



С. І. Іващук, Л. П. Сидорчук

Буковинський державний медичний університет,
Чернівці

Ген-генна взаємодія за поліморфізму генів CFTR, PRSS1 та IL-4 з позиції прогнозу ризику появи набрякового панкреатиту

Мета — встановити роль комбінації поліморфних варіантів генів PRSS1 (rs 111033565), CFTR (rs 113993960) та IL-4 (rs 2243250) та їх міжгенної взаємодії у виникненні набрякового панкреатиту.

Матеріали та методи. Генетичні дослідження виконано 123 хворим на набряковий панкреатит. Молекулярно-генетичне дослідження передбачало визначення поліморфізму генів IL-4 (C-590T), PRSS1 (R122H) і CFTR (delF508) методом полімеразної ланцюгової реакції з використанням олігонуклеотидних праймерів фірми Metabion (Німеччина). Для вивчення міжгенної взаємодії досліджуваних генів і побудови моделі її впливу на появу набрякового панкреатиту у вибірці обстежених осіб використали метод мультифакторної просторової редукції (Multifactory Dimension Reduction) із розрахунком потенціалів предикції.

Результати. Відтворюваність однофакторної моделі за участю гена PRSS1 становила 100% (10/10), однак пермутаційний тест не підтвердив її значущості і довів недостатньо високу точність. Ризик появи набрякового панкреатиту доведено за допомогою дво- та трикомпонентної моделі (CFTR, IL-4 та CFTR, PRSS1, IL-4) із відтворюваністю 90 і 100% (відношення шансів (ВШ) 19,76; $p < 0,001$ і ВШ 5,77; $p = 0,045$ відповідно) і високою точністю передбачення ризику появи набрякового панкреатиту (93,3 і 83,62%). Такий ризик підтвердили для однокомпонентної моделі (із геном IL-4) для гострого і загострення хронічного панкреатиту (ВШ 9,09; $p = 0,009$ і ВШ 48,0; $p < 0,001$ відповідно), алкогольного та біліарного генезу (ВШ 56,0; $p < 0,001$ і ВШ 68,0; $p < 0,001$ відповідно). Дієвими виявилися моделі, які включали гени CFTR, PRSS1, IL-4 для прогнозу загострення хронічного панкреатиту (ВШ 4,12; $p = 0,048$), алкогольного та біліарного панкреатиту (ВШ 5,20; $p < 0,05$ і ВШ 18,33; $p < 0,001$ відповідно) із точністю моделей 88,93, 79,0 і 49,26%. Тестувальна крос-перевірна здатність (Cross-validation Testing T-statistic (CV-TT)) була значущо найвищою для прогнозу біліарного панкреатиту для трикомпонентної моделі (CFTR, PRSS1, IL-4) (CV-TT — 11,32; $p < 0,001$) і для прогнозу гострого панкреатиту за однокомпонентною моделлю щодо гена IL-4 (CV-TT — 9,24; $p = 0,009$).

Висновки. Класифікаційна здатність створених моделей ген-генної взаємодії за високої відтворюваності (90 та 100%) підтвердила значущість однофакторної моделі за участю TT-генотипу гена IL-4: за гострого панкреатиту, загострення хронічного, алкогольного і біліарного панкреатиту із точністю 70,68, 57,14, 70,71 і 50,71% та CV-TT — 9,24, 7,99, 7,21 і 8,51 відповідно. Міжлокусна взаємодія за всіх видів панкреатиту характеризується вираженим незалежним ген-генним зв'язком (від -21,65% до -12,55%) із найвищим рівнем ентропії, притаманним для гена IL-4 (26,41% — за гострого панкреатиту, 54,60% — за загострення хронічного, 59,35% — за алкогольного панкреатиту, 41,81% — за біліарного).

Ключові слова: панкреатит, ген-генна взаємодія, поліморфізм, CFTR, PRSS1, IL-4, прогноз.

