

УДК 616.37-002-036.11-06:575.113.2

Abstract**V. V. Leonov,****V. A. Chantsev,****V. M. Chumakov,**¹⁾**O. O. Pererva,***Sumy State University,**2 Rymyskogo-Korsakova st.,**Sumy 40007, Ukraine;*¹⁾*Municipal Institution «Sumy**City Clinical Hospital № 5»,**2 Marko Vovchok st.,**Sumy 40007, Ukraine***POLYMORPHISM OF GENE OF IL-10 (-592C/A) IN PATIENTS WITH ACUTE PANCREATITIS**

The research aims to investigate the IL-10 C-592A (rs 1800872) gene polymorphism in patients with various etiopathogenetical forms of acute pancreatitis. The frequency of allelic variants of cytokine gene in 100 patients was determined. Genotype C/C was found in 64.0 % of cases (64 patients) of acute pancreatitis, C/A alleles – in 33 % of cases (33 patients), A/A alleles in 3 % of cases (3 patients).

In patients with destructive forms of acute pancreatitis the heterozygous carriers of genotype A/A weren't detected. This indicates a protective effect of genotype A/A for the development of necrosis.

Keywords: acute pancreatitis, polymorphism of gene of IL-10 C-592A, cytokine.

Corresponding author: *leonovvix@yandex.ua***Резюме****В. В. Леонов,****В. А. Чанцев,****В. М. Чумаков,**¹⁾**О. О. Перерва,***Сумський державний**університет, Римського-**Корсакова, 2, Суми, Україна;*¹⁾*Комунальна установа**«Сумська міська клінічна**лікарня № 5», Марко Вовчок, 2,**Суми, Україна, 40007***ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНА ІЛ-10 (-592С/А) У ХВОРИХ НА ГОСТРИЙ ПАНКРЕАТИТ**

Дослідження присвячене вивченню генетично обумовленої схильності до різних патогенетичних форм гострого панкреатиту. Визначено алельний ген, який визначає каскад неспецифічних запально-деструктивних реакцій у підшлунковій залозі. Встановлено кореляцію між різними формами перебігу гострого панкреатиту з носійством домінантної гомозиготи, мінорної гомозиготи та гетерозиготи за даною ознакою.

Ключові слова: гострий панкреатит, поліморфізм гена ІЛ-10 С-592А, цитокини.

Резюме**В. В. Леонов,****В. А. Чанцев,****В. Н. Чумаков,**¹⁾**А. А. Перерва,***Сумський державний**університет, Римського-**Корсакова, 2, Суми, Україна;*¹⁾*Комунальне учреждение**«Сумская городская клиническая**больница № 5», Марко Вовчок, 2,**Суми, Украина, 40007***ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНА ІЛ-10 (-592С/А) У БОЛЬНЫХ С ОСТРЫМ ПАНКРЕАТИТОМ**

Исследование посвящено изучению генетически обусловленной предрасположенности к различным патогенетическим формам острого панкреатита. Определен аллельный ген, определяющий каскад неспецифических воспалительно-деструктивных реакций в поджелудочной железе. Установлена корреляция между различными формами течения острого панкреатита с носительством доминантной гомозиготы, мінорной гомозиготы и гетерозиготы по данному признаку.

Ключевые слова: острый панкреатит, полиморфизм гена ІЛ-10 С-592А, цитокины.

Автор, відповідальний за листування: *leonovvix@yandex.ua***Вступ**

За сучасними уявленнями гострий панкреатит – це мультифакторіальне поліетіологічне

захворювання зі складним багатокомпонентним патогенезом [5, 6, 9, 10, 11, 12]. За класичною ферментною теорією пусковим механізмом роз-

витку ГП є інтрацелюлярна активація ферментів [2]. Ще недавно основне значення у виникненні та прогресуванні панкреатиту надавали участі активованих ферментів ПЗ, проте нині доведена і участь таких цитокінів, як ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-8, ФНП- α (прозапальні), ІЛ-4, ІЛ-10 (протизапальні) та інших у розвитку та прогресуванні захворювання, а також у формуванні ускладнень [3]. Деструкція панкреатичної тканини веде до зміни її антигенних властивостей, тобто до формування критичного механізму для запуску імунних процесів. У цьому плані реакція ПЗ на подразник неспецифічна і не залежить від фактора, що викликає патологічний процес. Вона здійснюється через синтез і секрецію первинних медіаторів запалення – цитокінів. Деякі автори вважають, що безпосередня деструкція тканини підшлункової залози пов'язана також із такими факторами, як активні форми кисню та оксиду азоту, але вони не є первинними. Це підтверджує той факт, що їх продукування контролюється низкою прозапальних цитокінів [7, 8].

