

Ассоциация вариантов нуклеотидной последовательности гена *GSS* с риском развития острого билиарного панкреатита

Самгина Т.А.¹, Кочетова Л.В.²

¹ Курский государственный медицинский университет (КГМУ)
Россия, 305041, Курск, ул. К. Маркса, 3

² Красноярский государственный медицинский университет (КрасГМУ) им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого
Россия, 660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1

РЕЗЮМЕ

Цель: исследовать вклад вариантов нуклеотидной последовательности rs13041792, rs1801310 и rs6088660 гена *GSS* и некоторых средовых факторов в развитие острого билиарного панкреатита (ОБП) и его осложнений.

Материалы и методы. От 84 пациентов с ОБП и 573 здоровых индивидов были получены образцы крови для выделения геномной ДНК. Обе группы были сопоставимы по полу и возрасту. Диагностику заболевания проводили с использованием клинических рекомендаций, разработанных рабочей группой Российского общества хирургов. Геномную ДНК выделяли стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Мультиплексное генотипирование SNPs проводили по технологии iPLEX на генетическом анализаторе MALDI-TOF MassARRAY-4. Статистическую обработку данных осуществляли с использованием программы Statistica 10, SNPStats.

Результаты. Установлено, что недостаточное употребление свежих овощей и фруктов повышает риск развития ОБП у носителей генотипов G/A-A/A rs1801310 *GSS* ($p = 0,02$). Проведенный анализ установил ассоциацию аллеля T rs6088660 с вероятностью развития гнойного парапанкреатита ($p = 0,007$) и дигестивных свищей ($p = 0,02$). Высокая вероятность смертельного исхода была связана с носительством SNPs rs1801310 (генотип G/A, $p = 0,002$) и rs6088660 (генотип C/T, $p = 0,01$) гена *GSS*.

Заключение. Варианты нуклеотидной последовательности rs6088660 и rs1801310 гена *GSS* можно использовать для прогнозирования течения ОБП.

Ключевые слова: острый билиарный панкреатит, rs13041792, rs1801310 и rs6088660 гена *GSS*

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

Соответствие принципам этики. Все лица, участвующие в исследовании, подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено региональным этическим комитетом при КГМУ (протокол № 3 от 11.03.2013).

Для цитирования: Самгина Т.А., Кочетова Л.В. Ассоциация вариантов нуклеотидной последовательности гена *GSS* с риском развития острого билиарного панкреатита. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(1):64–68. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-64-68>.

Association of polymorphic loci of the *GSS* gene with the risk of acute biliary pancreatitis

Samgina T.A.¹, Kochetova L.V.²

¹ *Kursk State Medical University*
3, Karla Marksa Str., Kursk, 305041, Russian Federation

² *Krasnoyarsk State Medical University*
1, Partizana Zheleznyaka Str., Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To investigate the role of single nucleotide polymorphisms (SNPs) rs13041792, rs1801310, and rs6088660 in the *GSS* gene and environmental factors in the development of acute biliary pancreatitis (ABP) and its complications.

Materials and methods. The material for the study was blood samples obtained from 84 patients with ABP and 573 healthy individuals. Both groups were comparable in terms of gender and age. To diagnose ABP, we used the clinical guidelines recommended by the working group of the Russian Society of Surgeons. DNA was isolated by phenol / chloroform extraction. Multiplex genotyping of SNPs was performed by the iPLEX assay on the MALDI-TOF MassARRAY-4 genetic analyzer. Statistical data processing was performed using Statistica 10 and SNPStat software.

Results. We found that insufficient consumption of fresh vegetables and fruits increased the probability of ABP in carriers of genotypes G/A-A/A at rs1801310 in *GSS* ($p = 0.02$). The analysis revealed the association of the T allele at rs6088660 with the odds for developing acute pancreatitis ($p = 0.007$) and digestive fistulas ($p = 0.02$). A high probability of death was associated with rs1801310 (G/A genotype, $p = 0.002$) and rs6088660 (C/T genotype, $p = 0.01$) in the *GSS* gene.

Conclusion. SNPs rs6088660 and rs1801310 in the *GSS* gene can be used to predict the course of ABP.

Keywords: acute biliary pancreatitis, rs13041792, rs1801310, rs6088660 in the *GSS* gene

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors state that they received no funding for the study.

Conformity with the principles of ethics. All individuals included in the study signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the regional Ethics Committee at Kursk State Medical university (Protocol No. 3 of 11.03.2013).

