального ($P<0,05$, тест Колмогорова-Смирнова), данные показатели были выражены в медианах и 25/75-квартелях.

Заключение

Нами впервые изучено влияние полиморфных локусов rs11546155 и rs6119534 гена *GGT7* на развитие острого алкогольно-алиментарного панкреатита, его клиническое течение, развитие осложнений и исход. Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности проведения доклинического обследования пациентов

Для оценки влияния исследуемых SNPs на нормализованные количественные показатели использовали метод линейного регрессионного анализа. В таблице 3 представлены данные по ассоциациям полиморфных вариантов генов с количественными показателями крови больных ОААП – носители генотипа A/A rs11546155 *GGT7* имели наиболее высокий уровень лейкоцитов крови в сравнении с альтернативными генотипами.

Также нами были проанализированы ассоциации исследуемых полиморфных вариантов гена *GGT7* с риском развития инфицированного панкреонекроза и осложнений ОААП. Было обнаружено, что с повышенным риском развития инфицированного панкреонекроза ассоциировался полиморфный вариант rs11546155 (генотипы G/A-A/A, OR=1,82; 95%CI 1,06–3,12; $P=0,03$), а гнойного парапанкреатита – rs6119534 (генотип T/T, OR=7,99, 95%CI 1,35–47,18; $P=0,017$) гена *GGT7*. Ассоциаций изучаемых локусов с другими осложнениями мы не выявили.

При анализе связи изучаемых полиморфизмов гена с причинами летального исхода пациентов обнаружили, что предрасположенность к развитию аррозивного кровотечения ассоциирован rs11546155 (генотип A/A, OR=20,16; 95%CI 1,82–223,37; $P=0,05$) гена *GGT7*.

Проведенный анализ роли изучаемых полиморфизмов гена *GGT7* с результатами консервативного и хирургического лечения ассоциаций не обнаружил.

Таким образом, полученные нами результаты, позволяют схематично изобразить роль полиморфных локусов rs11546155 и rs6119534 гена *GGT7* в прогнозировании клинического течения, риска развития осложнений и исхода ОААП, рисунок 1.

на предмет носительства «рисковых» генотипов с целью разработки патогенетически обоснованных индивидуализированных лечебно-профилактических мероприятий.

Изученные SNPs могут использоваться в качестве диагностических и прогностических факторов данного заболевания.

Литература | References

1. Bagnenko S.F., Goltsov V.R., Savello V.E., Vashetko R.V. [Classification of acute pancreatitis: the current state of the problem]. *Bulletin of Surgery. I. I. Grekov*. 2015; 174(5): 86–92. (in Russ.)
Багненко С. Ф., Гольцов В. Р., Савелло В. Е., Вашетко Р. В. Классификация острого панкреатита: современное состояние проблемы. *Вестник хирургии им. И. И. Грекова*. 2015; 174(5): 86–92.
2. Lee P.J., Papachristou G. I. New insights into acute pancreatitis. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*. 2019; 16(8): 479–496. doi: 10.1038/s41575-019-0158-2.
3. Tarasenko S. V., Natalskiy A. A., Peskov O. D., et al. Possibilities of the early diagnosis and prognosis of complicated clinical forms of chronic pancreatitis. *I. P. Pavlov Russian Medical Biological Herald*. 2021;29(2):267–276. (in Russ.) doi: 10.17816/PAVLOVJ34887.
4. Samgina T. A., Azarova Yu. E., Kanishchev Yu. V., et al. The role of polymorphism of the phosphatidylethanolamine-N-methyltransferase gene rs12449964 in the risk of acute pancreatitis. *Kursk Scientific and Practical Bulletin "Man and His Health"*. 2019;(3):28–33. (In Russ.) doi: 10.21626/vestnik/2019-3/04.

Тарасенко С. В., Натальский А. А., Песков О. Д. и соавт. Возможности ранней диагностики и прогнозирования осложненных клинических форм хронического панкреатита. *Российский медико-биологический вестник имени академика И. П. Павлова*. 2021; 29(2): 267–276. doi: 10.17816/PavlovJ34887.

Самгина Т. А., Азарова Ю. Э., Канищев Ю. В. и соавт. Роль полиморфизма гена фосфатидилэтаноламин-N-метилтрансферазы rs12449964 в развитии острого панкреатита. *Человек и его здоровье*. 2019; (3): 28–33. doi: 10.21626/vestnik/2019-3/04.

5. Zhu X., Hou C., Tu M. et al. Gene polymorphisms in the interleukins gene and the risk of acute pancreatitis: a meta-analysis. *Cytokine*. 2019;(115): 50–59. doi: 10.1016/j.cyt.2018.12.003.
6. Weiss F. U., Laemmerhirt F., Lerch M. M. Acute pancreatitis: Genetic risk and clinical implications. *Journal of Clinical Medicine*. 2021; 10(2):190. doi: 10.3390/jcm10020190.
7. Vinnik Y. S., Pervova O. V., Cherdancev D. V., Titova N. M. Participation of mutant genes in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Bulletin of Experimental and Clinical Surgery*. 2011; 4(3): 446–449. (in Russ.)
Винник Ю. С., Первова О. В., Черданцев Д. В., Титова Н. М. Участие мутантных генов в патогенезе острого панкреатита. *Вестник экспериментальной и клинической хирургии*. 2011; 4(3): 446–449.
8. Liu K., Liu J., Zou B., et al. Trypsin-mediated sensitization to ferroptosis increases the severity of pancreatitis in mice. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*. 2022; 13(2): 483–500. doi: 10.1016/j.jcmgh.2021.09.008.
9. Flohé L. (ed.). *Glutathione* (1st ed.). CRC Press, 2018. doi: 10.1201/9781351261760.
10. Wrotek S., Sobocińska J., Kozłowski H. M., et al. New insights into the role of glutathione in the mechanism of fever. *International journal of molecular sciences*. 2020; 21(4):1393(15). doi: 10.3390/ijms21041393.
11. Ala-Korpela M., Holmes M. V. Polygenic risk scores and the prediction of common diseases. *International journal of epidemiology*. 2020; 49(1): 1–3. doi: 10.1093/ije/dyz254.
12. Han I. W., Cho K., Ryu Y., et al. Risk prediction platform for pancreatic fistula after pancreatoduodenectomy using artificial intelligence. *World journal of gastroenterology*. 2020; 26(30): 4453. doi: 10.3748/wjg.v26.i30.4453.