Так, при ГП упродовж першої доби від початку клініки відзначається пік плазмових концентрацій ТНФ- α , ІЛ-1 і ІЛ-6, а через 48 годин – пік концентрацій ІЛ-8 із паралельним зниженням ІЛ-10 у крові.

Вивчення геному людини привело до якісно нового етапу медичної науки – передбачувальної медицини, основу якої складає ідентифікація головних генів-модифікативів у генній сітці та пошук асоціації поліморфізму таких генів із даними захворюваннями, що, у свою чергу, дозволяє прогнозувати ступінь ризику розвитку, перебіг, тяжкість захворювання. Наявність спадкової схильності при ГП беззаперечно, хоча наразі детальних досліджень спадкових факторів ГП мало, особливо в Україні [1, 4].

При дослідженні ми ставили за мету визначення характеру розподілу алельних варіантів промоторної ділянки гена ІЛ-10 в положенні -592 у хворих на гострий панкреатит.

Однонуклеотидний поліморфізм С-592А пов'язаний із заміною цитозину на аденін у положенні -592 промотору гена ІЛ-10. Унаслідок таких замін цілком можливою є зміна функціональних властивостей промотору, що може проявлятися підвищенням або пригніченням транскрипції гена ІЛ-10, а в кінцевому підсумку – його експресією у відповідь на ті чи інші регуляторні впливи.

Матеріали і методи. З метою вивчення генетичного матеріалу були відібрані проби для

визначення поліморфізму гена ІЛ-10 у 200 осіб. Із них 100 пацієнтів із ГП, що перебували на стаціонарному лікуванні в КУ «СМКЛ № 5», склали основну групу та 100 практично здорових осіб без панкреатиту в анамнезі – контрольну групу.

Визначення алельного поліморфізму промотору гена ІЛ-10 С-592А (rs 1800872). Поліморфізм промотору гена ІЛ-10 визначали методом полімеразної ланцюгової реакції (PCR) із подальшим аналізом довжини рестрикційних фрагментів (PCR-RFLP). Для цього ампліфікували ділянку промотору зазначеного гена за допомогою пари специфічних праймерів: прямого (sense) – 5' TGGTGTACAGTAGGGTGAGGAA 3' і зворотного (antisense) – 5' CCTTAGGTCTCTGGGCCTTAGT 3'. Праймери було синтезовано фірмою «Metabion» (Німеччина). Для ампліфікації брали 50–100 нг ДНК і додавали до суміші, що містила 5 мкл 5-кратного PCR-буфера, 1,5 мМ сульфату магнію, 200 мкМ суміші чотирьох нуклеотидтрифосфатів, по 30 рМ кожного із праймерів і 0,5 ОД Таq-полімерази («Ферментас», Литва), об'єм доводили до 25 мкл деіонізованою водою. PCR проводили в термоциклері GeneAmp PCR System 2700 («Applied Biosystems», США). Ампліфікація фрагмента промотору складалася із 33 циклів: денатурація – 94 °С (30 с), гібридизація праймерів – 57,0 °С (1 хв) та елонгація – 72 °С (1 хв). Потім 6 мкл продукту ампліфікації інкубували при 37 °С упродовж 20 годин із 2 ОД рестриктази RsaI («Ферментас», Литва) у буфері Tango такого складу: 33 мМ триацетату (рН 7,9), 10 мМ ацетату магнію, 66 мМ ацетату калію, 0,1 мг/мл альбуміну. Наявність у -592 позиції гена ІЛ-10 цитозину перешкоджає рестрикції, а при заміні цитозину на аденін рестриктаза RsaI розщеплює ампліфіковану ділянку (довжина – 411 п. о) на два фрагменти: 296 і 115 пар основ. Ампліфікати після рестрикції розділяли в 2,5 % агарозному гелі, що містив 10 мкг/мл бромистого етидію. Горизонтальний електрофорез (0,13 А; 200 V) проводили впродовж 25 хв. Візуалізацію ДНК після електрофорезу здійснювали за допомогою транслюмінатора («Біоком», Росія).

Результати досліджень. Результати дослідження поліморфізму гена ІЛ-10 С-592А демонструють, що генотип С/С зустрічається у 64,0 % хворих на ГП, генотип С/А – у 33,0 %, генотип А/А – у 3,0 %.



Результати дослідження поліморфізму гена ІЛ-10 (-592С/А) у хворих на гострий панкреатит наведені у таблиці 1.

Таблиця 1 – Розподіл осіб різних генотипів за поліморфізмом гена ІЛ-10 (-592С/А) у хворих на різні форми ГП

Вид поліморфізму	Контроль		Гострий панкреатит			
			набрякова форма (n = 74)		деструктивна форма (n = 26)	
	абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%
С/С	64	64,0	49	66,2	15	57,7
С/А	33	33,0	21	28,3	11	42,3
А/А	3	3,0	4	5,4	0	0

Під час аналізу частот алельних варіантів гена цитокіну визначено, що домінуючим варіантом були гомозиготи за основним алелем (генотип С/С), який спостерігався у 64,0 % (64 особи) хворих на гострий панкреатит. Зафіксовано недостовірно ($p > 0,05$) підвищену частоту носіїв гетерозиготного алеля (генотип С/А) серед осіб із деструктивними формами гострого панкреатиту.