For citation: Samgina T.A., Kochetova L.V. Association of polymorphic loci of the *GSS* gene with the risk of acute biliary pancreatitis. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(1):64–68. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-64-68>.

ВВЕДЕНИЕ

Острый билиарный панкреатит (ОБП) является осложнением желчнокаменной болезни и возникает вследствие нарушения оттока желчи и панкреатического сока, относится к группе мультифакторных заболеваний, развитие которых наступает вследствие взаимодействия генетических и средовых факторов. Поскольку в патогенезе заболевания ведущую роль выполняют ферменты поджелудочной железы, калликреин-кининовая система и цитокины, то основное количество исследований в мире посвящено изуче-

нию роли генов, ответственных за синтез именно этих ферментов [1–3]. К средовым факторам риска относят употребление жирной, жареной, острой пищи, стимулирующей экзокринную функцию поджелудочной железы, недостаточное употребление свежих овощей и фруктов, богатых витаминами и антиоксидантами, а также злоупотребление алкоголем и курение [4, 5].

Нарушения в системе редокс-гомеостаза, развивающиеся при ОБП вследствие преждевременной внутрипротоковой активации ферментов поджелудочной железы и гипертензии, приводят к повышению концентрации ионов кальция в ацинарных

клетках, именно этот механизм служит связующим звеном между активацией трипсиногена, ядерного фактора κB (NF κB), развитием митохондриальной дисфункции и гибелью клетки [6].

Наблюдаемое в начале развития острого панкреатита истощение внутриклеточного глутатиона [7, 8] побудило нас изучить вклад генов ферментов метаболизма глутатиона в патогенез развития ОБП. В литературе известны лишь единичные работы [9].

Основным ферментом биосинтеза глутатиона является глутатионсинтетаза, которая экспрессируется в печени и поджелудочной железе. Исследований, посвященных изучению его роли в развитии ОБП и его осложнений, в мире не проводилось.

Цель: исследовать вклад вариантов нуклеотидной последовательности rs13041792, rs1801310 и rs6088660 гена *GSS* и некоторых средовых факторов в развитие острого билиарного панкреатита и его осложнений.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами были обследованы и пролечены 84 пациента с острым билиарным панкреатитом (24 женщины и 60 мужчин) русской национальности (самоидентифицированы), находившиеся на стационарном лечении в хирургических отделениях больниц г. Курска – клинических базах кафедры хирургических болезней № 2 – в период с 2015 по 2021 г. Материалом исследования послужили образцы крови, полученные от 84 пациентов с ОБП и 573 (161 женщина и 412 мужчин) здоровых индивидов, отобранных в процессе проведенных за этот же период медицинских профилактических осмотров. Средний возраст больных составил $48,9 \pm 13,1$ года, здоровых лиц – $47,8 \pm 12,1$ года. Диагностику ОБП проводили с использованием клинических рекомендаций, разработанных рабочей группой Российского общества хирургов [10]. Все участники клинического исследования подписали добровольное информированное согласие, региональный этический комитет при Курском государственном медицинском университете одобрил протокол исследования (протокол № 3 от 11.03.2013). Также все участники исследования отвечали на вопросы анкеты, с помощью которой проведен анализ влияния средовых факторов риска заболевания [11].

Геномную ДНК выделяли стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Мультиплексное генотипирование SNPs проводили по технологии iPLEX на генетическом анализаторе MALDI-TOF MassARRAY-4 (AgenaBioscience, США).

Для сравнения категориальных переменных между группами использовали критерий χ^2 , для сравнения

количественных переменных – критерии Стьюдента (для нормально распределенных признаков) и Манна – Уитни (для признаков, отличных от нормальных). Поскольку распределение исследуемых количественных показателей крови статистически значимо отличалось от нормального ($p < 0,05$, тест Колмогорова – Смирнова), данные показатели представлены в виде медианы и интерквартильного размаха $Me (Q_1/Q_3)$. Для оценки влияния исследуемых SNPs на нормализованные количественные показатели использовали метод линейного регрессионного анализа.

Ассоциации аллелей и генотипов с вероятностью развития заболевания оценивали по величине отношения шансов (OR). Расчет отношения шансов и 95%-го доверительного интервала (95%CI) проводили методом логистического регрессионного анализа с коррекцией по полу и возрасту с помощью статистического пакета SNPStats. Для оценки ассоциаций ДНК-маркеров с клиническими характеристиками (клинические формы, симптомы, характер течения, степень тяжести болезни, эффективность лечения) также использовали логистический регрессионный анализ. Поправку на множественность тестов проводили процедурой пермутационных тестов (P_{perm}) с использованием программы PLINK.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Частоты генотипов изучаемых SNPs гена *GSS* находились в равновесии Харди – Вайнберга в обеих исследуемых группах. Ассоциации изучаемых вариантов нуклеотидной последовательности с ОБП мы не обнаружили.

