

Самгина Татьяна Александровна

**РОЛЬ ГЕНЕТИЧЕСКИХ И СРЕДОВЫХ ФАКТОРОВ В РАЗВИТИИ И
КЛИНИЧЕСКОМ ТЕЧЕНИИ ОСТРОГО ПАНКРЕАТИТА И
РАЗРАБОТКА НОВЫХ ПОДХОДОВ К ДИАГНОСТИКЕ, ЛЕЧЕНИЮ И
ПРОФИЛАКТИКЕ БОЛЕЗНИ**

3.1.9. Хирургия (медицинские науки)

1.5.7. Генетика (медицинские науки)

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук

Работа выполнена на кафедре хирургических болезней №2 ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные консультанты:

доктор медицинских наук, профессор П.М. Назаренко;

доктор медицинских наук, профессор А.В. Полоников

Официальные оппоненты:

Пархисенко Юрий Александрович – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры специализированных хирургических дисциплин ФГБОУ ВО "Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Теплякова Ольга Валериевна – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры общей хирургии ФГБОУ ВО "Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого" Министерства здравоохранения Российской Федерации

Назаренко Мария Сергеевна – доктор медицинских наук, руководитель лаборатории популяционной генетики Научно-исследовательского института медицинской генетики федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский Национальный Исследовательский Медицинский Центр Российской Академии Наук»

Ведущая организация:

Национальный медико-хирургический центр имени Н. И. Пирогова Минздрава России

Защита диссертации состоится «20» июня 2023г. в 10:00 часов на заседании диссертационного совета 21.2.013.02 ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. ВойноЯсенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1. С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Автореферат разослан «___» _____ 2023 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат медицинских наук, доцент

Кочетова Людмила Викторовна

Общая характеристика работы

Актуальность темы исследования. Острый панкреатит (ОП) в связи с высокой распространенностью, ростом заболеваемости и инвалидизации пациентов является важной социальной и экономической проблемой современной медицины. В структуре заболеваний «острого живота» ОП составляет 25-35% и занимает второе место, уступая только острому аппендициту (Затевахин И.И. и соавт. 2020). Летальность от осложнений и послеоперационная летальность остается на высоком уровне и составляет 20-25%. За последние 30 лет отмечена общемировая тенденция к увеличению заболеваемости ОП более чем в два раза (Затевахин И.И. и соавт. 2020).

Многочисленные исследования доказали, что панкреатит имеет мультифакториальную природу и его развитие детерминировано взаимодействием как генетических факторов, так и факторов окружающей среды (Angsuwatcharakon P. et al., 2018; Whitcomb D.C., 2019; Weiss F.U., 2019; Pandol S.J., 2019; Papachristou G.I., 2019). Наибольший интерес исследователей при изучении генетической природы панкреатита привлекли гены ферментов поджелудочной железы (Weiss F.U. et al., 2019; Radosavjevich I. et al., 2019; Whitcomb D.C. et al., 2020), биотрансформации ксенобиотиков (ФБК) (Ściskalska M. et al., 2020; Ściskalska M. et al., 2021) и цитокинов (Sandler M. et al., 2020; Weiss F.U. et al., 2020), а также генов-регуляторов липидного обмена (Chen T.Z. et al., 2019; Chang Y.T. et al., 2020; Han P. et al., 2020).

Хотя ключевым патогенетическим звеном панкреатита является преждевременная активация пищеварительных ферментов с последующим самоперевариванием тканей поджелудочной железы (Савельев В.С., 2009; Кубышкин В.А., 2009), по-прежнему остаются невыясненными причины, которые инициируют данные патологические процессы. Многие авторы отводят важную роль нарушениям антиоксидантной системы (АОС) в развитии острого панкреатита (Guo Y.Y. et al., 2019; Sahin-Tóth M. et al., 2019; Weiss F.U. et al., 2019). Ключевым антиоксидантом является глутатион, и поддержание его внутриклеточной концентрации на высоком уровне необходимо не только для защиты клеток от окислительного стресса, но и для обеспечения нормального течения многих физиологических процессов, в том числе синтеза, созревания и экскреции ферментов в поджелудочной железе (Sahin-Tóth M. et al., 2019; Weiss F.U. et al., 2019; Ściskalska M. et al., 2020).

В клинической практике существует потребность в использовании генетических маркеров для индивидуального прогнозирования риска развития и течения панкреатита, вероятности развития осложнений, а также для выбора оптимально эффективного и безопасного способа лечения. Такие критерии могут быть основаны на комплексной оценке средовых факторов риска болезни и генетических маркеров с высокой прогностической значимостью.

Степень разработанности темы исследования. Многочисленные исследования, посвященные изучению вовлеченных в патогенез панкреатита различных классов генов, диктует необходимость проведения комплексных исследований, направленных на всестороннюю оценку роли известных генов-

кандидатов панкреатита, генов ферментов АОС и ФБК, в том числе генов метаболизма глутатиона, в развитии, клиническом проявлении заболевания и выборе лечебной тактики, которые до настоящего времени не проводилось.

Цель исследования – провести анализ эффективности консервативного и хирургического лечения острого алкогольно-алиментарного и билиарного панкреатита, проанализировать взаимосвязи различных генетических и средовых факторов с предрасположенностью и риском развития осложнений, на основании полученных результатов разработать новые подходы к диагностике, профилактике и лечению заболевания.

Задачи исследования:

1. Проанализировать результаты лечения острого билиарного панкреатита и разработать способ применения лазера при эндоскопической папиллотомии у пациентов с «вклиненным» холедохолитиазом и билиарным панкреатитом.

2. Разработать способ применения лазера при эндоскопической папиллотомии у пациентов с «вентильным» холедохолитиазом и билиарным панкреатитом.

3. Проанализировать результаты лечения острого алкогольно-алиментарного панкреатита и разработать способ и устройство для лапароскопического дренирования сальниковой сумки у больных с перитонитом.

4. Провести комплексный генетический анализ ассоциаций полиморфных вариантов генов ферментов АОС, ФБК, метаболизма глутатиона и генов-кандидатов панкреатита с риском развития острого алкогольно-алиментарного и билиарного панкреатита.

5. Провести комплексный анализ совместного влияния различных средовых факторов и полиморфных локусов генов на риск развития острого алкогольно-алиментарного и билиарного панкреатита и смоделировать наиболее значимые межгенные и генно-средовые взаимодействия.

6. Исследовать ассоциации полиморфных локусов генов с тяжестью клинических проявлений, клинико-лабораторными показателями, риском развития осложнений и исходом у больных острым алкогольно-алиментарным и билиарным панкреатитом.

7. Провести функциональное аннотирование исследуемых полиморфных локусов генов с целью патофизиологической интерпретации гено-фенотипических взаимосвязей с использованием различных биоинформатических подходов.

8. Разработать способ применения препарата восстановленного глутатиона для внутривенного введения у пациентов с острым алкогольно-алиментарным панкреатитом и оценить его эффективность с учетом генетического статуса пациента.

Научная новизна исследования. Впервые разработаны и практически применены новые эффективные и безопасные мини-инвазивные способы лечения острого панкреатита. Впервые на репрезентативной группе пациентов проведен всесторонний анализ вовлеченности широкого спектра полиморфных вариантов

генов ферментов АОС, ФБК, метаболизма глутатиона и генов-кандидатов панкреатита в детерминацию предрасположенности к острому алкогольно-алиментарному (ОААП) и острому билиарному (ОБП) панкреатиту, а также оценена их связь с клиническим течением, результатом лечения и исходом острого панкреатита. Установлены новые генетические маркеры предрасположенности к острому панкреатиту, среди которых ведущее место занимали полиморфные варианты генов ферментов метаболизма глутатиона, антиоксидантной системы и биотрансформации ксенобиотиков. Выявлен спектр генетических маркеров, ассоциированных с развитием осложнений при остром панкреатите. Установлены уникальные сочетания генотипов полиморфных вариантов различных классов генов, определяющих предрасположенность к острому алкогольно-алиментарному и билиарному панкреатиту. Впервые обнаружена высокая эффективность внутривенного введения восстановленного глутатиона при остром алкогольно-алиментарном панкреатите в дозе 0,646 граммов натриевой соли лиофилизированного восстановленного глутатиона, растворенного в 4 мл воды для инъекций, один раз в сутки в течение 7 дней в IА фазе с целью профилактики развития осложнений у пациентов с генотипами высокого риска неблагоприятного течения болезни. Впервые показана возможность использования полиморфных вариантов различных классов генов в качестве предикторов эффективности отдельных консервативных и хирургических методов лечения острого панкреатита и его осложнений.

Теоретическая и практическая значимость работы. Внедрены в клиническую практику эффективные и безопасные способы мини-инвазивного лечения острого алкогольно-алиментарного и билиарного панкреатита. Результаты исследования расширяют представления об этиологии и молекулярных механизмах развития острого панкреатита, роли нарушений метаболизма глутатиона и эффективности восстановления его эндогенного пула как методов лечения и профилактики. Генетические маркеры, показавшие статистически значимые ассоциации с риском развития острого панкреатита, могут использоваться для предиктивного тестирования (как в рамках медико-генетического консультирования, так и при «генетической паспортизации» населения) предрасположенности к заболеванию, прогнозирования риска развития осложнений и определения лечебной тактики. В качестве мер профилактики острого панкреатита целесообразными являются мероприятия по поддержанию в организме нормального уровня глутатиона посредством сбалансированного питания, запрета или ограничения курения, злоупотребления алкоголем. Результаты диссертационного исследования могут использоваться в рабочих программах по дисциплинам хирургия, медицинская генетика, гастроэнтерология, патофизиология и биохимия и для преподавания на циклах повышения квалификации врачей в рамках непрерывного медицинского образования.

Методология и методы исследования. В основу исследования положена идея о комплексной вовлеченности полиморфизмов известных генов-кандидатов панкреатита, генов АОС, ФБК и метаболизма глутатиона в формирование

предрасположенности к развитию острого панкреатита, его осложнений и исход. Данное исследование выполнено в дизайне – «случай-контроль». Репрезентативность клинического и биологического материалов ($n=1120$) обосновывает высокую статистическую мощность исследования (не менее 80%). Пациенты прошли необходимое клиническое, лабораторно-инструментальное обследование и получили высококвалифицированную медицинскую помощь с применением современных установленных клиническими рекомендациями и предложенными нами способов лечения в больницах города – клинических базах кафедры хирургических болезней № 2. В молекулярно-генетическое исследование были включены полиморфные локусы известных генов-кандидатов панкреатита, генов АОС и ФБК и метаболизма глутатиона. Генотипирование SNPs выполнено с использованием современных молекулярно-генетических методов, включая метод MALDI-TOF, масс-спектрометрию, ПЦР в режиме реального времени с дискриминацией аллелей с помощью TaqMan-зондов. В исследовании использовался широкий спектр методов статистического, генетико-статистического и биоинформатического анализа данных.

Положения, выносимые на защиту:

1. Применение эндоскопической папиллотомии с использованием лазера, как в случае «вклиненного», так и «вентильного» холедохолитиаза снижает риск развития постманипуляционных осложнений, позволяет эффективно и безопасно устранить холедохолитиаз и улучшить результаты лечения пациентов с острым билиарным панкреатитом.

2. У больных с перитонитом и признаками тяжелого течения панкреонекроза с высокой вероятностью инфицирования (большое количество очагов стеатонекроза на париетальной брюшине и большом сальнике, наличие геморрагического выпота) применение лапароскопического дренирования брюшной полости и дренирования сальниковой сумки предложенным нами способом позволяет снизить частоту развития гнойных осложнений, сократить длительность стационарного лечения.

3. Полиморфные варианты генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков, антиоксидантной системы и метаболизма глутатиона, а также отдельные гены-кандидаты представляют собой значимые генетические маркеры предрасположенности к острому панкреатиту у жителей Центральной России. Потенциальные молекулярные механизмы, посредством которых данные гены вовлечены в патогенез болезни, включают: эндогенный дефицит глутатиона, обуславливающий развитие окислительного повреждения клеток, нарушение фолдинга пищеварительных ферментов в эндоплазматическом ретикулуме (ЭР), активацию ЭР-стресса и запуск клеточного ответа на неупакованные белки; внутриацинарную активацию пищеварительных ферментов и нарушение их секреции в протоки ПЖ; аутофагию и апоптоз клеток; воспалительные и некротические изменения поджелудочной железы.

4. Полиморфные варианты исследованных генов вносят неравнозначный вклад в детерминацию предрасположенности к острому билиарному и алкогольно-алиментарному панкреатиту. В развитии алкогольно-

алиментарного панкреатита определяющую роль играют гены-регуляторы активности панкреатических ферментов (*SPINK1* и *PRSS1*), гены ферментов биотрансформации ксенобиотиков (*ABCB1* и *NQO1*) и ген глутатионредуктазы, восстанавливающий окисленный глутатион (*GSR*); в развитии билиарного панкреатита – гены ферментов метаболизма глутатиона (*GCLM*, *GGT1*, *GGT5*, *GSTT1*) и гены интерлейкинов (*IL1B* и *IL5*). Общими генами предрасположенности к острому билиарному и алкогольно-алиментарному панкреатиту были полиморфные варианты генов ферментов метаболизма глутатиона (*GCLC*, *GGT7*), антиоксидантной системы (*AOX1*) и интерлейкина 10 (*IL10*).

5. Полиморфные варианты исследованных генов представляют собой значимые предикторы клинического течения и осложнений, развивающихся на фоне острого панкреатита. Наибольший вклад в детерминацию гнойно-воспалительных и деструктивных осложнений острого панкреатита вносили гены ферментов метаболизма глутатиона, биотрансформации ксенобиотиков и цитокинов.

6. Внутривенное введение препарата восстановленного глутатиона при остром алкогольно-алиментарном панкреатите у пациентов с генотипами высокого риска неблагоприятного течения болезни в дозе 0,646 граммов натриевой соли лиофилизированного восстановленного глутатиона, растворенного в 4 мл воды для инъекций, один раз в сутки в течение 7 дней в IА фазе способствует существенному и быстрому снижению тяжести клинических проявлений, уменьшению частоты развития осложнений и сокращению сроков госпитализации.

Степень достоверности и апробация результатов. Степень достоверности полученных результатов подтверждается репрезентативными выборками, собранными для выполнения исследования, корректным формированием опытных и контрольной групп, использованием современных методов диагностики и лечения острого панкреатита, молекулярно-генетических, генетико-статистических и биоинформатических методов анализа данных.

Материалы диссертационного исследования доложены на VII съезде Российского общества медицинских генетиков (Санкт-Петербург, 2015), на научно-практической конференции, посвященной 80-летию КГМУ, памяти и 80-летию проф. В.Г. Гладких «Заболевания поджелудочной железы» (Курск, 2015), на VII Международном биомедицинском конгрессе «SHBC-2016: Advancing Healthcare Into The Future: Innovate, Improve, Integrate» (Сингапур, 2016), на 3-й Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Медико-биологические аспекты мультифакториальной патологии» (Курск, 2016), на международной научной конференции, посвященной 83-летию Курского государственного медицинского университета (Курск, 2018), на международной научной конференции стран содружества ШОС (Китай, 2019), на VIII научно-практической конференции с международным участием «Генетика - фундаментальная основа инноваций в медицине и селекции» (Ростов-на-Дону, 2019), XIII съезде хирургов России (Москва, 2020), ежегодных научно-

практических конференциях «Университетская наука: взгляд в будущее» (Курск, 2015-2022), опубликованы в «Научных ведомостях Белгородского государственного университета» (Белгород, 2019), а также в «Курском научно-практическом вестнике «Человек и его здоровье» (Курск, 2018, 2019, 2020).

Личный вклад автора. Автор провела анализ данных отечественной и зарубежной литературы по теме диссертационного исследования. Автор самостоятельно выполнила все этапы исследования: осуществляла сбор клинического и биологического материала, принимала непосредственное участие в обследовании и лечении больных с острым панкреатитом, лично проводила все молекулярно-генетические исследования, самостоятельно статистически обрабатывала данные, анализировала и интерпретировала полученные результаты.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Диссертационное исследование соответствует паспорту научной специальности: формуле специальности: 3.1.9. Хирургия: 1. Изучение причин, механизмов развития хирургических заболеваний. 2. Разработка и усовершенствование методов диагностики и предупреждения хирургических заболеваний. 3. Экспериментальная и клиническая разработка методов лечения хирургических болезней и их внедрение в клиническую практику. 4. Экспериментальная и клиническая разработка современных высоко технологичных методов хирургического лечения, в том числе эндоскопических. 1.5.7. Генетика (медицинские науки): Генетика человека и медицинская генетика. 1. Мультифакторные заболевания. 2. Разработка методов диагностики наследственных заболеваний и предрасположенности к ним. 3. Математическая генетика и биоинформатика.