Установлено, що серед осіб із деструктив-

ними формами гострого панкреатиту носії мінорного алеля А/А взагалі відсутні порівняно з набряковою формою, що свідчить про протекторний вплив генотипу А/А щодо розвитку некрозу.

Результати дослідження поліморфізму гена ІЛ-10 (-592С/А) у хворих на деструктивний панкреатит (26 клінічних спостережень), які були оперовані (11 пацієнтів) порівняно з неоперованими (15 клінічних спостережень), наведені в таблиці 2.

Таблиця 2 – Розподіл осіб різних генотипів за поліморфізмом гена ІЛ-10 (-592С/А) у оперованих та неоперованих хворих на деструктивний панкреатит

Вид поліморфізму	Контроль		Хворі на гострий деструктивний панкреатит			
			неоперовані (n = 15)		оперовані (n = 11)	
	абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%
С/С	64	64,0	8	53,3	7	63,6
С/А	33	33,0	7	46,7	4	36,4
А/А	3	3,0	0	0	0	0

Спостерігається підвищена частота носіїв гомозиготи за алелем С/С серед осіб із деструктивними формами гострого панкреатиту, у яких виникли показання до оперативного лікування.

Серед хворих на деструктивну форму гост-

рого панкреатиту, у яких не було показань до оперативного лікування, частота гетерозиготного алеля С/А недостовірно перевищувала показник у оперованих хворих.

набряковою формою, що свідчить про протекторний вплив генотипу А/А щодо розвитку некрозу і достовірно має діагностичну значущість.

Висновки

У ході дослідження встановлено, що серед осіб із деструктивними формами ГП носії мінорного алеля А/А взагалі відсутні порівняно з

References (список літератури)

1. Velyhotskiy NN, Horbulych AV, Bodrova AYU. [Acute pancreatitis]. *International Medical Journal*. 2009;15(1):63–69.
2. Verkhuletskiy YE. [Prevention and treatment of peripancreatic infiltrate in acute de-

structive pancreatitis]. *Ukrainian Journal of Surgery*. 2009;(2):31–34.

3. Vynokurov MM, Savel'ev VV, Amosov VH. [Advantages and disadvantages of various surgical tactics in treatment of infected pancreonecrosis]. *Surgery*. 2009;(11):23–26.



4. Demyan DB, Tarasenko BC, Nykonorov AA. [Use of perftoran in complex treatment of acute pancreatitis]. *Vestnyk khyrurhyi ymeny Y.Y.Hrekova*. 2009;168(4):97–100.
5. Kucheryaviy YuA, Petrova NV, Ohanesyan TS. [Hereditary pancreatitis: from history to new discoveries]. *Farmateka*. 2011;(12):53–61.
6. Akhmetshyn PL, Boldyzhar AA, Boldyzhar PA. Neotlozhnaya khyrurhyia orhanov bryushnoy polosty (klynicheskoe rukovodstvo) [Emergency surgery of the abdominal cavity (clinical guide)]. Donetsk: Zaslavskyy AYU Publ., 2013. 720 p. (in Russian).
7. Lyakhovskiy VI, Demyanyuk DH, Dudchenko MO. [The reasons of postoperative mortality in acute destructive pancreatitis]. *Ukrainian Journal of Surgery*. 2011;(3):92–95.
8. Shevchenko IuL, Karpov OE, Vetshev PS. [The treatment of the early stages of the destructive pancreatitis]. *Surgery*. 2009;(6):4–9.
9. Sipliviy VA, Robak VI, Petrenko G D. [Postoperative lethality factors in acute necrotic pancreatitis]. *Kharkiv surgical school*. 2014;2(65):12–15.
10. Ooi CY, Dorfman R, Cipolli M. [Type of CFTR mutation determines risk of pancreatitis in patients with cystic fibrosis]. *Gastroenterology*. 2011;(1):153–161.
11. Vlachou PA, Khalili PA, Jang H.J. [IgG4-related sclerosing disease: autoimmune pancreatitis and extrapancreatic manifestations]. *RadioGraphics*. 2011;(31):1379–1402.
12. Whitcomb DC. The Pancreas: An Integrated Textbook of Basic Science, Medicine, and Surgery, 2nd ed., enl. / ed. by H.G. Beger et al. Blackwell Publ. Lim., 2008. pp. 427–436.

(received 12.11.2015 , published online 28.12.2015)

(одержано 12.11.2015, опубліковано 28.12.2015)