Проведенный анализ вклада средовых факторов риска (злоупотребление алкоголем по частоте, объему и длительности, курению, содержанию белков, жиров и углеводов в потребляемой пище) в развитие заболевания установил, что недостаточное употребление свежих овощей и фруктов (менее 27 г/сут) повышает вероятность развития ОБП у носителей генотипов G/A-A/A rs1801310 *GSS* (табл. 1). Представлены только статистически значимые результаты.

Анализ влияния SNPs на лабораторные показатели: уровень амилазы, окисленного глутатиона, лейкоцитов крови установил ассоциацию *GSS* (rs1801310) с лейкоцитозом крови (табл. 2).

В ходе исследования также было установлено, что частота генотипа GG rs1801310 *GSS* была наименьшей у пациентов с тяжелой формой острого панкреатита ($p = 0,01$) в сравнении с легкой и средней степенью тяжести болезни.

Проведенный анализ ассоциаций вариантов нуклеотидных последовательностей гена *GSS* с вероятностью развития осложнений установил, что

rs6088660 *GSS* (аллель Т, OR = 1,62; 95%CI 1,14–2,29; $p = 0,007$) ассоциирован с развитием гнойного парапанкреатита и формированием дигестивных свищей (аллель Т, OR = 4,54; 95%CI 1,19–17,33; $p = 0,02$).

Высокая вероятность смертельного исхода наблюдалась у носителей генотипа G/A (OR = 6,76; 95%CI 1,51–30,38; $p = 0,002$) rs1801310 и генотипа C/T rs6088660 (OR = 4,01; 95%CI 1,24–13,04; $p = 0,01$) гена *GSS*.

Таблица 1

Влияние употребления в пищу свежих овощей и фруктов на развитие ОБП у носителей изучаемых вариантов нуклеотидной последовательности rs1801310 гена <i>GSS</i>						
Генотип	Отсутствие фактора риска			Наличие фактора риска		
	Здоровые	Больные ОБП	OR (95% CI) ¹ , P^2	Здоровые	Больные ОБП	OR (95% CI) ¹ , P^2
G/G	61 (35,5)	13 (40,6)	0,74 (0,33–1,62) 0,6	13 (59,1)	16 (30,8)	4,12 (1,38–12,28) 0,02
G/A-A/A	111 (64,5)	19 (59,4)		9 (40,9)	36 (69,2)	

¹ отношение шансов и 95%-й доверительный интервал ассоциаций SNPs с вероятностью развития болезни;

² уровень значимости для наиболее значимых генетических моделей ассоциаций SNPs с вероятностью развития заболевания.

Таблица 2

Установленные связи исследованных SNPs гена <i>GSS</i> с количественными показателями лейкоцитов крови больных ОБП			
Показатель	<i>Me</i>	Q_1/Q_3	p^*
<i>GSS</i> G>A (rs1801310)	7,50	6,50/11,80	0,0005 ^D
	9,10	6,75/15,00	
	7,90	6,60/11,20	

Примечание. D – доминантная модель.

* уровень статистической значимости связи SNP с нормализованными показателями крови (линейный регрессионный анализ).

ОБСУЖДЕНИЕ

Нарушение в системе редокс-гомеостаза лежит в основе многих острых и хронических заболеваний, в связи с этим изучение роли генов ферментов метаболизма глутатиона заинтересовало исследователей. При изучении влияния rs1801310 гена *GSS* на риск развития миомы матки О.К. Кудрявцева и соавт. не обнаружили ассоциации локуса с заболеванием [12]. Однако были установлены ассоциации rs1801310 и rs6088660 гена *GSS* с вероятностью развития ишемического инсульта у мужчин и женщин [13].

Ю.Э. Азарова и соавт. при изучении диабета 2-го типа установили ассоциацию rs13041792 и rs6088660 *GSS* с изменением уровня глюкозы крови натощак у мужчин, SNP rs6088660 *GSS* – со снижением уровня перекиси водорода у женщин и SNP rs1801310 *GSS* – со снижением уровня общего глутатиона у женщин [14]. W. Tang и соавт. установили ассоциацию rs13041792 гена *GSS* с уровнем протеина С в плазме крови [15].