Публикации. По результатам диссертации опубликовано 40 печатных работ, из которых 21 – в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для публикаций результатов диссертационных исследований, из них 9 – в журналах Scopus, получено 2 евразийских патента и 2 патента РФ.

Объем и структура диссертации. Работа представлена на 350 страницах машинописного текста, содержит 57 таблиц, 20 рисунков. Библиографический список используемой литературы включает 335 источников, из которых 279 зарубежные. Диссертационная работа имеет следующую структуру: введение, литературный обзор, главу материалов и методов исследования, 6 глав результатов собственных исследований, обсуждение полученных результатов, заключение, выводы, практические рекомендации, список литературы и приложения.

Основное содержание работы

Материалы и методы исследования. Основная выборка включала 547 больных острым панкреатитом (84 – острым билиарным, 463 – острым алкогольно-алиментарным панкреатитом) (средний возраст $48,6 \pm 6,4$ года, 393 мужчины и 154 женщины), которые в период с 2013 по 2018 год находились на стационарном лечении в хирургических отделениях городской клинической больницы № 4 (ОБУЗ КГКБ № 4) и отделенческой клинической больницы на станции Курск (ОКБ на ст. Курск). Материалом для генетического

исследования послужили образцы ДНК 1120 неродственных индивидов – жителей Центральной России славянского происхождения (русской национальности), проживающих на территории города Курска и Курской области. Для сравнения с группой из 547 больных ОП использовали контрольную выборку из 573 пациентов, соответствующих основной группе по полу и возрасту (средний возраст $48,9 \pm 7,2$ года, 412 мужчин и 161 женщина), отобранных в процессе проведенных за этот же период медицинских профилактических осмотров.

Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Протокол исследования одобрен региональным этическим комитетом при Курском государственном медицинском университете (протокол № 3 от 11.03.2013).

Диагноз устанавливали по результатам проведенных клинико-лабораторных и инструментальных методов исследования. Применяли классификацию ОП, разработанную рабочей группой Российского Общества Хирургов, с учётом классификации Атланта–92 и её модификаций, предложенных в г. Кочин (2011 г.) (Международная Ассоциация Панкреатологов) и Международной рабочей группой по классификации острого панкреатита (Acute Pancreatitis Classification Working Group, 2012 г.). Для оценки тяжести и прогноза развития заболевания применяли шкалу APACHEII (Acute Physiology, Age, Chronic Health Evaluation II), для оценки органной недостаточности – шкалу SOFA.

По результатам исследования в таблице 1 представлена характеристика клинических форм и осложнений острого панкреатита в основной группе пациентов.

Таблица 1- Характеристика клинических форм и осложнений острого панкреатита в основной группе пациентов

Клинические формы и осложнения острого панкреатита	Острый алкогольно-алиментарный панкреатит n=463 (100%)	Острый билиарный панкреатит n=84 (100%)
Отечный панкреатит	215 (46,4)	41 (48,8)
Мелкоочаговый стерильный панкреонекроз	76 (16,4)	35 (41,7)
Среднеочаговый стерильный панкреонекроз	67 (14,5)	-
Крупноочаговый стерильный панкреонекроз	63 (13,6)	6 (7,1)
Субтотально-тотальный стерильный панкреонекроз	42 (9,1)	-
Осложнения ОП		
Перитонит - ферментативный - бактериальный	114 (24,6)	4 (4,8) 2 (2,4)
Холедохолитиаз	-	84 (15,3)
Вклиненный холедохолитиаз	-	32 (38,0)
Вентильный холедохолитиаз	-	42 (50,0)
Транзиторный холедохолитиаз	-	10 (12,0)
Калькулезный холецистит		

- острый холецистит:		70 (83,3)
катаральный		
(ферментативный)		56 (66,6)
флегмонозный		10 (11,9)
гангренозный		4 (4,8)
- хронический холецистит		14 (16,7)
Изменение в зоне БСДК		
-папиллит		7 (8,3)
-стеноз		3 (3,5)
-перипапиллярный дивертикул		4 (4,8)
-парапапиллярный дивертикул		3 (3,5)

Клиническое исследование. Пациенты с билиарным панкреатитом (N=84) были разделены на три группы в зависимости от типа холедохолитиаза (Гольцов В.Р., Батиг Е.В., 2017): «вклиненный» (n=32), «вентильный» (n=42) и «транзиторный» (n=10). В зависимости от способа папиллотомии пациенты подразделялись на две группы: в контрольной группе использовали папиллотом с электрокоагуляционной струной, в основной – применяли лазер, так как он обладает меньшей повреждающей способностью, надежно осуществляет гемостаз по линии разреза передней стенки БСДК. При «вклиненном» холедохолитиазе в контрольную группу вошли 20 пациентов, в основную – 12. При «вентильном» холедохолитиазе в контрольную группу вошли 27 пациентов, в основную – 15. С целью профилактики развития постманипуляционного панкреатита всем больным назначались ингибиторы протеаз. Пациентам с «транзиторным» холедохолитиазом выполнялась ЛХЭ с интраоперационной холангиографией. Результаты лечения оценивались по срокам нормализации биохимических показателей крови и мочи, частоте развития панкреонекроза и осложнений. Выбор способа оперативного вмешательства при панкреонекрозе зависел от клинической ситуации.

Хирургическое вмешательство у пациентов с ОААП показано при формировании жидкостных осложнений. Пациенты, которым было выполнено хирургическое лечение, были разделены на две группы. В контрольную группу вошло 232 больных, проходивших стационарное лечение в хирургических отделениях клинических баз кафедры хирургических болезней с 2013 по 2015 годы, в основную группу вошло 231 больных, пролеченных в период с 2016 по 2018 годы, с применением мини-инвазивных методов лечения, рекомендованных Российским обществом хирургов, и предложенных нами способами. При хирургическом лечении перитонеального синдрома с признаками тяжелого течения панкреонекроза (наличие геморрагического выпота, большого количества бляшек стеатонекроза на париетальной брюшине и большом сальнике), руководствуясь принципом минимальной анестезиологической и хирургической агрессии, а также с целью формирования и поддержания общей полости и создания хорошего доступа к зоне ПЖ, при лапароскопии первым этапом санации мы применили предложенный нами эндовидеохирургический способ дренирования брюшной полости и сальниковой сумки у 12 больных (евразийский патент № 025548, 2017).

Техника операции. При проведении лапароскопии после осмотра и

санации брюшной полости и сальниковой сумки формировали оментобурсостому. В полость сальниковой сумки устанавливали устройство для этапных некрсеквестрэктомий. Фиксировали его к коже. Ушивали послеоперационную рану. В полость сальниковой сумки устанавливали латексные баллоны справа и слева к селезенке и дренажные трубки в верхнем и нижнем ее отделе. В нижний отдел проводили дренаж через разрез в поясничной области слева под контролем УЗИ. Верхнее отверстие устройства закрывали силиконовой крышкой с отверстиями для трубок соответствующего диаметра. Дренажные трубки подсоединяли к устройствам активного дренирования ран для налаживания в послеоперационном периоде «закрытой» аспирационно-промывной системы. Силиконовые трубки с баллонами подсоединяли к двум шприцам. Ежедневно во время перевязки баллоны раздували и сдували при помощи шприца, проводили проточный лаваж раствором антисептика. Через 7-9 суток проводили оментобурсоскопию, при отсутствии признаков воспалительного процесса извлекали устройство, накладывали швы на раны. Для выполнения этапной некрсеквестрэктомии из сальниковой сумки удаляли дренажные трубки и баллоны. Вводили эндоскоп, под контролем зрения удаляли секвестры, осуществляли гемостаз. По окончании операции устанавливали стерильные баллоны и дренажные трубки. Использование предложенного нами устройства предупреждает фрагментирование сальниковой сумки, препятствует ее преждевременной облитерации, облегчает доступ к ПЖ и парапанкреатической клетчатке, что позволяет выполнять этапные некрсеквестрэктомии с минимальной анестезиологической и хирургической агрессией. Оптимальные условия для выполнения предложенного нами способа дренирования создаются у пациентов пониженного питания. Во всех 12 случаях операции были выполнены без конверсии в намеченном объеме. Продолжительность операций составила $44,4 \pm 21,3$ мин.

В дальнейшем, по показаниям, с целью дренирования «жидкостного» компонента гнойных очагов, образовавшихся на 2-3 неделе заболевания дополнительно выполнялось чрескожное дренирование под ультразвуковым наведением (ЧДУЗ).

Для сравнения результатов применения предложенного способа мы отобрали 18 пациентов из контрольной группы, которым была выполнена лапароскопия, дренирование брюшной полости сальниковой сумки, новокаиновая парахоледохеальная блокада и круглой связки печени. Группы были сопоставимы по полу, возрасту, степени тяжести заболевания, объему панкреонекроза. Объем панкреонекроза и степень распространенности гнойного процесса определяли с помощью МРТ и МСКТ, а также в процессе операции. Оценивали результаты по частоте развития тяжелого сепсиса и летальности.

Учитывая полученные нами данные о генетически детерминированных особенностях метаболизма глутатиона при ОП, мы провели клиническое исследование и для лечения острого алкогольно-алиментарного панкреатита

применили препарат восстановленного глутатиона (GSH). С целью оценки влияния восстановленного глутатиона на результаты лечения 56 больным ОААП при проведении консервативной терапии, направленной на патофизиологический «обрыв» формирования очагов некроза в ПЖ, в IA фазе на фоне стандартизированной консервативной терапии дополнительно проводили в/в инфузию препарата восстановленного глутатиона в дозе 0,646 граммов натриевой соли лиофилизированного восстановленного глутатиона, растворяя в 4 мл воды для инъекций, один раз в сутки в течение 7 дней. В группу сравнения было включено 172 пациента, отобранных посредством рандомизированного отбора из общей когорты больных с диагнозом острого алкогольно-алиментарного панкреатита, получавших стандартное лечение. Обе группы были сопоставимы по полу, возрасту и степени тяжести заболевания.

Отбор полиморфных вариантов генов для исследования. В программу молекулярно-генетических исследований включены три категории генов, представленных 49 ДНК-маркерами: *гены ключевых ферментов метаболизма глутатиона* (27 полиморфных вариантов 9 ключевых генов: 4 SNPs (rs2301022, rs3827715, rs7517826 и rs41303970) гена *GCLM*, 6 SNPs (rs12524494, rs17883901, rs606548, rs636933, rs648595 и rs761142) гена *GCLC*, 2 SNPs (rs13041792, rs1801310 и rs6088660) гена *GSS*, 1 SNP (rs2551715) гена *GSR*, 4 SNPs (rs4820599, rs5751909, rs5760489 и rs5760492) гена *GGT1*, 3 SNPs (rs2267073, rs2275984 и rs8140505) гена *GGT5*, 1 SNP (rs11657054) гена *GGT6*, 2 SNPs (rs11546155, rs6119534) гена *GGT7* и 3 SNPs (rs38420, rs4270 и rs6462210) гена *GGCT*); *гены ферментов биотрансформации ксенобиотиков и антиоксидантной системы* (12 полиморфных вариантов: rs4902346 *GPX2*, rs1800566 *NQO1*, rs55754655 *AOX1*, rs1051740 *EPHX1*, rs1799930 *NAT2*, rs1048943 *CYP1A1*, rs3813867 *CYP2E1* и rs1045642 *ABCB1*); *известные гены-кандидаты острого панкреатита*, установленные в результате исследований в различных популяциях мира (10 SNPs: rs10273639 *PRSS1*, rs6580502 *SPINK1*, rs1800629 *TNF*, rs16944 *IL1A*, rs1800695 *IL6* и rs1800896 *IL10*, rs320 *LPL* и rs708272 *CETP*). Известные гены-кандидаты панкреатита, гены ФБК и АОС были отобраны из опубликованных ранее работ, представленных в PubMed, Google Scholar, HuGE Literature Finder и GWAS Catalog. При отборе ДНК-маркеров генов метаболизма глутатиона (ГФМГ) учитывалась их гаплотипическая структура и функциональная значимость SNPs. Отбирались однонуклеотидные полиморфизмы, представляющие группы SNPs (гаплотипы) с высоким неравновесием по сцеплению ($D' \geq 0,8$). Для отбора полиморфизмов в исследуемых генах использовали биоинформатический инструмент GenePipe (<https://snpinform.nih.gov/snpinfo/selegene.html>) и генотипические данные европейской популяции проекта HarMap.

Молекулярно-генетические исследования выполнялись в лаборатории геномных исследований НИИ ГМЭ КГМУ. Геномную ДНК выделяли из размороженных образцов венозной крови стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции и преципитации этанолом. Генотипирование ДНК-полиморфизмов проводилось с помощью ПЦР в режиме реального времени с

дискриминацией аллелей с помощью TaqMan-зондов на приборе CFX96 производства Bio-Rad (США), а также технологии iPLEX посредством мультиплексного генотипирования SNPs на генетическом анализаторе MALDI-TOF MassARRAY-4 производства Agena Bioscience (США). Для оценки качества выполненного генотипирования случайным образом было отобрано 95 образцов, которые использовались для проведения повторного генотипирования по всем исследуемым SNPs согласно описанным выше методам. Результаты повторного генотипирования отобранных образцов ДНК на 100% соответствовали первоначальным данным генотипирования.

Биохимические методы исследования. Определение содержания общего глутатиона в плазме крови проводилось с помощью набора OxiSelect™ Total Glutathione (GSSG/GSH) Assay Kit STA-312 (Cell Biolabs, Inc, США). Определение содержания активных форм кислорода в плазме крови проводилось с помощью набора OxiSelect™ In Vitro ROS/RNS Assay Kit (Green Fluorescence) STA-347 (Cell Biolabs, Inc, США).

Генетико-статистический и биоинформатический анализ. Расчет необходимого объема выборок для исследования оценивался на основании расчетов статистической мощности для критерия χ^2 , учитывая частоты аллелей и генотипов исследуемых SNPs в европейских популяциях. 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). Для анализа соответствия распределения частот генотипов равновесию Харди-Вайнберга и сравнения частот аллелей и генотипов между группами использовался критерий χ^2 Пирсона. Ассоциации аллелей и генотипов с риском развития ОП оценивали по величине отношения шансов (OR). Расчет отношения шансов и 95% доверительных интервалов (95%CI) проводился методом логистического регрессионного анализа с коррекцией по полу возрасту и другим ковариатам с помощью SNPStats. При анализе ассоциаций полиморфных вариантов исследуемых генов с риском развития ОП тестировались аддитивная, кодоминантная, рецессивная, доминантная и сверхдоминантная генотипические модели. Поправка на множественность тестов осуществлялась процедурой пермутационных тестов (P_{perm}) (Lehmann E.L., Romano J.P., 2005) с использованием программы PLINK. Логистический регрессионный анализ использовался для оценки ассоциаций ДНК-маркеров с клиническими характеристиками (клинические формы, симптомы, характер течения, степень тяжести болезни, эффективность лечения). Поправка на множественность тестов осуществлялась процедурой FDR (False Discovery Rate). Анализ генно-средовых взаимодействий проводился путем сопоставления величин отношения шансов (OR), рассчитанных для индивидуальных генотипов в группах, стратифицированных по наличию и отсутствию анализируемого средового фактора. Анализ гаплотипов и сравнение их частот между группами проводился с помощью статистических пакетов SNPStats. Анализ вклада межгенных и генно-средовых взаимодействий

в формирование полигенной предрасположенности к ОП проводился с помощью биоинформатического метода MDR (Multifactor Dimensionality Reduction). Для тестирования двух- и трехуровневых моделей нами использовался модифицированный метод MDR – Model-Based-MDR (MB-MDR) с помощью статистического пакета *mbmdr* для R (Calle M. Et al., 2008; 2010). На основании данных об идентифицированных *mbmdr*-моделях G×G и G×E взаимодействий проводилось ранжирование каждого исследуемого фактора (ДНК-полиморфизма или средового фактора риска) по числу моделей, в которых он был включен. Таким образом, нами проводилась приоритезация степени вовлеченности каждого фактора в полигенные взаимодействия, детерминирующие предрасположенность к острому алкогольно-алиментарному и билиарному панкреатиту.

Функциональное аннотирование исследуемых полиморфных вариантов генов и оценка их регуляторного потенциала осуществлялась с использованием различных биоинформатических инструментов: FuncPred, GTExportal, eQTLGen, meQTLdb, rSNPBase, SNPnexus, atSNP, RegulomeDB, ENCODE и REMC. Транскриптомные данные ресурса Pancreatic Expression Database (PED, <http://www.pancreasexpression.org:9000/>) использовались для оценки экспрессии исследуемых генов в тканях поджелудочной железы и анализа корреляции между уровнями их транскрипционной активности. Многомерные статистические методы, такие как кластерный и факторный анализ, многомерное шкалирование использовались для выявления групп ко-экспрессирующихся генов, для аннотирования биологических функций которых использовался ресурс Enrichr.

Результаты и их обсуждение

Оценка результатов лечения острого панкреатита. В группе больных билиарным панкреатитом основную роль в развитии заболевания играет внутрипротоковая гипертензия в протоке поджелудочной железы, возникающая вследствие миграции конкрементов или ущемления камня в БСДК. Основным этапом лечения билиарного панкреатита считаем радикальное устранение холедохолитиаза и восстановление проходимости желчных протоков путем применения различных видов папиллотомии, отдавая предпочтение мини-инвазивным технологиям. Также мы считаем оправданной тактику по удалению желчного пузыря, как дополнительного очага инфекции и источника рецидива холедохолитиаза (у 70-80% пациентов с ОБП имеет место микролитиаз) у больных с ОБП, что согласуется с проведенным метаанализом (Yuan X., 2020). Особое значение при выборе лечебной тактики имеет наличие или отсутствие анестезиологического риска.

При «вклиненном» холедохолитиазе у 20 пациентов контрольной группы удалось устранить холедохолитиаз, быстро разрешить внутрипротоковую гипертензию, добиться абортирования ОБП путем применения ЭПСТ торцевым электродом на вклиненном камне. У 6 из них при ЭПСТ имело место кровотечение легкой степени, которое удалось остановить орошением раствором норадреналина с последующей прицельной коагуляцией. Среднее

время операции составило 38 ± 16 мин. В дальнейшем 16 больным с острым холециститом и оправданным операционно-анестезиологическим риском после предоперационной подготовки в течение 24-48 часов была выполнена ЛХЭ и дренирование брюшной полости, 2 пациентам с высокой степенью операционно-анестезиологического риска и деструктивным холециститом была выполнена холецистостомия с термической мукоклазией по предложенной нами методике (патент на полезную модель № 116333), другие 2 пациента с хроническим холециститом и высокой степенью операционно-анестезиологического риска получали только консервативное лечение. У 3 больных на 12 и 16 сутки развился мелкоочаговый инфицированный панкреонекроз и отграниченные жидкостные скопления, потребовавшие выполнения ЧДУЗ. У 2 больных с крупноочаговым панкреонекрозом на 13 и 17 сутки развились нагноительные процессы в парапанкреатической и забрюшинной клетчатке, которые потребовали выполнения лапаротомий, этапных некрсеквестрэктомий. Остальные 15 больных получали стандартное консервативное лечение острого панкреатита.

У 12 пациентов с ригидной и отечной медиальной стенкой ДПК вследствие острого билиарного панкреатита с целью минимизирования риска развития постманипуляционных кровотечений при рассечении передней стенки БСДК на вклиненном конкременте использовали предложенное нами устройство с применением лазера для папиллосфинктеротомии (патент РФ № 2614891). Лазер обладает меньшей повреждающей способностью, надежно осуществляет гемостаз по линии разреза передней стенки БСДК, а вклиненный конкремент защищает не только заднюю стенку БСДК, но и устье протока поджелудочной железы от действия лазерного луча, тем самым устраняет возможность утяжеления ОБП. ЭПСТ выполняли следующим образом. Через биопсионный канал фиброгастроуденоскопа вводили папиллотом, лазерным световодом рассекали переднюю стенку БСДК на камне. Кровотечений в процессе ЭПСТ с использованием лазера не было. Среднее время операции составило 24 ± 12 мин. В дальнейшем всем больным после предоперационной подготовки в течение 24-48 часов была выполнена ЛХЭ и дренирование брюшной полости. У 2 больных на 16 и 18 сутки развился инфицированный панкреонекроз и отграниченные жидкостные скопления, потребовавшие выполнения ЧДУЗ. У 1 больного вынуждены были прибегнуть к мини-лапаротомии, в связи с наличием крупного секвестра в полости абсцесса. Сравнительные результаты лечения представлены в таблице 2.

Таблица 2 - Результаты лечения острого билиарного панкреатита при «вклиненном» холедохолитиазе

Показатель	Контрольная группа (n=20)	Основная группа (n=12)	P
Интраоперационное кровотечение	6 (30%)	-	0,04
Средняя продолжительность операции (мин)	38 ± 16	24 ± 12	0,01
Успешность манипуляции (%)	100	100	-
Сроки нормализации билирубина (сутки)	$3 \pm 1,2$	$3 \pm 1,6$	0,99
Сроки нормализации амилазы крови и мочи	$4,1 \pm 0,5$	$3,2 \pm 0,5$	0,9
Объем поражения ПЖ: до 30%	18 (90,0%)	11 (91,7%)	0,97

30-50% более 50%	- 2 (10,0%)	- 1 (8,3%)	- 0,88
Развитие инфицированного панкреонекроза	6 (30%)	2 (17%)	0,5
Развитие жидкостных гнойных осложнений	3 (15%)	2 (17%)	0,9
Чрескожное дренирование под УЗ-контролем	3 (15%)	2 (17%)	0,9
Лапаротомия, некрсеквестрэктомия, дренирование брюшной полости	2 (10%)	1 (8,3)	0,8
Средний койко-день	24+4,7	18+4,8	0,03

В случае лечения ОБП вследствие «вентильного» холедохолитиаза, при отсутствии анестезиологического риска, выполняли лапароскопическую холецистэктомию с удалением конкрементов из ВПЖХ. Так, у 27 пациентов с ОБП вследствие «вентильного» холедохолитиаза и острым холециститом в процессе ЛХЭ нами была выполнена папиллосфинктеротомия на антеградно проведенном катетере из ПВХ, постманипуляционных осложнений не было. Конкременты из общего желчного протока удаляли с помощью корзинки Dormia. У 6 пациентов с перитонитом ЛХЭ была дополнена санацией и дренированием брюшной полости, сальниковой сумки.

Однако, несмотря на то, что проходимость желчных протоков была восстановлена и выполнена ЛХЭ, у 2 пациентов с крупноочаговым панкреонекрозом в послеоперационном периоде развился перипанкреатический инфильтрат, и на 19 и 23 сутки сформировались абсцессы, которые были дренированы под УЗ-контролем. У 1 больного с ГНПП на 18 сутки выполнена лапаротомия, некрсеквестрэктомия, оментобурсостомия, дренирование брюшной полости.

Поскольку мы убедились в преимуществе применения лазера при папиллотомии на камне, то возникла мысль применить лазер для устранения «вентильного» холедохолитиаза, а с целью защиты задней стенки ампулы БСДК и устья ПЖ от повреждающего действия лазера предложили канюлю из фторопласта для лазерной папиллотомии (патент РФ № 41594). Канюля для эндоскопической лазерной папиллотомии выполнена в виде конуса из фторопласта, размером 0,4×2,0 см с каналом диаметром 0,15 мм длиной 2,0 см в центре. На 10 органокомплексах проведен эксперимент и разработан «Способ применения канюли». Проведенный эксперимент показал, что фторопласт надежно защищает заднюю стенку БСДК и устье ППЖ от воздействия лазера.

Возможность использования канюли в лечении «вентильного» холедохолитиаза, но длительность проведения ее к БСДК побудили нас к поиску проводника из фторопласта. Наш опыт показал, что выполнение папиллосфинктеротомии на проводнике технически проще, поскольку есть возможность справиться с перистальтикой, требует меньше времени для проведения манипуляции, отсутствует риск травмы ППЖ, безопасно в отношении задней стенки БСДК, операция выполнима при наличии анатомо-физиологических препятствий со стороны БСДК (стеноз, пери- и парапапиллярный дивертикул, аденома БСДК). И у 15 пациентов с «вентильным» холедохолитиазом и билиарным панкреатитом, а также при наличии анатомо-физиологических препятствий со стороны БСДК (у 2 больных

– парапапиллярный дивертикул, у 1 больного – аденома БСДК) мы выполнили ЛХЭ и эндоскопическую папиллосфинктеротомию с применением лазера на антеградно проведенном проводнике из фторопласта. Осложнений не было. У 1 больного на 15 сутки развился отграниченный инфицированный панкреонекроз, потребовалось выполнение ЧДУЗ. Остальные пациенты получали стандартное консервативное лечение острого панкреатита. Результаты лечения представлены в таблице 3.

Таблица 3 - Результаты лечения острого билиарного панкреатита при «вентильном» холедохолитиазе

Показатель	Контрольная группа (N=27)	Основная группа (N=15)	p
Средняя продолжительность операции ЛХЭ+ЭПСТ (мин)	50±12	44±10	0,01
Успешность манипуляции (%)	100	100	-
Сроки нормализации билирубина (сутки)	3±1,7	3±1,3	0,9
Сроки нормализации амилазы крови и мочи	4,1±0,5	3,7±0,5	0,9
Объем поражения ПЖ: до 30%	25 (92,6)	14 (93,3)	0,98
30-50%	-	-	-
более 50%	2 (7,4)	1 (6,7)	0,93
Развитие инфицированного панкреонекроза	2 (7,4%)	1 (6,7%)	0,93
Развитие жидкостных гнойных осложнений	2 (7,4)	-	0,3
Чрескожное дренирование под УЗ-контролем	1 (3,7%)	1 (6,7)	0,7
Лапаротомия, некрсеквестрэктомия, дренирование брюшной полости	1 (3,7%)	-	0,4
Средний койко-день	20±6,3	15±5,6	0,05

Таким образом, предложенные способы устранения холедохолитиаза при билиарном панкреатите путем выполнения лазерной папиллосфинктеротомии на камне (в случае «вклиненного» холедохолитиаза) и на антеградно проведенном проводнике из фторопласта в процессе ЛХЭ (в случае «вентильного» холедохолитиаза) позволяют эффективно и безопасно разрешить холедохолитиаз без риска утяжеления панкреатита. Способ эффективен в условиях отека медиальной стенки ДПК при повышенном риске развития постманипуляционных кровотечений и выполним при наличии анатомо-физиологических препятствий со стороны БСДК.

10 пациентам с «транзиторным» холедохолитиазом и отечным билиарным панкреатитом после предоперационной подготовки выполнили ЛХЭ с интраоперационной холангиографией. После проведенного консервативного лечения в условиях хирургического стационара все больные были выписаны в удовлетворительном состоянии, средний койко-день составил $9 \pm 3,2$ дня.

Результаты лечения острого алкогольно-алиментарного панкреатита в большей степени зависят от раннего прогнозирования его тяжелого течения. Как известно, отказ от традиционных хирургических вмешательств в фазу токсемии и проведение патогенетически обоснованной консервативной терапии с привлечением по показаниям мини-инвазивных хирургических вмешательств является наиболее оправданным.

Все пациенты получали консервативное лечение, установленное

клиническими рекомендациями.

Из 463 больных ОААП у 198 после проведенного консервативного лечения наступило клиническое улучшение, которое проявилось в нормализации лабораторных показателей и положительной УЗ-динамике. Средний койко-день составил $12 \pm 2,2$.

Хирургическое вмешательство у пациентов с ОААП показано при формировании жидкостных осложнений и развитии гнойно-некротического процесса. Пациенты, которым было выполнено хирургическое лечение, были разделены на две группы. В контрольную группу вошло 135 больных, проходивших стационарное лечение в хирургических отделениях клинических баз кафедры хирургических болезней с 2013 по 2015 годы, в основную группу вошло 130 больных, пролеченных в период с 2016 по 2018 годы, с применением мини-инвазивных методов лечения, рекомендованных клиническими рекомендациями и предложенными нами способами.

В таблице 4 представлен объем оперативных вмешательств у пациентов с ОААП.

Таблица 4 - Объем оперативных вмешательств у пациентов с ОААП

Форма панкреатита	Объем вмешательства	Кол-во больных (%) в группах	
		Контрольная n=135	Основная n=130
Ферментативный перитонит (n=114)	Чрескожное дренирование под УЗ-наведением	8 (13,6)	35 (63,6)
	Лапароскопия, дренирование брюшной полости, сальниковой сумки + новокаиновая парахолодехеальная блокада и круглой связки печени	51 (86,4)	8 (14,6)
	Лапароскопия, дренирование брюшной полости, сальниковой сумки по предложенному нами способу + Чрескожное дренирование под УЗ-наведением	-	12 (21,8)
Псевдокиста (n=101)	Консервативное лечение кист объемом менее 50 мл	15 (29,4)	12 (24,0)
	Чрескожное дренирование под УЗ-наведением	18 (35,3)	28 (56,0)
	Мини-лапаротомия, дренирование псевдокисты и брюшной полости	18 (35,3)	10 (20,0)
Инфицированный отграниченный панкреонекроз (n= 43)	Чрескожное дренирование под УЗ-наведением	3 (15,0)	5 (21,7)
	Мини-лапаротомия, дренирование брюшной полости + мини-люмботомия, дренирование ЗБК + этапные некрсеквестрэктомии	10 (50,0)	13 (56,6)
	Лапаротомия, абдоминализация ПЖ, некрэктомия, оментобурсостомия, санация и дренирование брюшной полости, ЗБК + этапные некрсеквестрэктомии	7 (35,0)	5 (21,7)

Инфицированный очаговый неотграниченный панкреонекроз (n=29)	Чрескожное дренирование крупнокалиберными дренажами под УЗ-наведением с последующими чресфистульными санациями	2 (11,8)	4 (33,3)
	Мини-лапаротомия, дренирование брюшной полости + мини-люмботомия, дренирование ЗБК + этапные некрсеквестрэктомии	7 (41,2)	3 (25,0)
	Лапаротомия, абдоминализация ПЖ, некрэктомия, вскрытие флегмоны ЗБК, оментобурсостомия, санация и дренирование брюшной полости, ЗБК + этапные некрсеквестрэктомии	8 (47,0)	5 (41,7)
Инфицированный распространённый неотграниченный панкреонекроз (n=25)	Чрескожное дренирование под УЗ-наведением крупнокалиберными дренажами → мини-лапаротомия, дренирование брюшной полости + люмботомия, дренирование ЗБК + этапные некрсеквестрэктомии	3 (20,0)	5 (50,0)
	Лапаротомия, абдоминализация ПЖ, некрэктомия, вскрытие флегмоны ЗБК, оментобурсостомия, санация и дренирование брюшной полости, ЗБК + этапные некрсеквестрэктомии	12 (80,0)	5 (50,0)

Как видно из таблицы, с 2016 года для лечения осложнений ОААП чаще стали применяться мини-инвазивные технологии, что позволяло в некоторых случаях добиться купирования воспалительного процесса и выздоровления пациентов или отсрочить выполнение лапаротомии.

При хирургическом лечении перитонеального синдрома с признаками тяжелого течения панкреонекроза (наличие геморрагического выпота, большого количества бляшек стеатонекроза на париетальной брюшине и большом сальнике), руководствуясь принципом минимальной анестезиологической и хирургической агрессии, а также с целью формирования и поддержания общей полости и создания хорошего доступа к зоне ПЖ, при лапароскопии первым этапом санации мы применили предложенный нами эндовидеохирургический способ дренирования брюшной полости и сальниковой сумки у 12 больных (евразийский патент № 025548, 2017).

У 3 пациентов основной группы после проведенной оментобурсоскопии была отмечена положительная динамика, устройство удалено, и в дальнейшем проводилась консервативная терапия. У 6 пациентов выполнялись этапные некрсеквестрэктомии посредством оментобурсоскопии. Течение панкреонекроза в послеоперационном периоде у 5 больных осложнилось развитием абсцессов, что потребовало дополнительного выполнения ЧДУЗ, у 3 из них 2 раза, у 1–3. Случаев развития ГНПП и летальных исходов не было.

У 7 больных контрольной группы развился инфицированный ограниченный панкреонекроз, у 11 – ГНПП, потребовалось выполнение лапаротомии, абдоминализации ПЖ, некрэктомии, вскрытие флегмоны ЗБК, оментобурсостомии, санации и дренирования брюшной полости, забрюшинной

клетчатки и этапные некрсеквестрэктомии. 4 пациента умерли от развившейся полиорганной недостаточности в фазе гнойно-септических осложнений.

Средняя продолжительность лечения в основной группе составила $32,2 \pm 2,3$, в контрольной – $48 \pm 4,3$ койко-дня.