Анализ коэффициентов установил корреляцию экспрессии генов ферментов метаболизма глутатиона (ГФМГ) друг с другом и генами ферментов антиоксидантной системы (*GPX2*, *GSTP1*), также обращает на себя внимание их ко-экспрессия с генами-кандидатами панкреатита. Экспрессия гена *GSS* была поло-

жительно ассоциирована с уровнем мРНК гена *GGT6* ($r = 0,283$; $p = 0,0001$). SNPs rs1801310 и rs6088660 ассоциировались с повышением транскрипционной активности гена *GSS* в поджелудочной железе ($p = 0,01$) и печени ($p \leq 0,05$). Для вариантов нуклеотидной последовательностей ГФМГ установлены многочисленные eQTLs, ассоциированные с экспрессией молекулярных шаперонов в поджелудочной железе.

Аллель А rs13041792 гена *GSS* ассоциировался с повышенной экспрессией генов *HSP61* ($p = 0,0056$; $\beta = 0,11$), *HSPA1A* ($p = 0,0032$; $\beta = 0,16$), *HSPBPI* ($p = 0,0037$; $\beta = 0,15$), *HSPA4* ($p = 0,034$; $\beta = 0,095$), *HSPH1* ($p = 0,026$; $\beta = 0,12$), *DNAJ1* ($p = 0,019$; $\beta = 0,12$) и пониженной экспрессией *HSPA12A* ($p = 0,0019$; $\beta = -0,27$). Аллель Т rs6088660 *GSS* был ассоциирован с пониженной экспрессией генов шаперонов *HSP61* ($p = 0,030$, $\beta = -0,071$), *HSPA1A* ($p = 0,016$; $\beta = -0,11$), *HSPA1B* ($p = 0,0019$; $\beta = -0,13$), *HSPH1* ($p = 0,021$; $\beta = -0,10$) и *DNAJ1* ($p = 0,022$; $\beta = -0,11$). Аллель G rs1801310 гена *GSS* ассоциировался с повышением мРНК гена *HSPB1* ($p = 0,023$; $\beta = 0,083$). Аллель G rs1801310 гена *GSS* положительно коррелировал с уровнем экспрессии гена катепсина *CTSG* ($p = 0,048$; $\beta = 0,13$). Аллель G rs1801310 гена *GSS* – с повышенным уровнем экспрессии генов *AMY2A* ($p = 0,05$; $\beta = 0,075$), *CTRL* ($p = 0,011$; $\beta = 0,081$), *PRSSI* ($p = 0,043$; $\beta = 0,046$) и *SPINK1* ($p = 0,032$; $\beta = 0,096$). Аллель А rs13041792 *GSS* ассоциировался с увеличением транскрипционной активности гена *SPINK1* ($p = 0,032$; $\beta = 0,096$). Аллель Т rs6088660 *GSS* ассоциирован с повышенным уровнем экспрессии гена *CPA3* ($p = 0,035$; $\beta = -0,12$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенного исследования мы установили, что недостаточное употребление свежих овощей и фруктов повышает вероятность развития ОБП