Таким образом, преимущество предложенного нами способа лапароскопии, дренирования брюшной полости, сальниковой сумки, является отсутствие случаев развития гнойно-некротического парапанкреатита ($P=0,002$) и летального исхода ($P=0,001$), сокращение длительности лечения в стационаре ($P=0,02$).

Через $8 \pm 3,4$ дня заболевания у 51 больного контрольной и у 50 больных основной группы произошла асептическая секвестрация с формированием острой псевдокисты. При кистах объемом менее 50 мл больным проводилось консервативное лечение (таблица 2). Хирургическое лечение псевдокист в контрольной группе представлено поровну мини-лапаротомией и ЧДУЗ (по 18 больных (35,3%), в основной ЧДУЗ успешно выполнено у 28 больных (56%).

Инфицированный панкреонекроз развивался у 52 больных контрольной группы и 45 основной. Анализ групп пациентов показал, что инфицирование очагов некроза происходило в обеих группах в сроки от 1 до 4 недель после появления первых симптомов заболевания: у 5 (5%) больных – на 1 неделе, у 63 (65%) – на 2 неделе, у остальных 29 (30%) позднее. Распределение пациентов по характеру рентгенологических изменений в соответствии со шкалой Balthazar: в контрольной группе: со степенью D (3 балла) – 20 (38,5%) пациента; со степенью E (4 балла) – 32 (61,5%) пациентов; в основной группе: со степенью D (3 балла) – 23 (51%) пациента; со степенью E (4 балла) – 22 (48,8%) пациентов.

Как видно из таблицы, до 2016 года операцией выбора была лапаротомия, некрсеквестрэктомия, оментобурсостомия и дренирование брюшной полости (46%) в сравнении с основной группой – 31%. Позже стали более активно применять чрескожные дренирования под УЗ-наведением, как одномоментные, так и с постепенным увеличением диаметра дренажей, а в дальнейшем – аспирационную и (или) инструментальную некрсеквестрэктомию, что давало возможность в некоторых случаях предотвратить прогрессирование гнойного расплавления тканей за счет эвакуации инфицированного экссудата, снизить системный воспалительный ответ или отсрочить выполнение лапаротомии. Таким образом, выбор способа хирургического лечения должен быть адаптирован к конкретному больному с учетом сроков, распространенности и анатомического расположения очагов некроза. Целесообразно комбинировать различные методы или использовать их на разных стадиях заболевания. В сложных ситуациях необходимо прибегать к традиционным методам хирургического лечения, к санационной лапаротомии и некрсеквестрэктомии.

Следующим этапом исследования было проведение генетического анализа.

Анализ ассоциаций 49 ДНК-маркеров с риском развития острого алкогольно-алиментарного и билиарного панкреатита. Для большинства изученных ДНК-маркеров частоты генотипов соответствовали их ожидаемым

значениям при равновесии Харди-Вайнберга ($P > 0,05$). Выявлены значительные различия по частотам минорных аллелей (MAF) между жителями Центральной России и популяциями Африки (по 41 SNPs), Америки (по 39 SNPs) и Восточной (по 44 SNPs) и Южной (по 38 SNPs) Азии. Проведен анализ ассоциаций 49 ДНК-маркеров с риском развития острого алкогольно-алиментарного и билиарного панкреатита. Четыре SNPs генов-кандидатов, а именно *SPINK1* (rs6580502), *CFTR* (rs213950), *PRSS1* (rs10273639) и *IL10* (rs1800896), два полиморфизма генов редокс-гомеостаза *AOX1* (rs55754655) и *NQO1* (rs1800566), а также rs1045642 гена *ABCB1* и rs6119534 гена *GGT7* были статистически значимо ($P_{\text{perm}} < 0,05$) ассоциированы с риском развития острого алкогольно-алиментарного панкреатита. Полиморфные варианты генов *CFTR* (rs213950), *IL10* (rs1800896), *GSTT1* (+/del), *GCLM* (rs3827715), *GCLC* (rs12524494), *GSS* (rs6088660), *GGT1* (rs4820599), *GGT5* (rs2275984), *GGT7* (rs11546155 и rs6119534) и *GGCT* (rs4270) были ассоциированы ($P_{\text{perm}} < 0,05$) с предрасположенностью к острому билиарному панкреатиту.

При анализе ассоциаций гаплотипов ГФМГ были установлены статистически значимые различия между группами больных ОААП и контрольной группой по гаплотипам гена *GGT1* H3 A-A-A-A ($_{\text{cor}}\text{OR} = 0,60$, 95%CI 0,41-0,90, $P = 0,01$) и H6 A-G-A-A ($_{\text{cor}}\text{OR} = 2,08$, 95%CI 1,00-4,34, $P = 0,05$). Гаплотип гена *GGT7* H2 G-T также был ассоциирован с повышенным риском развития ОБП ($_{\text{cor}}\text{OR} = 1,41$, 95%CI 1,05-1,88, $P = 0,02$).

Анализ совместного влияния средовых факторов с полиморфными вариантами изучаемых генов на риск развития острого панкреатита. На основании результатов проведенного анкетирования в обследуемых группах пациентов нами были проанализированы известные средовые факторы риска и изучено совместное влияние полиморфных вариантов изучаемых генов и средовых факторов риска на развитие острого панкреатита. При сравнении групп больных ОП и здоровых индивидов выявлены статистически значимые различия по следующим факторам риска: курение, злоупотребление алкоголем, частое употребление острой пищи, соусов и майонеза, а также потребление жидкости менее 1 литра в сутки. Больные острым панкреатитом значительно больше, чем пациенты контрольной группы, употребляли жирную пищу и существенно меньше употребляли пищу с высоким содержанием белка, а также свежие фрукты и овощи.

Данные о факторах риска использовались для изучения генно-средовых взаимодействий, связанных с развитием ОП. Установлено, что полиморфные варианты различных генов проявляют свое влияние на риск развития острого алкогольно-алиментарного и билиарного панкреатита исключительно на фоне злоупотребления алкоголем – по частоте, объему и длительности его употребления. На рисунке 1 представлена схема, отражающая сочетанное влияние злоупотребления алкоголем и исследованных полиморфных вариантов генов на риск развития острого панкреатита.

Более половины выявленных генно-средовых взаимодействий касались генов ферментов метаболизма глутатиона. Примерно аналогичная картина

генно-средовых взаимодействий наблюдалась и в отношении другого фактора риска острого панкреатита – курения. Также обнаружены совместные влияния полиморфных вариантов различных классов генов и факторов риска, связанных с питанием: полиморфные варианты генов *CFTR* (rs213950), *IL5* (rs2069812), *GCLC* (rs606548), *GGT1* (rs5751909) и *GGT7* (rs6119534) проявляли синергизм в отношении риска развития острого алкогольно-алиментарного панкреатита при избыточном употреблении жирной пищи (более 89 граммов в сутки). Полиморфные варианты генов *PRSS1* (rs10273639), *CFTR* (rs213950), *IL5* (rs2069812) и *ABCB1* (rs1045642) были связаны с риском развития ОААП у лиц с недостаточным употреблением белка в пищу (менее 84 граммов в сутки).

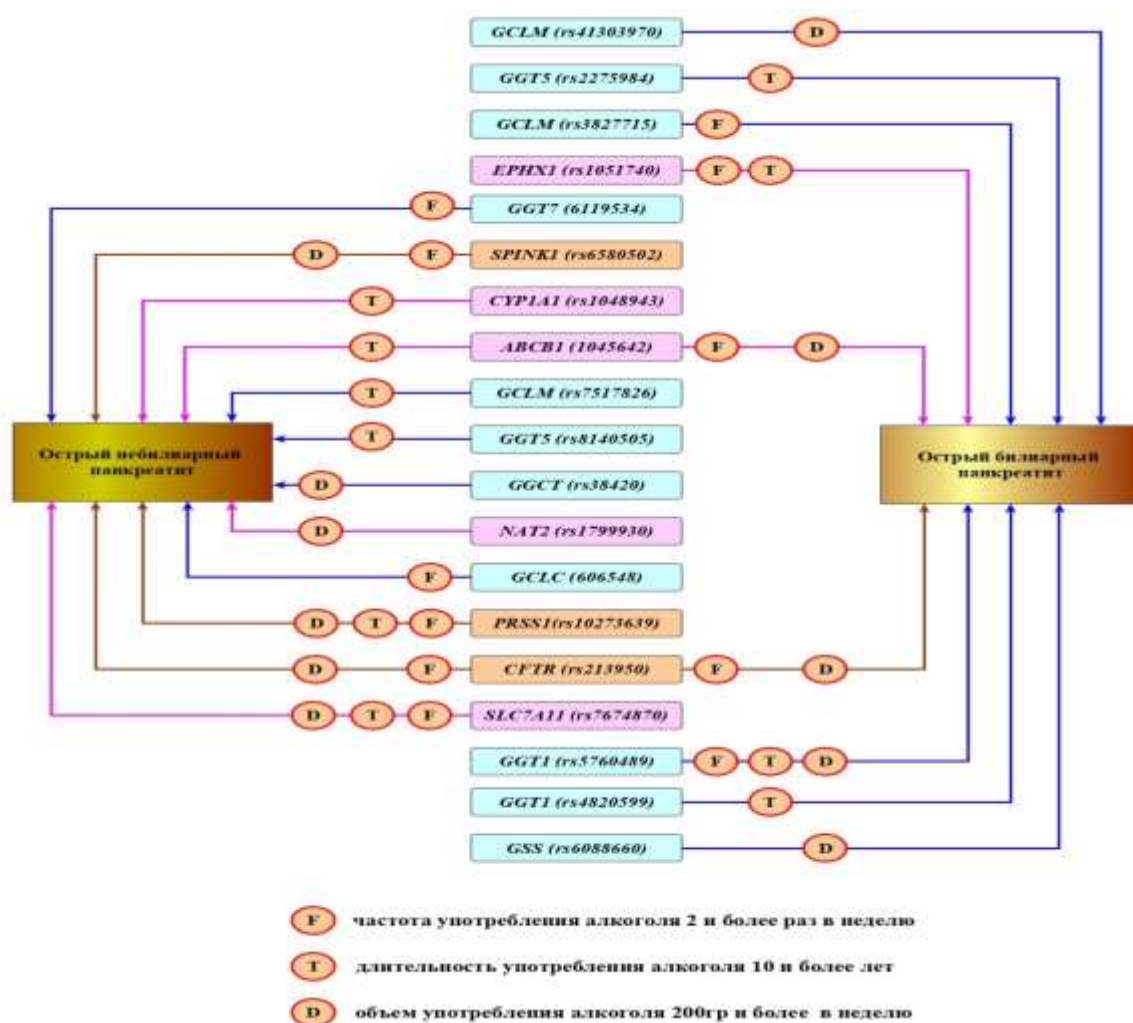


Рисунок 1. Схематическое изображение генно-средовых взаимодействий (сочетание SNPs и злоупотребления алкоголем), ассоциированных с риском развития острого панкреатита.

Межгенные и генно-средовые взаимодействия, детерминирующие предрасположенность к острому панкреатиту. Биоинформатический метод MB-MDR использовался для моделирования двух- и трех-уровневых межгенных и генно-средовых взаимодействий, детерминирующих предрасположенность к острому панкреатиту. В таблице 5 представлены наилучшие модели межгенных и генно-средовых взаимодействий, ассоциированных с риском развития острого алкогольно-алиментарного

панкреатита. На основании количества установленных статистически значимых *mbmdr*-моделей был посчитан соотносительный вклад каждого из изученных генетических маркеров и различных средовых факторов риска в предрасположенность к развитию острого панкреатита. Суммация числа *mbmdr*-моделей по группам генов и средовым факторам риска показала, что в развитие острого алкогольно-алиментарного панкреатита наиболее существенный вклад вносят полиморфные варианты известных генов-кандидатов панкреатита (23%) в сравнении с их вкладом в развитие острого билиарного (12,5%). Полиморфные варианты генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков и антиоксидантной системы в наибольшей степени вносили вклад в детерминацию билиарного (15%) панкреатита в сравнении с ОААП (4%). При различных формах панкреатита суммарный вклад полиморфных вариантов генов ферментов метаболизма глутатиона был выражен в большей степени, чем влияние других исследованных генов, и варьировал в диапазоне от 29 до 32%. Еще в большей степени был выражен вклад средовых факторов в генно-средовые взаимодействия, который варьировал в диапазоне 41-44% при разных клинических формах болезни. Это может указывать на синергизм влияния генетических маркеров и факторов риска на развитие различных форм панкреатита. Среди установленных двухуровневых *mbmdr*-моделей были выбраны статистически значимые межгенные взаимодействия с целью анализа и выявления конкретных сочетаний генотипов, ассоциированных с риском развития ОААП и ОБП, установленные после поправки на множественность тестов процедурой FDR, результаты представлены в таблице 6. Установлено 9 парных сочетаний генотипов, ассоциированных с риском развития острого алкогольно-алиментарного панкреатита, которые включали взаимодействия пяти SNPs генов-кандидатов панкреатита *SPINK1* rs6580502, *CFTR* rs213950, *IL5* rs2069812, *TNF* rs1800629, *IL10* rs1800896, трех SNPs генов ФБК и АОС *AOX1* rs55754655, *NQO1* rs1800566 и *ABCB1* rs1045642, а также двух полиморфных вариантов генов метаболизма глутатиона *GCLM* rs3827715 и *GGT1* rs5760489. Предрасположенность к острому билиарному панкреатиту ассоциировалась с 8 сочетаниями генотипов: *CFTR* rs213950, *IL10* rs1800896, *LPL* rs320, *CYP2E1* rs3813867, *EPHX1* rs1051740, *SLC7A11* rs7674870, *GCLM* rs3827715 и *GGT5* rs2267073.

Таким образом, генетическая предрасположенность к острому алкогольно-алиментарному и билиарному панкреатиту определяется неравнозначным влиянием полиморфных вариантов различных классов генов, включающих гены ферментов метаболизма глутатиона, антиоксидантной системы, биотрансформации ксенобиотиков и известных генов-кандидатов панкреатита. Причем результаты моделирования межгенных и генно-средовых взаимодействий показали, что в детерминации предрасположенности к различным формам панкреатита принимают участие как средовые факторы (главным образом, дефицит в рационе белка и курение), так и полиморфные

варианты известных генов-кандидатов панкреатита и гены ферментов метаболизма глутатиона.

Анализ ассоциаций исследуемых полиморфных вариантов генов с клиническими проявлениями, осложнениями и исходами острого панкреатита. С целью оценки потенциальной вовлеченности исследуемых полиморфных вариантов генов в формирование деструктивно-некротических изменений поджелудочной железы нами были исследованы ассоциации ДНК-маркеров с риском развития панкреонекроза и гнойно-воспалительных осложнений при остром алкогольно-алиментарном и билиарном панкреатите в дизайне случай-контроль.

Таблица 5 - Наилучшие модели межгенных и генно-средовых взаимодействий, ассоциированных с риском развития острого алкогольно-алиментарного панкреатита

Наиболее статистически значимые n -уровневые модели $G \times G$ взаимодействий		NH	β -H	WH	NL	β -L	WL	P_{perm}
Двухуровневые модели								
1	Proteins $\times$ <i>PRSS1</i> rs10273639	5	0,506	263,32	0	-	-	<0,0001
2	Proteins $\times$ <i>GCLM</i> rs41303970	4	0,491	261,26	0	-	-	<0,0001
3	Proteins $\times$ <i>CETP</i> rs708272	6	0,489	260,15	0	-	-	<0,0001
4	Proteins $\times$ <i>IL6</i> rs1800795	6	0,489	260,15	0	-	-	<0,0001
5	Proteins $\times$ <i>IL5</i> rs2069812	6	0,489	260,15	0	-	-	<0,0001
Трёхуровневые модели								
1	Proteins $\times$ Smoking $\times$ <i>PRSS1</i> rs10273639	11	0,521	297,36	1	-0,221	3,66	<0,0001
2	Proteins $\times$ Smoking $\times$ <i>SPINK1</i> rs6580502	10	0,538	282,19	0	-	-	<0,0001
3	Proteins $\times$ Smoking $\times$ <i>IL5</i> rs2069812	8	0,530	280,02	0	-	-	<0,0001
4	Fruits $\times$ Smoking $\times$ <i>SPINK1</i> rs6580502	10	0,542	275,16	0	-	-	<0,0001
5	Proteins $\times$ <i>IL10</i> rs1800896 $\times$ <i>IL1B</i> rs16944	15	0,506	274,35	1	-0,313	3,52	<0,0001

NH – количество взаимодействующих генотипов / факторов высокого риска.
 β -H – коэффициент регрессии для взаимодействий высокого риска, выявленных на 2 этапе *mbmdr*-анализа.
 WH – статистика Вальда для взаимодействий высокого риска.
 NL – количество взаимодействующих генотипов / факторов низкого риска.
 β -L – коэффициент регрессии для взаимодействий низкого риска, выявленных на 2 этапе *mbmdr*-анализа.
 WL – статистика Вальда для взаимодействий низкого риска.
 P_{perm} – уровни значимости *mbmdr*-моделей, вычисленные с помощью пермутационного теста (скорректированы по полу и возрасту).
 Proteins – недостаточное употребление белка в пищу; Fruits – недостаточное употребление свежих овощей и фруктов; Smoking – курение.

Таблица 6 - Парные сочетания генотипов, статистически значимо ассоциированные с развитием острого панкреатита

№ п/п	Сочетание генотипов	Больные		Здоровые		OR (95%CI) ¹	P ²	FDR
		N	%	N	%			
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Острый алкогольно-алиментарный панкреатит								
1	SPINK1 rs6580502-T/T × NQO1 rs1800566-G/A	49	10,4	20	4,0	2,81 (1,64-4,81)	8,9×10 ⁻⁵	0,005
2	CFTR rs213950-A/A × IL5 rs2069812-G/G	43	9,1	82	15,9	0,53 (0,36-0,79)	0,001	0,036
3	CFTR rs213950-G/G × IL5 rs2069812-A/G	76	16,1	50	9,7	1,80 (1,23-2,63)	0,002	0,04
4	TNF rs1800629-G/G × AOX1 rs55754655-A/A	302	64,3	276	53,4	1,57 (1,22-2,03)	0,0005	0,016
5	TNF rs1800629-G/G × AOX1 rs55754655-A/G	45	9,6	98	19,0	0,45 (0,31-0,66)	2,8×10 ⁻⁵	0,004
6	IL5 rs2069812-G/G × IL10 rs1800896-C/C	24	5,1	52	10,1	0,48 (0,29-0,79)	0,003	0,046
7	IL10 rs1800896-T/T × ABCB1 rs1045642-C/C	18	3,8	49	9,8	0,37 (0,21-0,64)	0,0002	0,01
8	IL10 rs1800896-C/C × ABCB1 rs1045642-C/C	7	1,5	25	5,0	0,29 (0,12-0,67)	0,002	0,046
9	GCLM rs3827715-T/T × GGT1 rs5760489-A/A	92	24,1	145	33,6	0,63 (0,46-0,85)	0,002	0,04
Острый билиарный панкреатит								
1	CFTR rs213950-G/G × EPHX1 rs1051740-T/C	19	22,6	25	8,9	2,99 (1,55-5,77)	0,0007	0,03
2	CFTR rs213950-A/G × GGT5 rs2267073-C/C	4	5,1	50	19,4	0,22 (0,08-0,64)	0,002	0,04
3	CFTR rs213950-G/G × GGT5 rs2267073-C/C	12	15,2	9	3,5	4,96 (2,00-12,25)	0,0002	0,02
4	IL10 rs1800896-C/C × LPL rs320-G/G	3	3,6	0	0,0	25,2 (1,29-493,0)	0,001	0,04
5	LPL rs320-G/G × SLC7A11 rs7674870-G/G	4	4,8	1	0,3	10,9 (1,68-70,1)	0,002	0,04
6	EPHX1 rs1051740-C/C × CYP2E1 rs3813867-G/C	3	3,6	0	0,0	24,2 (1,24-472,9)	0,001	0,04
7	CYP2E1 rs3813867-G/C × SLC7A11 rs7674870-A/A	5	6,0	2	0,7	8,96 (1,71-47,04)	0,002	0,04
8	GCLM rs3827715-T/C × GGT5 rs8140505-G/G	5	7,6	1	0,4	13,50 (2,17-83,9)	0,0003	0,02

¹ Отношение шансов и 95% доверительный интервал;
² Уровень значимости ассоциации сочетания генотипов с риском развития острого панкреатита.

Установлено, что в формировании предрасположенности к развитию панкреонекроза принимают участие полиморфные варианты генов: rs12524494 (генотип A/G, $P=0,02$) и rs648595 (генотип G/T, $P=0,03$) гена *GCLC*, rs1048943 (генотип C/C, $P=0,008$) гена *CYP1A1* и rs1800795 (генотип G/C, $P=0,01$) гена *IL6*, в то время как с отечным ОП ассоциировались полиморфные варианты генов rs606548 *GCLC* (аллель T, $P=0,007$), rs6088660 *GSS* (генотип C/C, $P=0,04$), rs4820599 *GGT1* (генотип A/A, $P=0,02$), rs2275984 *GGT5* (аллель C, $P=0,02$), rs11546155 (генотип G/G, $P=0,018$) и rs6119534 (генотип C/T, $P<0,0001$) гена *GGT7*, rs708272 *CETP* (генотипы G/G-A/A, $P=0,003$), rs6580502 *SPINK1* (генотип T/T, $P=1,0\times10^{-4}$) и rs1800896 *IL10* (генотипы T/T-T/C, $P=0,004$) и rs1799930 гена *NAT2* (аллель A, $P=0,038$). При анализе группы больных ОП было установлено, что полиморфные варианты rs606548 (генотип C/C, OR=3,34, 95%CI 1,29-8,66, $P=0,007$) и rs648595 (генотип G/T, OR=1,56, 95%CI 1,04-2,36, $P=0,03$) гена *GCLC*, rs6088660 *GSS* (генотипы C/T-T/T, OR=2,01, 95%CI 1,33-3,04, $P=8,0\times10^{-4}$), rs4820599 *GGT1* (аллель G, OR=1,48, 95%CI 1,01-2,17, $P=0,04$), rs11546155 *GGT7* (аллель A, OR=1,92, 95%CI 1,22-3,03, $P=0,004$), rs38420 *GGCT* (генотипы G/G-A/A, OR=1,58, 95%CI 1,03-2,43, $P=0,036$), rs213950 *CFTR* (генотип G/G-A/A, OR=1,54, 95%CI 1,05-2,28, $P=0,028$) являются предикторами повышенного риска развития панкреонекроза. В формировании риска развития перипанкреатического инфильтрата принимали участие полиморфные варианты генов: rs761142 *GCLC* (генотип A/A, OR=1,70, 95%CI 1,12-2,59, $P=0,01$), rs3827715 (генотип T/C, OR=1,60, 95%CI 1,05-2,44, $P=0,028$) и rs7517826 (генотип C/A, OR=1,96, 95%CI 1,27-3,05, $P=0,002$) гена *GCLM*, rs4820599 (генотипы A/G-G/G, OR=1,67, 95%CI 1,07-2,60, $P=0,02$) и rs5760489 (генотип A/G, OR=1,54, 95%CI 1,01-2,34, $P=0,04$) гена *GGT1*, а также SNP rs1800896 *IL10* (аллель C, OR=1,57, 95%CI 1,19-2,08, $P=0,001$). SNPrs5760489 гена *GGT1* также ассоциировался с риском развития гнойного парапанкреатита (генотипы A/G-G/G, OR=2,00, 95%CI 1,26-3,20, $P=0,003$) и перитонита (аллель G, OR=1,54, 95%CI 1,08-2,18, $P=0,018$), в то время как SNP rs4820599 (аллель G, OR=1,57, 95%CI 1,04-2,37, $P=0,036$) гена *GGT1* оказывал влияние на риск развития гнойного парапанкреатита. С развитием гнойного парапанкреатита также ассоциировались SNP rs6119534 *GGT7* (генотип T/T, OR=7,99, 95%CI 1,35-47,18, $P=0,017$), rs6088660 *GSS* (аллель T, OR=1,62, 95%CI 1,14-2,29, $P=0,007$) и rs5760492 *GGT1* (генотипы G/A-A/A, OR=2,46, 95%CI 1,27-4,78, $P=0,005$), а также rs3813867 *CYP2E1* (генотип C/C, OR=17,48, 95%CI 1,66-183,73, $P=0,009$), rs1800795 *IL6* (генотипы G/G-G/C, OR=2,26, 95%CI 1,16-4,42, $P=0,01$) и rs320 *LPL* (аллель T, OR=1,56, 95%CI 1,08-2,24, $P=0,015$). SNP rs5760492 гена *GGT1* также был ассоциирован с риском развития инфицированного панкреонекроза (генотипы G/A-A/A, OR=2,07, 95%CI 1,08-3,97, $P=0,02$) и перитонита (аллель A, OR=2,16, 95%CI 1,23-3,78, $P=0,005$). SNPs rs320 *LPL* (аллель T, OR=1,52, 95%CI 1,04-2,24, $P=0,028$) и rs3813867 *CYP2E1* (генотип C/C, OR=20,62, 95%CI 2,03-209,46, $P=0,005$) также были ассоциированы с риском развития инфицированного

панкреонекроза. Полиморфизм rs3813867 (аллель G, OR=4,29, 95%CI 1,03-17,78, $P=0,01$) гена *CYP2E1* также оказывал влияние на риск развития перитонита у больных ОП. С риском развития инфицированного панкреонекроза, кроме упомянутых выше SNPs rs5760492 *GGT1*, rs3813867 *CYP2E1* и rs320 *LPL*, были ассоциированы полиморфные варианты rs11546155 (генотипы G/A-A/A, OR=1,82, 95%CI 1,06-3,12, $P=0,03$) гена *GGT7*, rs2275984 (генотипы T/T-T/C, OR=4,86, 95%CI 1,15-20,52, $P=0,007$) гена *GGT5* и SNP rs2069812 (генотип A/A, OR=2,77, 95%CI 1,45-5,29, $P=0,003$) гена *IL5*, который также был ассоциирован с риском развития гнойного парапанкреатита (генотип A/A, OR=2,69, 95%CI 1,42-5,11, $P=0,004$). Вероятность риска возникновения перитонита также определялась полиморфными вариантами генов rs41303970 (генотип G/A, OR=1,58, 95%CI 1,02-2,45, $P=0,04$) гена *GCLM*, rs5751909 (аллель A, OR=2,20, 95%CI 1,45-3,33, $P=2,0 \times 10^{-4}$) гена *GGT1*, rs11657054 (аллель G, OR=1,50, 95%CI 1,03-2,18, $P=0,036$) гена *GGT6* и rs708272 (генотипы G/A-A/A, OR=2,08, 95%CI 1,31-3,31, $P=0,001$) гена *CETP*.

Анализ ассоциации полиморфных вариантов генов со степенью тяжести острого панкреатита показал, что у пациентов с острым панкреатитом тяжелой степени, помимо установленных ассоциаций (SNPs rs5760489 *GGT1* (генотипы A/G-G/G, $P=0,003$); rs4820599 *GGT1* (аллель G, $P=0,036$); rs5760492 *GGT1* (генотипы G/A-A/A, $P=0,005$); rs5760492 гена *GGT1* (генотипы G/A-A/A, $P=0,02$); rs2275984 гена *GGT5* (генотипы T/T-T/C, $P=0,007$); rs11546155 гена *GGT7* (генотипы G/A-A/A, $P=0,03$); rs6088660 *GSS* (аллель T, $P=0,007$); rs3813867 *CYP2E1* (генотип C/C, $P=0,009$); rs320 *LPL* (аллель T, $P=0,015$)), частота генотипа GG rs1801310 *GSS* была наименьшей, а частота генотипа T/T rs6119534 *GGT7* наибольшей, также была характерна более высокая частота генотипа G/C и низкая частота генотипа C/C SNP rs1800795 гена *IL6*. В сравнении с легкой степенью у пациентов с тяжелой степенью наблюдалось двукратное увеличение частоты генотипа A/A rs2069812 гена *IL5*.

Анализ ассоциаций полиморфных вариантов генов с риском смертельного исхода у больных ОП показал, что высокая вероятность смертельного исхода была связана с носительством четырех полиморфных вариантов генов метаболизма глутатиона rs1801310 (генотип G/A, OR=6,76, 95%CI 1,51-30,38, $P=0,002$) и rs6088660 (генотип C/T, OR=4,01, 95%CI 1,24-13,04, $P=0,01$) гена *GSS*, rs2551715 (генотип C/T, OR=3,29, 95%CI 1,03-10,50, $P=0,03$) гена *GSR* и rs5760489 (генотипы A/A-G/G, OR=7,84, 95%CI 1,01-60,95, $P=0,009$) гена *GGT1*, а также двух трансмембранных транспортеров ксенобиотиков SNP rs1045642 (генотип T/T, OR=2,97, 95%CI 1,04-8,52, $P=0,04$) гена *ABCB1* и rs7674870 (генотипы A/A-G/G, OR=4,39, 95%CI 1,22-15,78, $P=0,01$) гена *SLC7A11*.

Анализ связи SNP с лабораторными показателями пациентов с ОП установил, что самый низкий уровень окисленного глутатиона (GSSG)

наблюдался у носителей генотипов C/A rs7517826 и G/A rs41303970 гена *GCLM*, а также генотипа T/T rs648595 гена *GCLC*.

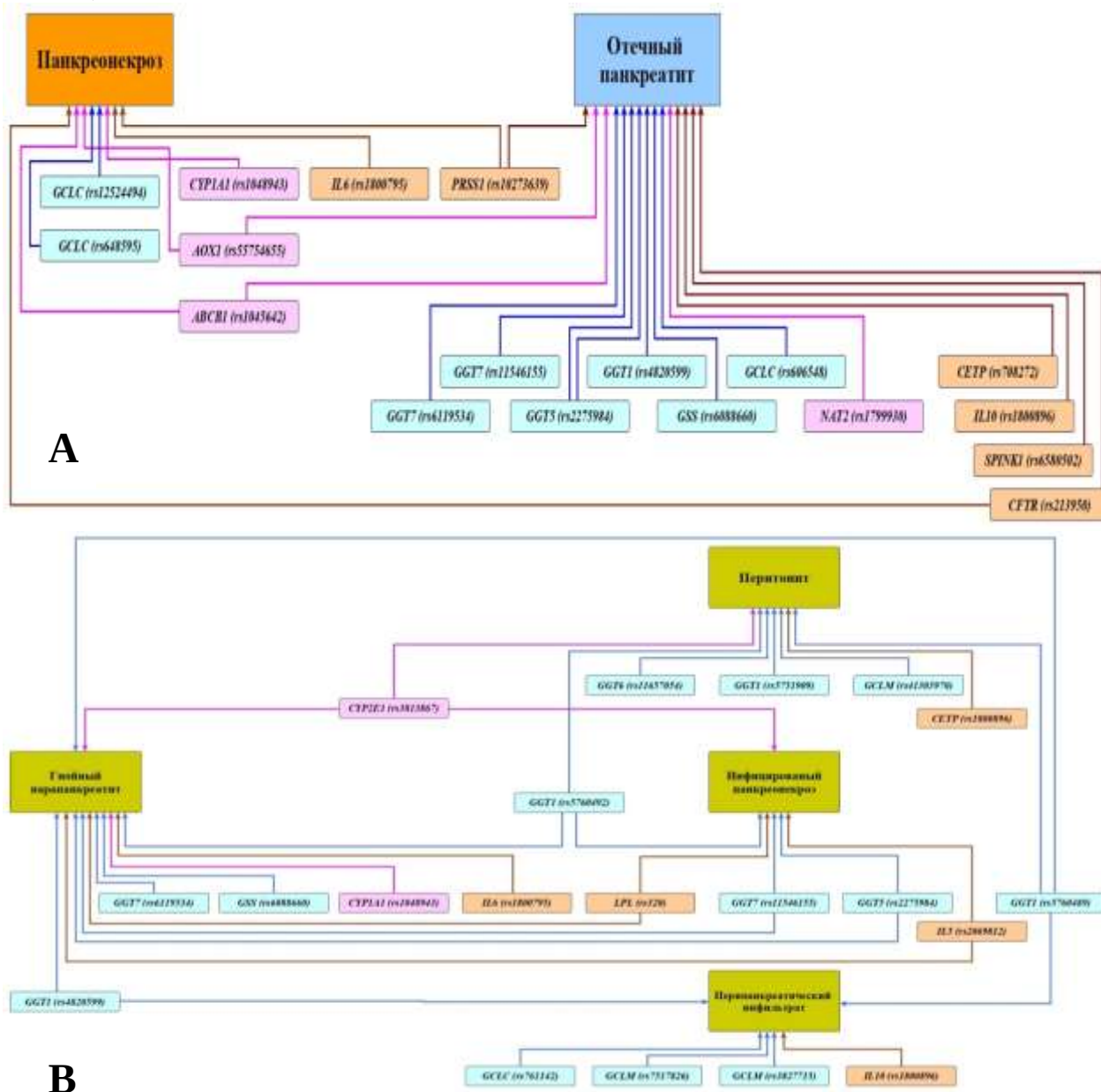


Рисунок 2. Сводная схема, отражающая установленные ассоциации исследуемых полиморфных вариантов генов с риском развития панкреонекроза (А) и гнойно-воспалительных осложнений (В) острого панкреатита.