у носителей генотипов G/A-A/A rs1801310 GSS ($p = 0,02$). Проведенный анализ ассоциаций вариантов нуклеотидной последовательности гена GSS с повышенной вероятностью развития осложнений установил ассоциацию аллеля T rs6088660 с развитием гнойного парапанкреатита ($p = 0,007$) и формированием дигестивных свищей ($p = 0,02$). Высокая вероятность смертельного исхода наблюдалась у носителей генотипа G/A rs1801310 ($p = 0,002$) и генотипа C/T rs6088660 ($p = 0,01$) гена GSS. Варианты нуклеотидной последовательности rs6088660 и rs1801310 гена GSS можно использовать для прогнозирования течения острого билиарного панкреатита.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Whitcomb D.C. Pancreatitis: TIGAR-O version 2 risk/etiology checklist with topic reviews, updates, and use primers. *Clinical and Translational Gastroenterology*. 2019;10(6):27–41. DOI: 10.14309/ctg.0000000000000027.
- Mayerle J., Sendler M., Hegyi E., Beyer G., Lerch M.M., Sahin-Tóth M. Genetics, cell biology, and pathophysiology of pancreatitis. *Gastroenterology*. 2019;156(7):1951–1968. DOI: 10.1053/j.gastro.2018.11.081.
- Дунаевская С.С., Сергеева Е.Ю., Деулина В.В., Доморацкая Е.А., Замбрицкая М.К. Роль полиморфизмов rs16944 (-511C/T) гена *IL1B* и rs1143634 (+3954 C/T) гена *IL1B* как генетических предикторов развития острого панкреатита. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2022;(8):28–34. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-204-8-28-34.
- Коденцова В.М., Вржесинская О.А., Рисник Д.В., Никитюк Д.Б., Тутельян В.А. Обеспеченность населения России микронутриентами и возможности ее коррекции. Состояние проблемы. *Вопросы питания*. 2017;86(4):113–124. DOI: 10.24411/0042-8833-2017-00067.
- Исаков В.А., Морозов С.В., Пилипенко В.И. Глава 16. Лечебное питание при заболеваниях гепатобилиарной системы и поджелудочной железы. В кн.: Нутрициология и клиническая диетология; под ред. В.А. Тутельяна, Д.Б. Никитюка. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2021:415–435.
- Ачкасов Е.Е., Винник Ю.С., Дунаевская С.С. Иммунопатогенез острого панкреатита. М.: ИНФРА-М, 2021:162.
- Rau B., Poch B., Gansauge F. Pathophysiologic role of oxygen free radicals in acute pancreatitis: initiating event or mediator of tissue damage? *Ann. Surg.* 2000;231(3):352–360. DOI: 10.1097/0000658-200003000-00008.
- Siegmund E., Weber H., Kasper M., Jonas L. Role of PGE2 in the development of pancreatic injury induced by chronic alcohol feeding in rats. *Pancreatol.* 2003;3(1):26–35. DOI: 10.1159/000069141.
- Schneider A., Tögel S., Barmada M., Whitcomb D.C. Genetic analysis of the glutathione s-transferase genes MGST1, GSTM3, GSTT1, and GSTM1 in patients with hereditary pancreatitis. *Journal of Gastroenterology*. 2004;39:783–787. DOI: 10.1007/s00535-004-1389-7.
- Кубышкин В.А., Затевахин И.И., Багненко С.Ф., Благовестнов Д.А., Вишневский В.А., Гальперин Э.И. Национальные клинические рекомендации по острому панкреатиту. URL: <http://xn-9sbdbejx7bdduahu3a5d.xn-plai/stranica-pravlenija/unkr/urgentnaja-abdominalnaja-hirurgija/nacionalnye-klinicheskie-rekomendaci-po-ostromu-pankreatitu.html>
- Самгина Т.А., Лазаренко В.А. Роль полиморфных вариантов rs11546155 и rs6119534 гена *GGT7* и некоторых факторов а в развитии острого панкреатита. *Вопросы питания*. 2022;91(2):43–50. DOI: 10.33029/0042-8833-2022-91-2-43-50.
- Кудрявцева О.К., Барышева Е.М., Вдовина И.Н., Клиновская А.А., Новикова Е.А., Полоников А.В. и др. Ассоциация полиморфных вариантов генов, вовлеченных в метаболизм глутатиона, с риском развития миомы матки. *Медицинская генетика*. 2020;19(6):52–54. DOI: 10.25557/2073-7998.2020.06.52-54.
- Бочарова Ю.А. Исследование ассоциаций трёх полиморфных вариантов гена глутатионсинтазы (GSS) с риском развития ишемического инсульта. *Научные результаты биомедицинских исследований*. 2020;6(4):476–487. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-4-0-4.
- Azarova I., Klyosova E., Polonikov A. The link between type 2 diabetes mellitus and the polymorphisms of glutathione-metabolizing genes suggests a new hypothesis explaining disease initiation and progression. *Life*. 2021;11(9):886. DOI: 10.3390/life11090886.
- Tang W., Basu S., Kong X., Pankow J.S., Aleksic N., Tan A. et al. Genome-wide association study identifies novel loci for plasma levels of protein C: The ARIC study. *Blood*. 2010;116:5032–5036. DOI: 10.1182/blood-2010-05-283739.

Информация об авторах

Самгина Татьяна Александровна – канд. мед. наук, доцент, кафедра хирургических болезней № 2, КГМУ, г. Курск, tass@list.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7781-3793>

Кочетова Людмила Викторовна – канд. мед. наук, доцент, кафедра общей хирургии, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Яснецкого, г. Красноярск, e-mail:kochetovlv@bk.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5784-7067>

✉ Самгина Татьяна Александровна, tass@list.ru

Поступила в редакцию 01.05.2023;
одобрена после рецензирования 26.05.2023;
принята к публикации 14.09.2023