Примечание: Светло-коричневым цветом (надписи и стрелки) выделены полиморфные варианты известных генов-кандидатов панкреатита; розовым цветом выделены полиморфизмы генов ферментов антиоксидантной системы и биотрансформации ксенобиотиков; голубым цветом выделены полиморфные варианты генов ферментов метаболизма глутатиона.

Генотипы T/T rs10273639 *PRSS1*, A/G rs213950 *CFTR*, A/A rs2069812 *IL5*, G/G rs1800795 *IL6*, A/A rs1799930 *NAT2*, а также G/A rs17883901 *GCLC* ассоциировались с самыми высокими значениями активных форм кислорода (ROS) в крови. Носители генотипов четырех ферментов метаболизма глутатиона: G/A rs1801310 *GSS*, A/G rs5760489 *GGT1*, T/T rs2275984 *GGT5* и A/A rs11546155 *GGT7*, а также T/T rs320 *LPL* и C/C rs3813867 *CYP2E1* ассоциировались с лейкоцитозом у пациентов с острым панкреатитом.

Наиболее высокие значения амилазы крови наблюдались у носителей генотипов T/T rs320 *LPL*, G/G rs4902346 *GPX2* и T/T rs2275984 *GGT5*.

Функциональное аннотирование полиморфных вариантов ГФМГ и биоинформатический анализ их вовлеченности в молекулярные механизмы панкреатита. С целью патофизиологической интерпретации выявленных гено-фенотипических взаимосвязей мы проводили функциональное аннотирование полиморфных вариантов генов с использованием различных биоинформатических инструментов и интернет-ресурсов. Для анализа экспрессии исследуемых генов в тканях поджелудочной железы и их взаимосвязи друг с другом использовали транскриптомный профиль пациентов, полученный в базе данных PED. Для анализа влияния исследуемых полиморфных вариантов на экспрессию генов в поджелудочной железе, печени и крови использовали биоинформатические ресурсы базы данных GTEx. Установлено, что полиморфные варианты rs636933, rs648595 и rs761142 ассоциированы с увеличением экспрессии гена *GCLC* в поджелудочной железе ($P \leq 0,0002$) и печени за исключением rs636933 ($P \leq 0,02$), в то время как в крови все три SNPs были связаны со снижением уровня мРНК гена *GCLC* ($P \leq 0,03$). Четыре полиморфных варианта гена *GCLM* были ассоциированы со снижением его экспрессии в ткани поджелудочной железы ($P \leq 0,03$), печени ($P \leq 0,005$) и крови ($P \leq 0,03$). Три SNPs гена *GGCT* также были связаны со снижением его экспрессии в поджелудочной железе ($P \leq 0,05$) и крови ($P \leq 0,04$). Все четыре полиморфных варианта гена *GGT1* ассоциировались с выраженным повышением уровня его экспрессии в поджелудочной железе ($P \leq 2,3 \times 10^{-23}$) и печени ($P \leq 0,0006$) и снижением его уровня в крови ($P \leq 0,00003$). SNP rs11657054 ассоциировался с повышенным уровнем транскрипционной активности *GGT6* в поджелудочной железе ($P = 0,000001$) и печени ($P = 0,01$). SNP rs11546155 был ассоциирован со снижением уровня мРНК гена *GGT7* в крови ($P = 0,0001$). Полиморфные варианты генов *GGT5* и *GSR* не показали статистически значимых ассоциаций с уровнем экспрессии данного гена. SNPs rs1801310 и rs6088660 ассоциировались с повышением транскрипционной активности гена *GSS* в поджелудочной железе ($P = 0,01$) и печени ($P \leq 0,05$).

В отношении полиморфных вариантов ГФМГ установлены многочисленные eQTLs, ассоциированные с экспрессией молекулярных шаперонов в поджелудочной железе.

К примеру, аллель rs13041792-A гена глутатионсинтетазы (*GSS*) ассоциировался с повышенной экспрессией генов *HSPE1* ($P = 0,0056$, $\beta = 0,11$), *HSPA1A* ($P = 0,0032$, $\beta = 0,16$), *HSPBP1* ($P = 0,0037$, $\beta = 0,15$), *HSPA4* ($P = 0,034$, $\beta = 0,095$), *HSPH1* ($P = 0,026$, $\beta = 0,12$), *DNAJA1* ($P = 0,019$, $\beta = 0,12$) и пониженной экспрессией *HSPA12A* ($P = 0,0019$, $\beta = -0,27$), а аллель rs6088660-T *GSS* был ассоциирован с пониженной экспрессией генов шаперонов *HSPE1* ($P = 0,030$, $\beta = -0,071$), *HSPA1A* ($P = 0,016$, $\beta = -0,11$), *HSPA1B* ($P = 0,0019$, $\beta = -0,13$), *HSPH1* ($P = 0,021$, $\beta = -0,10$) и *DNAJB1* ($P = 0,022$, $\beta = -0,11$). Данные взаимосвязи могут указывать на корегуляцию экспрессии ГФМГ и молекулярных шаперонов в

обеспечении важнейшего биологического процесса фолдинга белков. Кроме того, уровень экспрессии генов, кодирующих пищеварительные ферменты ПЖ и их ингибиторы, был ассоциирован с полиморфными вариантами ГФМГ. В частности, аллель rs6119534-T гена *GGT7* был ассоциирован с увеличением экспрессии *PRSS1* ($P=0,027$, $\beta=0,052$) и *SPINK1* ($P=0,015$, $\beta=0,11$). Аллель rs1801310-G гена *GSS* был взаимосвязан с повышенным уровнем экспрессии генов *AMY2A* ($P=0,05$, $\beta=0,075$), *CTRL* ($P=0,011$, $\beta=0,081$), *PRSS1* ($P=0,043$, $\beta=0,046$) и *SPINK1* ($P=0,032$, $\beta=0,096$), а аллель rs13041792-A *GSS* ассоциировался с увеличением транскрипционной активности гена *SPINK1* ($P=0,032$, $\beta=0,096$). Данные ассоциации могут свидетельствовать о взаимодействии метаболизма глутатиона и синтеза пищеварительных ферментов.

Транскриптомный анализ позволил выявить взаимосвязи практически между всеми исследованными нами генами. В частности, наиболее тесные корреляции уровня экспрессии обнаружены между генами ферментов катаболизма глутатиона (гамма-глутамилтрансферазами) и генами панкреатических ферментов (*PRSS1*) и их ингибиторов (*SPINK1*) – известных генов кандидатов панкреатита. Анализ групп совместно экспрессирующихся генов в поджелудочной железе, выполненный методом главных компонент, позволил выделить 7 групп коэкспрессирующихся генов. Факторный анализ показал, что существенная доля ($\approx 33\%$) совместного варьирования экспрессии генов обусловлена взаимодействием двух факторов. В частности, в первую группу взаимосвязанных на уровне экспрессии генов входили гены ферментов катаболизма глутатиона (гамма-глутамилтрансферазы 1 и 6) и гены панкреатических ферментов (*PRSS1*) и их ингибиторов (*SPINK1*). С целью биологической интерпретации взаимно экспрессирующихся генов нами был применен анализ обогащения (Enrichment analysis) терминами различных биоинформатических ресурсов с использованием online-инструмента Enrichr. Установлено, что данные гены в кооперации контролируют активность гидролиза белков и пептидов, что может иметь значение для активации пищеварительных ферментов, также являются мишенями для транскрипционного фактора NR5A2, подавляющего стресс эндоплазматического ретикулума и воспаление и регулирующего дифференцировку ацинарных клеток ПЖ. Анализ данных ресурса GTEx показал, что практически все исследованные полиморфные варианты оказывают влияние на экспрессию генов как в поджелудочной железе, так и в печени и крови. Выявлена интересная закономерность: полиморфные варианты ГФМГ (в том числе ассоциированные с риском развития панкреатита) коррелировали с изменениями экспрессии генов, вовлеченных в регуляцию важнейших биологических процессов в поджелудочной железе. Так, установлено, что гены, составляющие 1 группу, а именно *PRSS1*, *SPINK1*, *GGT6*, являются мишенями для транскрипционного фактора NR5A2 ($Q=0,02$), который представляет собой ядерный рецептор, регулирующий метаболизм холестерина и глюкозы в печени, подавление стресса

эндоплазматической сети, контролирует выработку глюкокортикоидов в кишечнике, развитие поджелудочной железы и дифференцировку ее ацинарных клеток, а также подавляет острую воспалительную реакцию в ткани. Коэкспрессирующиеся гены 2 группы, кроме того, что *GGT5* и *GGT7*, являясь якорными компонентами плазматической мембраны ($Q=0,01$), участвуют в биосинтезе и утилизации глутатиона ($Q=0,0008$) и синтезе лейкотриена D_4 ($Q<0,02$), вовлечены в синтез аминокислоты таурина и ее производной гипотаурина ($Q=0,0007$), активно происходящий в поджелудочной железе и печени, обеспечивающий антиоксидантную защиту (Aruoma E. et al, 1988) и взаимосвязанный с метаболизмом желчных кислот (Lehninger C., 2005). Совместно с ферментами биотрансформации ксенобиотиков стресса (*GSR* и *CYP1A1*, $Q=0,0001$) и индуцированного свободными радикалами клеточного апоптоза (*GSR* и *TNF*, $Q=0,0008$) *GGT5* и *CYP2E1* участвуют в метаболизме арахидоновой кислоты ($Q=0,0001$). *GSR* и *TNF* участвуют в метаболизме селена ($Q=0,01$), являющегося кофактором некоторых ферментов АОС. Касаясь 3 группы коэкспрессирующихся генов, следует отметить, что *GCLC*, *LPL*, *IL10* и *IL6* являются общими мишенями для отдельных транскрипционных факторов, таких как *NFKB1* ($Q=0,00007$), *RELA* ($Q=0,0001$) и *SP1* ($Q=0,0002$). Таким образом, ГФМГ коэкспрессируются с генами, принимающими участие в регуляции воспаления, что имеет патогенетическое значение для развития острого панкреатита.

Оценка эффективности лечения острого алкогольно-алиментарного панкреатита и его осложнений восстановленным глутатионом. Сравнительный анализ основной и контрольной групп по различным клиническим характеристикам и исходам заболевания показал, что у 75% пациентов, получавших GSH, клиническое улучшение наступало достоверно раньше, а осложнения развивались значительно реже, чем у пациентов контрольной группы. Также было установлено, что у пациентов, получавших GSH, нормализация количества лейкоцитов крови происходила раньше, чем у больных, находившихся на стандартной терапии ($P=1,6 \times 10^{-15}$).

Проведен фармакогенетический анализ эффективности применения восстановленного глутатиона в профилактике осложнений острого алкогольно-алиментарного панкреатита в зависимости от наличия полиморфных вариантов генов метаболизма глутатиона (рисунок 3), который показал, что у пациентов, получавших препарат GSH, «патологические» эффекты генотипов не проявлялись. Так, генотип *GCLM* rs3827715 - C/C был ассоциирован с риском развития гнойно-некротического парапанкреатита ($P=0,02$) у пациентов, получавших стандартную терапию острого панкреатита, а у пациентов, леченных GSH, данное осложнение не развивалось. Интересным был тот факт, что гомозиготные генотипы rs11546155 – G/G-A/A характеризовались протективным влиянием в отношении риска развития как гнойно-некротического парапанкреатита ($P=0,04$), так и ферментативного панкреатита ($P=0,02$) и панкреонекроза ($P=0,002$) исключительно у пациентов, получавших лечение препаратом

GSH, а у пациентов на фоне стандартной терапии протективный эффект данных генотипов не выявлялся. Аналогичный протективный эффект наблюдался в ассоциации аллеля *GGCT* rs38420-G ($P=0,007$) с развитием панкреонекроза. У пациентов, получавших стандартную терапию, генотипы *GSR* rs2551715 – T/T ($P=0,02$) и *GCLC* rs606548 – C/C ($P=0,03$) были ассоциированы с повышенным риском развития панкреонекроза, тогда как у лиц, получавших GSH, данные генотипы были нейтральны в отношении риска развития указанного осложнения. Исключительно у пациентов, находившихся на стандартной терапии ОП, аллели rs761142 – A ($P=0,03$) и rs648595 – G ($P=0,008$) гена *GCLC* были ассоциированы с повышенным риском развития перипанкреатического инфильтрата и псевдокисты соответственно. Генотипы *GSS* rs6088660 – C/T-T/T ($P=0,04$) и *GGT5* rs2275984 – T/T ($P=0,04$) у пациентов, получавших стандартную терапию ОП, были связаны с риском развития инфицированного панкреонекроза, а у пациентов, пролеченных GSH, данное осложнение не развивалось. Однако носительство генотипа *GSS* rs6088660 – C/T-T/T, независимо от стандартной терапии ($P=0,03$) или терапии GSH ($P=0,01$), было связано с повышенным риском развития панкреонекроза.

Таким образом, своевременное внутривенное введение восстановленного глутатиона при остром алкогольно-алиментарном панкреатите в дозе 0,646 граммов натриевой соли лиофилизированного восстановленного глутатиона, растворенного в 4 мл воды для инъекций, один раз в сутки в течение 7 дней в IA фазе с целью профилактики развития осложнений у пациентов с генотипами высокого риска неблагоприятного течения болезни до развития необратимых изменений в ткани ПЖ существенно улучшает объективное и субъективное состояние, в значительной степени уменьшает вероятность формирования панкреонекроза и развития осложнений, ускоряет процесс восстановления нарушенных при панкреатите физиологических функций и лабораторно-инструментальных показателей, значительно снижает показания к оперативному лечению и сокращает сроки пребывания пациентов в стационаре.

Проведен анализ ассоциации полиморфных вариантов генов с эффективностью оперативного лечения пациентов. Анализ частот генотипов 120 пациентов с перитонитом показал, что среди больных, у которых консервативное лечение и дренирование принесло положительный эффект, преобладали генотипы G/C-C/C *IL6* G>C (rs1800795) (OR=0,21, 95%CI 0,06-0,76, $P=0,01$). В последующем, у 55 пациентов было выполнено перкутанное дренирование гнойных очагов, в этой группе преобладали генотипы G/A-A/A *CETP* G>A (rs708272) (OR=1,93, 95%CI 1,10-3,41, $P=0,02$) и G/A-A/A *GGT1* G>A (rs5751909) (OR=2,77, 95%CI 1,46-5,27, $P=0,002$). Консервативное лечение инфильтрата успешно у 154 пациентов, в этой группе преобладали генотипы G/A-A/A *GCLM* G>A (rs41303970) (OR=0,54, 95%CI 0,29-0,99, $P=0,05$) и C/T-C/C *GGT5* C>T (rs2275984) (OR=0,53, 95%CI 0,29-0,99,

$P=0,04$). 92 пациентам с псевдокистами размером менее 5 см проводилось консервативное лечение и динамическое наблюдение.

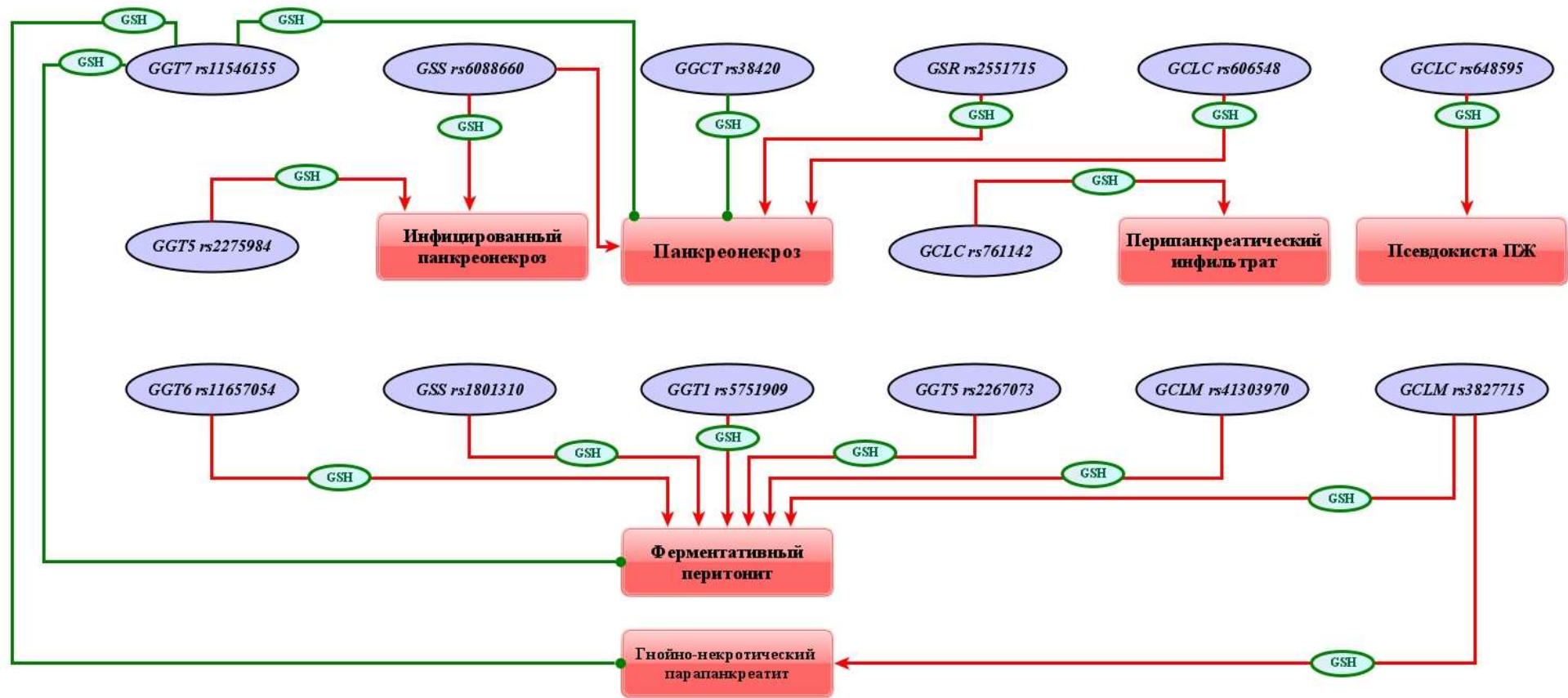


Рисунок 3. Схема, отражающая эффективность применения препарата GSH для лечения острого алкогольно- алиментарного панкреатита и профилактики развивающихся на его фоне осложнений в зависимости от генотипов ГФМГ

Примечание: Красными и зелеными стрелками обозначены ассоциации генотипов ГФМГ с повышенным и пониженным риском развития осложнений болезни, соответственно; зелеными овальными блоками обозначены генотипы, негативное влияние которых на риск развития осложнений нивелируется при применении препарата GSH.

Среди пациентов с положительным эффектом преобладали генотипы G/C-C/C *IL6* G>C (rs1800795) (OR=0,5, 95%CI 0,29-0,88, $P=0,02$), G/A-A/A *GCLC* G>A (rs17883901) (OR=3,31, 95%CI 1,01-10,78, $P=0,04$), G/G *GPX2* A>G (rs4902346) (OR=0,32, 95%CI 0,10-0,99, $P=0,04$), T/C-C/C *EPHX1* T>C (rs1051740) (OR=0,57, 95%CI 0,34-0,95, $P=0,03$). Наружное дренирование при незрелых псевдокистах более 5 см выполнено у 9 пациентов; у 3 произошло нагноение, в этой группе преобладали генотипы G/A-A/A *GCLM* G>A (rs41303970) (OR=1,72, 95%CI 1,02-2,92, $P=0,04$). У 74 пациентов стерильный панкреонекроз успешно вылечен консервативно, в этой группе преобладали генотипы G/A-A/A *GCLC* G>A (rs636933) (OR=0,57, 95%CI 0,33-0,97, $P=0,04$). У 97 пациентов произошло инфицирование очагов деструкции, которое у 79 удалось устранить с помощью МИХТЛ, выполнив перкутанное дренирование, у 26 больных выполнялась некрсеквестрэктомия одномоментная (6) и многоэтапная (20), у 8 пациентов потребовалось дополнительно провести мини-люмботомию. Хирургическое лечение инфицированного панкреонекроза прошло успешно у носителей генотипов A/G-G/G *SLC7A11* A>G (rs7674870) (OR=0,14, 95%CI 0,02-0,81, $P=0,024$); G/A *GGT1* G>A (rs4820599) (OR=0,12, 95%CI 0,01-0,99, $P=0,012$). Среди пациентов, которым были выполнены многоэтапные некрсеквестрэктомии, преобладали генотипы T/C-C/C *CYP1A1* T>C (rs1048943) (OR=3,15, 95%CI 1,28-13,50, $P=0,01$), T/T *SPINK1* C>T (rs6580502) (OR=3,84, 95%CI 1,17-12,59, $P=0,032$), G/A *GSS* G>A (rs1801310) (OR=5,08, 95%CI 1,08-23,91, $P=0,018$).

Заключение

В результате проведенного исследования нам удалось связать практически все известные патогенетические изменения, обнаруженные при ОП, с дефицитом глутатиона, начиная с нарушения фолдинга ферментов ПЖ и заканчивая воспалительными и апоптозными повреждениями органа. Выраженный дефицит глутатиона в ПЖ связан, с одной стороны, с недостаточным поступлением его с пищей, с другой – его уровень истощается под влиянием хронического употребления алкоголя и курения, кульминацией данных изменений является прием больших доз алкоголя и пищи, провоцирующих развитие ОП. Дефицит глутатиона способствует активации окислительного стресса, поражению ткани ПЖ свободными радикалами и воспалением и нарушает процесс созревания (упаковки) белков-проферментов, активирует стресс эндоплазматического ретикулума и при невозможности восстановления синтеза глутатиона запускает процесс аутофагии и апоптоза, приводящий к деструктивным изменениям в поджелудочной железе (рисунок 4).

Проведенное исследование также позволило выявить рисковые и прогностические полиморфные локусы генов ФМГ. Обнаруженные нами связи генотипов полиморфных локусов с развитием осложнений и исходом заболевания необходимо учитывать при выборе лечебной тактики у пациентов.



Рисунок 4. Потенциальные механизмы вовлеченности нарушений биосинтеза глутатиона в патогенез острого панкреатита.

Предложенные нами способы консервативного и хирургического лечения острого алкогольно-алиментарного и билиарного панкреатита позволяют безопасно и эффективно устранить проблему гипертензии в протоках и минимизировать риск развития осложнений.

Выводы

1. Выполнение эндоскопической папиллотомии с использованием лазера позволяет быстро ($P=0,01$), безопасно и эффективно устранить проблему холедохолитиаза при остром билиарном панкреатите, избежав развития постманипуляционных кровотечений (в 100% случаев) и улучшить результаты лечения заболевания, сократив сроки пребывания пациента в стационаре ($P=0,03$).

2. Применение лазера при выполнении эндоскопической папиллотомии на антеграднопроведенном проводнике из фторопласта в процессе лапароскопической холецистэктомии позволяет быстро ($P=0,01$) и безопасно устранить проблему холедохолитиаза и улучшить результаты лечения острого билиарного панкреатита, сократив сроки пребывания пациента в стационаре ($P=0,05$).

3. Применение способа лапароскопического дренирования сальниковой сумки с использованием предложенного нами устройства препятствует ее преждевременной облитерации канала, облегчает доступ к поджелудочной железе и парапанкреатической клетчатке, позволяет осуществлять контроль и выполнять этапные некрсеквестрэктомии с минимальной анестезиологической и хирургической агрессией, снижает риск развития

гноино-некротического парапанкреатита ($P=0,002$) и летального исхода ($P=0,001$), а также сокращает длительность лечения в стационаре ($P=0,02$).

4. Выявлены полиморфные варианты генов, ассоциированных с предрасположенностью к острому алкогольно-алиментарному панкреатиту rs6580502 *SPINK1* ($P=0,0015$), rs10273639 *PRSS1* ($P=5 \times 10^{-4}$), rs1045642 *ABCB1* ($P=5 \times 10^{-4}$), rs1800566 *NQO1* ($P=0,03$) и rs2551715 *GSR* ($P=0,04$), а rs16944 *IL1B* ($P=0,04$), rs2069812 *IL5* ($P=0,04$), del/del *GSTT1* ($P=0,004$), rs3827715 и rs41303970 *GCLM* ($P=0,03$; $0,02$), rs4820599 и rs5760489 *GGT1* ($P=0,04$; $0,035$), rs2275984 *GGT5* ($P=0,001$) и rs11546155 *GGT7* ($P=0,007$) – к острому билиарному панкреатиту, тогда как ряд следующих генов SNPs rs213950 *CFTR* ($P=0,005/0,013$), *IL10* rs1800896 ($P=0,03/0,0038$), *AOX1* rs55754655 ($P=0,003/0,025$), rs12524494 *GCLC* ($P=0,03/0,04$) и rs6119534 *GGT7* ($P<0,0001/0,04$) не зависела от этиологии острого панкреатита. Взаимосвязи исследованных полиморфных вариантов генов характеризовались выраженным половым диморфизмом. SNPs rs2069812 *IL5* ($P=0,022$), rs55754655 *AOX1* ($P=0,005$) и rs1045642 *ABCB1* ($P<0,001$) ассоциировались с предрасположенностью к ОААП у мужчин, а SNPs rs1800629 *TNF* ($P=0,025$), rs1800896 *IL10* ($P=0,004$), rs708272 *CETP* ($P=0,0035$), rs320 *LPL* ($P=0,03$) и rs1801310 *GSS* ($P=0,0087$) – у женщин, в то время как SNPs rs6580502 *SPINK1* ($P=0,0078/0,048$), rs213950 *CFTR* ($P=0,03/0,004$), rs10273639 *PRSS1* ($P=0,004/0,045$) и rs6119534 *GGT7* ($P=0,0027/5 \times 10^{-4}$) были ассоциированы с развитием ОП у обоих полов.

5. Выявлены гаплотипы генов ферментов метаболизма глутатиона, ассоциированные с пониженным (*H8* A-G-C-G-G-C гена *GCLM* ($P=0,06$), *H4* G-G-C гена *GSS* ($P=0,05$), *H3* A-A-A-A гена *GGT1* ($P=0,01$)) и повышенным риском развития ОП (*H6* A-G-A-A гена *GGT1* и *H2* G-T гена *GGT7* ($P=0,02$)).

6. Доказано, что средовые факторы риска, связанные с истощением эндогенных запасов глутатиона и развитием окислительного стресса, потенцирует негативное влияние исследуемых генов на развитие ОП. Суммация числа *mbmdr*-моделей по группам генов и средовым факторам риска показала, что в развитие ОААП наиболее существенный вклад вносят SNPs известных генов-кандидатов панкреатита (23%) в сравнении с их вкладом в развитие ОБП (12,5%). SNPs генов ФБК и АОС в наибольшей степени вносили вклад в детерминацию билиарного (11,5%), в сравнении с ОААП (4%). При различных формах панкреатита суммарный вклад SNPs ГФМГ был выражен в большей степени, чем влияние других исследованных генов, и варьировал в диапазоне от 29 до 32%. Еще в большей степени был выражен вклад средовых факторов в генно-средовые взаимодействия (41-44%), что свидетельствует о взаимном влиянии генетических маркеров и факторов риска на развитие различных форм панкреатита. Методом *mbmdr* установлены межгенные и генно-средовые взаимодействия, ассоциированные с развитием ОП. Сочетания генотипов SNPs генов *SPINK1* rs6580502, *CFTR* rs213950, *IL5* rs2069812, *TNF* rs1800629, *IL10* rs1800896, трех SNPs генов ФБК и АОС: *AOX1* rs55754655, *NQO1* rs1800566 и *ABCB1*

rs1045642, *GCLM* rs3827715 и *GGT1* rs5760489 были ассоциированы с риском развития ОААП. Предрасположенность к ОБП ассоциировалась с сочетаниями генотипов: *CFTR* rs213950, *IL10* rs1800896, *LPL* rs320, *CYP2E1* rs3813867, *EPHX1* rs1051740, *SLC7A11* rs7674870, *GCLM* rs3827715 и *GGT5* rs2267073.

7. Исследованные полиморфные варианты генов статистически значимо взаимосвязаны с тяжестью клинических проявлений и клинико-лабораторными показателями у больных ОП: SNPs rs41303970 и rs7517826 гена *GCLM* ($P=0,007; 0,02$), rs648595 гена *GCLC* ($P=0,04$) – с пониженным уровнем окисленного глутатиона плазмы крови; генотипы rs10273639-TT *PRSS1* ($P=0,008$), rs213950-AG *CFTR* ($P=0,03$), rs2069812-AA *IL5* ($P=0,007$), rs1800795-GG *IL6* ($P=0,0004$), rs1799930-AA *NAT2* ($P=0,04$) и rs17883901-GA *GCLC* ($P=0,04$) – с повышенным уровнем активных форм кислорода; генотипы rs320-TT *LPL* ($P=0,01$), rs3813867-CC *CYP2E1* ($P=0,0008$), rs1801310-GA *GSS* ($P=0,0005$), rs5760489-AG *GGT1* ($P=0,003$), rs2275984-TT *GGT5* ($P=0,009$) и rs11546155-AA *GGT7* ($P=0,03$) – с повышенным уровнем лейкоцитов в крови. Наиболее высокие значения амилазы крови наблюдались у носителей генотипов rs320-TT *LPL* ($P=0,03$), rs4902346-GG *GPX2* ($P=0,0005$) и rs2275984-TT *GGT5* ($P=0,01$). Полиморфные варианты генов оказывали значимое влияние на риск развития осложнений и исходы у больных с острым панкреатитом. Так, SNPs rs213950 *CFTR*, rs606548 и rs648595 гена *GCLC*, rs6088660 *GSS*, rs4820599 *GGT1*, rs11546155 *GGT7*, rs38420 *GGCT* ассоциировались с развитием панкреонекроза, SNPs rs2069812 *IL5*, rs1800795 *IL6*, rs1800896 *IL10*, rs320 *LPL*, rs1048943 гена *CYP1A1*, rs3813867 гена *CYP2E1*, rs7674870 гена *SLC7A11*, rs1799930 гена *NAT2* и rs1051740 гена *EPHX1*, rs761142, rs17883901 и rs648595 гена *GCLC*, rs3827715, rs41303970 и rs7517826 гена *GCLM*, rs6088660 *GSS*, rs5760492, rs4820599 и rs5760489 гена *GGT1*, rs2275984 *GGT5*, rs6119534 и rs11546155 гена *GGT7* – с формированием гнойно-воспалительных осложнений. SNPs rs1801310 и rs6088660 гена *GSS* ($P=0,002; 0,01$), rs2551715 гена *GSR* ($P=0,03$), rs5760489 гена *GGT1* ($P=0,009$), rs1045642 гена *ABCB1* ($P=0,04$) и rs7674870 гена *SLC7A11* ($P=0,01$) ассоциировались с повышенным риском смертельного исхода у больных с острым панкреатитом.

8. Функциональное аннотирование SNPs, выполненное с использованием различных биоинформатических инструментов, позволило установить, что исследованные полиморфные варианты генов метаболизма глутатиона обладают регуляторным потенциалом: находятся в сцеплении с 411 регуляторными SNPs, имеют *cis*- и *trans*-eQTLs в поджелудочной железе, печени и крови, являются объектами эпигенетической модификации посредством метилирования ДНК и ацетилирования гистонов в тканях поджелудочной железы, а также располагаются в областях мотивов ДНК, специфически связывающих транскрипционные факторы, которые способны влиять на экспрессию соответствующих генов.

9. Доказано, что внутривенное введение восстановленного глутатиона при остром алкогольно-алиментарном панкреатите в дозе 0,646 граммов натриевой соли лиофилизированного восстановленного глутатиона, растворенного в 4 мл воды для инъекций, один раз в сутки в течение 7 дней в IA фазе у пациентов с генотипами высокого риска неблагоприятного течения болезни способствовало быстрому и выраженному клиническому улучшению состояния больных, нормализации воспалительных изменений в поджелудочной железе и существенно снижало риск развития осложнений (в 3 раза). Проведенный фармакогенетический анализ позволил установить, что применение GSH нивелирует негативные эффекты генотипов ферментов генов метаболизма глутатиона при остром панкреатите.

10. Полиморфные варианты исследованных генов были ассоциированы с эффективностью различных консервативных и хирургических методов лечения острого панкреатита: лапароскопического дренирования (*IL6* rs1800795), перкутанного дренирования гнойных очагов (*CETP* rs708272, *GGT1* rs5751909), консервативного лечения псевдокист размером менее 5 см (*IL6* rs1800795, *GCLC* rs17883901, *GPX2* rs4902346, *EPHX1* rs1051740), консервативного лечения стерильного панкреонекроза (*GCLC* rs636933), хирургического лечения инфицированного панкреонекроза (*SLC7A11* rs7674870, *GGT1* rs4820599). Однако у пациентов с вариантными генотипами *GCLM* rs41303970 наружное дренирование ассоциировалось с развитием нагноения, а у носителей генотипов полиморфных вариантов генов *CYP1A1* rs1048943, *SPINK1* rs6580502 и *GSS* rs1801310 требовалось проведение многоэтапной некрсеквестрэктомии.

Практические рекомендации

1. При прогнозировании развития острого панкреатита и его осложнений клинически значимым является применение генотипирования полиморфных локусов генов ферментов метаболизма глутатиона, антиоксидантной системы и биотрансформации ксенобиотиков, а также панкреатических ферментов и их регуляторов.
2. Рекомендовано включение в базовую терапию тяжелого острого алкогольно-алиментарного панкреатита пациентам с генотипами высокого риска внутривенное введение восстановленного глутатиона в дозе 0,646 граммов натриевой соли лиофилизированного восстановленного глутатиона, растворенного в 4 мл воды для инъекций, один раз в сутки в течение 7 дней в IA фазе с целью профилактики прогрессирования очага деструкции и развития осложнений.
3. Пациентам с острым билиарным панкреатитом, осложненным механической желтухой, холедохолитиазом при проведении эндоскопической папиллосфинктеротомии использовать лазер.
4. Пациентам с острым алкогольно-алиментарным панкреатитом при хирургическом лечении перитонеального синдрома с признаками тяжелого течения панкреонекроза при лапароскопии использовать

эндовидеохирургический способ дренирования брюшной полости и сальниковой сумки.

5. Для профилактики развития острого панкреатита рекомендуется поддержание в организме нормального уровня глутатиона посредством употребления белковой пищи, свежих овощей и фруктов, а также аминокислот-предшественников эндогенного синтеза глутатиона.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи, опубликованные в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ:

1. Связь промоторного полиморфизма -308 G>A гена фактора некроза опухоли с тяжестью течения острого панкреатита у русской популяции жителей Курской области / **Т.А. Самгина**, П.М. Назаренко, А.В. Полоников (и др.) // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2014. – № 9. – С. 17-20. (Scopus)

2. Связь полиморфизма HindIII гена липопротеинлипазы с развитием острого алкогольно-алиментарного панкреатита: пилотное исследование / **Т.А. Самгина**, П.М. Назаренко, А.В. Полоников (и др.) // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2016. – Т. 161, № 1. – С. 92-96. (Scopus)

3. Alcohol Consumption and Cigarette Smoking are Important Modifiers of the Association Between Acute Pancreatitis and the PRSS1-PRSS2 Locus in Men / A.V. Polonikov, **T.A. Samgina**, P.M. Nazarenko (et al.) // Pancreas. – 2017. – Vol. 46, №2. – P. 230-236. (Scopus)

4. Сравнительные результаты применения антеградной и традиционной папиллосфинктеротомии при устранении холедохолитиаза / **Т.А. Самгина**, П.М. Назаренко, Д.П. Назаренко (и др.) // Эндоскопическая хирургия. – 2016. – Т. 22, № 4. – С. 25-29. (Scopus)

5. Связь полиморфизмов генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков EPNX1 и CYP1A1 с развитием острого панкреатита у русских / **Т.А. Самгина**, П.М. Назаренко, А.В. Полоников (и др.) // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2017. – №11 (147). – С. 34-37. (Scopus)

6. Значение однонуклеотидного полиморфизма некоторых генов системы биотрансформации ксенобиотиков в развитии острого панкреатита / **Т.А. Самгина**, П.М. Назаренко, А.В. Полоников, В.А. Лазаренко // Вестник Российского государственного медицинского университета. – 2020. – №1. – С. 36-40. (Scopus)

7. Роль полиморфных вариантов rs11546155 и rs6119534 гена GGT7 и некоторых факторов риска в развитии острого панкреатита / **Т.А. Самгина**, В.А. Лазаренко // Вопросы питания. – 2020. – №2 (91). – С. 43-50. (Scopus)

8. Прогнозирование течения и исхода острого алкогольно-алиментарного панкреатита с учетом генетического статуса пациента по полиморфным локусам rs11546155 и rs6119534 гена GGT7/ **Т.А. Самгина**,

// Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2022. – № 8(204). – С. 35-40. (Scopus)

9. Влияние средовых факторов и полиморфных локусов rs6580502 гена *SPINK1*, rs10273639 гена *PRSS1*, rs213950 гена *CFTR* на риск развития острого алкогольно-алиментарного панкреатита / **Т.А. Самгина** // Вопросы питания. – 2023. – №1 (92). – С. 85-91. (Scopus)

10. Транспапиллярные вмешательства при холедохолитиазе и его осложнениях / **Т.А. Самгина**, П.М. Назаренко, Д.П. Назаренко (и др.) // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2015. – Т. 8, №1. – С. 29-33.

11. Роль полиморфизмов генов цитокинов в развитии острого панкреатита: анализ межгенных и генно-средовых взаимодействий / **Т.А. Самгина**, Г.В. Животова, П.М. Назаренко, А.В. Полоников // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2017. – Т.27, №3. – С. 27-33.

12. Наш опыт хирургического лечения острого билиарного панкреатита / **Т.А. Самгина**, П.М. Назаренко, Д.П. Назаренко, Ю.В. Канищев // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2017. – №4. – С. 57-66.

13. Изучение роли полиморфизма 279 G/A гена белка-переносчика эфиров холестерина в развитии острого алкогольно-алиментарного панкреатита / **Т.А. Самгина**, Г.В. Животова, О.Ю. Бушуева, П.М. Назаренко, А.В. Полоников // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2017. – №3. – С. 95-97.

14. Вклад полиморфизма (rs55754655) гена альдегидоксидазы в развитие острого панкреатита / **Т.А. Самгина**, О.Ю. Бушуева, Ю.В. Канищев (и др.) // Медицинская генетика. – 2017. – Т.16, №4. – С. 35-39.

15. Роль полиморфизма (rs1800566) гена фермента НАД (Ф) Н-хиноноксидоредуктазы 1 в развитии острого панкреатита/ **Т.А. Самгина**, П.М. Назаренко, А.В. Полоников (и др.) // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2018. – Т.28, №1. – С. 20-25.

16. Роль полиморфизма гена PEMT фосфатидилэтаноламин-N-метилтрансферазы rs12449964 в развитии острого панкреатита и его осложнений / **Т.А. Самгина**, П.М. Назаренко, А.В. Полоников, В.А. Лазаренко (и др.) // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2019. – Т.29, №5. – С. 21-25.

17. Роль полиморфизма гена фосфатидилэтаноламин-N-метилтрансферазы rs12449964 в развитии острого панкреатита / **Т.А. Самгина**, Ю.Э. Азарова, Ю.В. Канищев (и др.) // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2019. – №3. – С. 28-33.

18. Роль совместного влияния полиморфизма rs1799930 гена *NAT2*-590 G>A и злоупотребления алкоголем в развитии острого алкогольно-алиментарного панкреатита / **Т.А. Самгина** // Российский журнал

гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2020. – Т.30, №6. – С. 40-44.

19. Влияние злоупотребления алкоголем на развитие острого алкогольно-алиментарного панкреатита у носителей полиморфного варианта rs 7674870 гена *SLC7A11* A>G / **Т.А. Самгина** // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2020. – №3. – С.30-36.

20. Совместный вклад злоупотребления алкоголем и полиморфного варианта rs6580502 гена *SPINK1* в развитие острого алкогольного панкреатита / **Т.А. Самгина**, Д.И. Колмыков, Г.Н. Мяснянкина (и др.) // Медицинская генетика. – 2021. – Т.20, №4. – С. 43-48.

21. Лазерная папиллосфинктеротомия при холедохолитиазе и остром билиарном панкреатите / **Т.А. Самгина**, В.А. Лазаренко, П.М. Назаренко (и др.) // Лазерная медицина. – 2021. – Т.25, №2. – С. 48-54.

Патенты на изобретения

1. Устройство для этапных некрсеквестрэктомий при остром деструктивном панкреатите и способ его применения: пат. 025548 Евразийское патентное ведомство: Int.Cl. A61M 27/00 A61B 1/313 / **Т.А. Самгина**, П.М. Назаренко, Д.П. Назаренко, А.В. Полоников; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО Курский государственный медицинский университет (ФГБОУ ВО «КГМУ»). – Евразийский патент на изобретение № 025548. – заявл. 08.04.14; опубл. 30.01.2017. – 3 с.

2. Устройство для эндоскопической папиллотомии: пат. 2614891 Рос. Федерация: МПК A61B 17/00, C2 / **Т.А. Самгина**, Ю.В. Канищев, А.В. Гвоздева, П.М. Назаренко, Шади Баракат, О.Ю. Бушуева; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО Курский государственный медицинский университет (ФГБОУ ВО «КГМУ»). – № 2614891. – заявл. 29.01.15; опубл. 30.03.2017, Бюл. № 10. – 7 с.

3. Способ эндоскопической лазерной папиллотомии и канюля для его осуществления: пат. 028565 Евразийское патентное ведомство: Int.Cl. A61B 17/94 18/20 B1 / **Т.А. Самгина**, Ю.В. Канищев, А.В. Гвоздева, П.М. Назаренко; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО Курский государственный медицинский университет (ФГБОУ ВО «КГМУ»). – Евразийский патент на изобретение № 028565. – заявл. 29.01.15; опубл. 29.12.2017. – 3 с.

4. Применение физиологического трипептида ТАД 600 для лечения острого алкогольно-алиментарного панкреатита: пат. 2696286 Рос. Федерация: МПК A61K 38/06, C1 / **Т.А. Самгина**, А.В. Полоников, П.М. Назаренко, В.А. Лазаренко, М.А. Солодилова, Ю.Э. Азарова; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО Курский государственный медицинский университет (ФГБОУ ВО «КГМУ»). – № 2696286. – заявл. 23.07.18; опубл. 01.08.2019, Бюл. № 22. – 7 с.

Публикации в других изданиях:

1. **Самгина Т.А.** Исследование взаимосвязи промоторного полиморфизма -308G>A в гене фактора некроза опухоли с развитием и

течением острого панкреатита у русских жителей центральной России / **Т.А. Самгина**, П.М. Назаренко, А.В. Полоников (и др.) // VII съезд Российского общества медицинских генетиков: сб. материалов (Санкт-Петербург, 19-23 мая 2015 г.). – СПб, 2015. – С. 238-239.

2. **Самгина Т.А.** Хирургическое лечение острого билиарного панкреатита / **Т.А. Самгина**, П.М. Назаренко, Д.П. Назаренко (и др.) // Заболевания поджелудочной железы: сб. материалов науч.-практ. конф., посвященной 80-летию КГМУ, памяти и 80-летию проф. В.Г. Гладких (5 июня 2015 г.). – Курск, 2015. – С. 88-92.

3. **Самгина Т.А.** Генетические варианты воспалительных цитокинов и их роль в развитии острого алкогольно-алиментарного панкреатита = Genetic variation of inflammatory cytokines contributes to acute non-biliary pancreatitis in Russians population: (6th Singapore Health Biomedical Congress (October 2015)) **Т.А. Самгина**, А.В. Полоников, О.Ю. Бушуева, П.М. Назаренко // Анналы медицинской Академии Сингапур. – 2015. – Т. 44, № 10. – С. 327.

4. **Самгина Т.А.** Ассоциация полиморфизмов генов глутатион-S-трансферазы с риском развития острого панкреатита у россиян = An association of the deletion polymorphism of Glutathione S-Transferase Gene with the risk of acute pancreatitis in Russians: (6th Singapore Health Biomedical Congress (October 2015)) **Т.А. Самгина**, А.В. Полоников, О.Ю. Бушуева, П.М. Назаренко // Анналы медицинской Академии Сингапур. – 2015. – Т. 44, № 10. – С. 328.

5. **Самгина Т.А.** The role of polymorphism H139R microsomal epoxide hydrolase gene in the development of acute biliary pancreatitis / **Т.А. Самгина**, А.В. Полоников, О.Ю. Бушуева (и др.) // International Journal of Medical Biology. – 2016. – Vol. 3. – P.16-17.

6. **Самгина Т.А.** A replication study of PRSS1-PRSS2 as susceptibility locus for acute pancreatitis in Russian men / **Т.А. Самгина**, А.В. Полоников, О.Ю. Бушуева (и др.) // International Journal of Medical Biology. 2016. – Vol. 3. – P.18-19.

7. **Самгина Т.А.** The role of polymorphism 3404 A>G of the AOX1 gene in the development of acute biliary pancreatitis **Т.А. Самгина**, А.В. Полоников, П.М. Назаренко (и др.) // International Journal of Medical Biology. – 2016. – Vol. 3. – P.21.

8. **Самгина Т.А.** Роль полиморфизма гена *H139R* ферментов биотрансформации ксенобиотиков в развитии острого билиарного панкреатита / **Т.А. Самгина**, Ю.В. Канищев, А.В. Полоников (и др.) // Медико-биологические аспекты мультифакториальной патологии. Материалы 3-ей Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. – Курск: КГМУ, 2016. – С. 68-69.

9. **Самгина Т.А.** Роль полиморфизма -3404 A>G гена *AOX1* в развитии острого панкреатита / **Т.А. Самгина**, Ю.В. Канищев, П.М. Назаренко (и др.) // Медико-биологические аспекты мультифакториальной

патологии. Материалы 3-ей Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. – Курск: КГМУ, 2016. – С.91-92.

10. **Самгина Т.А.** Изучение роли полиморфизма +279 G>A гена белка-переносчика эфиров холестерина в развитии острого панкреатита / **Самгина Т.А.,** С. Субаскаран, О.Ю. Бушуева (и др.) // Медико-биологические аспекты мультифакториальной патологии. Материалы 3-ей Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. – Курск: КГМУ, 2016. – С. 99-100.

11. **Самгина Т.А.** Вклад полиморфизма rs708272 гена *CETP* G>A в развитие осложнений острого панкреатита / **Т.А. Самгина,** О.Ю. Бушуева, Ю.В. Канищев (и др.) // Университетская наука: взгляд в будущее. – 2020. – С. 457-460.

12. **Самгина Т.А.** Роль полиморфизма гена фосфатидилэтаноламин-N- метилтрансферазы в развитии острого панкреатита и его осложнений / **Т.А. Самгина,** Г.Н. Мяснянкина, П.М. Назаренко, А.В. Полоников // Генетика – фундаментальная основа инноваций в медицине и селекции: Материалы VIII научно-практической конференции с международным участием (Ростов-на-Дону, 26–29 сентября 2019 г.); Южный федеральный университет. – Ростов-на-Дону; Таганрог: Издательство Южного федерального университета, 2019. –С.49.

13. **Самгина Т.А.** Вклад полиморфизма rs1048943 гена *CYP1A1* -462 T>C в развитие острого панкреатита и его осложнений / **Т.А. Самгина,** П.М. Назаренко, А.В. Полоников, В.А. Лазаренко //Materials of the International Conference "Scientific research of the SCO countries: synergy and integration" Date: October 29, Beijing, China 2019. – С. 127.

14. **Самгина Т.А.** Миниинвазивный способ дренирования сальниковой сумки у больных панкреонекрозом / **Т.А. Самгина,** П.М. Назаренко, Д.П. Назаренко, Ю.В. Канищев // Материалы XIII Съезда хирургов России. – Москва, 2020, 7-10 сентября. – С.1303.

15. **Самгина Т.А.** Опыт применения препарата TAD600 у пациентов с острым алкогольно-алиментарным панкреатитом / **Т.А. Самгина,** П.М. Назаренко, Ю.Э.Азарова, О.Ю. Бушуева, М.А. Солодилова, А.В. Полоников, В.А. Лазаренко // Материалы XIII Съезда хирургов России. – Москва, 2020, 7-10 сентября. – С.1304.

Список сокращений

АОС – антиоксидантная система

БСДК – большой дуоденальный сосочек

ГНПП – гнойно-некротический парапанкреатит

ДПК – двенадцатиперстная кишка

ЗБК – забрюшинная клетчатка

МРТ – магниторезонансная томография

ОААП – острый алкогольно-алиментарный панкреатит

ОБП – острый билиарный панкреатит

ОП – острый панкреатит

ПЖ – поджелудочная железа

ППЖ – проток поджелудочной железы

ПЦР – полимеразная цепная реакция

СОЭ – скорость оседания эритроцитов

УЗИ – ультразвуковое исследование

ФГДС – фиброгастродуоденоскопия

ФБК – ферменты биотрансформации ксенобиотиков

ЭПСТ – эндоскопическая папиллосфинктеротомия