Панкреатит — це мультифакторне захворювання, поширеність та частота захворюваності якого не зменшуються. Важливе значення для профілактики цього захворювання має вивчення етіологічних чинників, зокрема генетич-

ного, що може впливати на схильність до розвитку панкреатиту і тяжкість перебігу. У великій кількості досліджень виявлено підвищену частоту мутації таких кандидатних генів як *PRSS1* (rs 111033565), *SPINK1* (rs ID6690) [2, 4, 10, 12, 14], дещо менше досліджено ген *CFTR* (rs 113993960) [9, 11]. Поза увагою залишилися гени, які регу-

люють імунну відповідь за панкреатиту, не проведено дослідження поліморфізму генів *IL-4* (rs 2243250) і *TNF-α* (rs 1800629) [6, 7, 17]. У доступних дослідженнях відсутній комплексний підхід з урахуванням ген-генної взаємодії для проведення оцінки впливу генетичної складової на виникнення панкреатиту.

Мета роботи — встановити роль комбінації поліморфних варіантів генів *PRSS1* (rs 111033565), *CFTR* (rs 113993960) та *IL-4* (rs 2243250) та їх міжгенної взаємодії у виникненні набрякового панкреатиту.

Матеріали та методи

Дослідження проведено відповідно до Конвенції про захист прав і гідності людини щодо застосування біології та медицини. До проспективного дослідження залучено 198 хворих на гострий панкреатит (ГП) і загострення хронічного панкреатиту (ЗХП) (набрякова форма), госпіталізованих до лікарні швидкої медичної допомоги м. Чернівці впродовж останніх чотирьох років. Встановлення діагнозу, відбір пацієнтів, розподіл на групи за видом ГП (гострий панкреатит, загострення хронічного), етіологічним чинником (алкогольний, біліарний) здійснювали відповідно до наказів МОЗ України [1] і рекомендацій європейських товариств із діагностики та лікування гострих панкреатитів [15].

Етап скринінгу пройшли 123 хворих на ГП, які підписали інформовану згоду на участь у дослідженні. Всім пацієнтам проведено комплекс клінічних, лабораторних та діагностичних досліджень відповідно до наказу МОЗ України № 297 від 02.04.2010 р. [1]. Дизайн дослідження передбачав такі етапи: скринінг пацієнтів (відповідність критеріям включення/не включення), діагностика клінічних, лабораторних, інструментальних показників; генотипування; розподіл хворих на групи з урахуванням виду та етіології ГП; статистично-аналітичний.

Серед обстежених було 23 (18,7%) жінки і 100 (81,3%) чоловіків. Вік пацієнтів становив від 23 до 77 років (у середньому $(45,10 \pm 5,19)$ року для чоловіків, $(53,20 \pm 7,07)$ року для жінок). Групу контролю склали 40 практично здорових осіб відповідного віку та статі, в яких упродовж останніх 6 міс не було гострих чи загострення хронічних запальних процесів будь-якої локалізації.

Молекулярно-генетичне дослідження (визначення поліморфних варіантів генів *IL-4* (C590T), *PRSS1* (R122H) і *CFTR* (delF508)) виконали у лабораторії ДУ «Референс центр з молекулярної діагностики МОЗ України» (Київ) та Буко-

винському державному медичному університеті. Геномну ДНК для молекулярно-генетичного дослідження виділяли з лейкоцитів периферійної крові за допомогою комерційної тест-системи in-puPREP Blood DNA Mini Kit (Analytik Jena, Німеччина) з використанням центрифужних фільтрів. Поліморфні варіанти аналізованих генів вивчали методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) із використанням олігонуклеотидних праймерів виробництва Metabion (Німеччина) за модифікованими протоколами [3, 8, 16]. Для гена *CFTR* ($\Delta F508$) використовували праймери GGCACCATTAAGAAAATATCATCTT — forward (wild), GGCACCATTAAGAAAATATCATTGG — forward (mutation), CATTCACAGTAGCTTACCCA — reverse (common), для гена *PRSS1* (G365A) — GGTCCTGGGTCTCATACTT — forward, GTAATGGGCACTCGAAATGT — reverse, для гена *IL-4* (C-590T) — TAAACTGGGAGAACATGGT- forward, TGGGGAAA-GATAGAGTAATA — reverse. Продукти ампліфікації фрагментів ДНК генів розщеплювали в реакції гідролізу за допомогою ендонуклеаз рестрикції (Thermo Scientific, США): ензиму *PmlI* (*Eco72I*) для гена *PRSS1*, *AvaII* — для гена *IL-4*. Отримані фрагменти аналізували в агарозному гелі з додаванням бромистого етидію, маркера молекулярної ваги GeneRuler 50 bp (DNALadder, ThermoScientific, США), з наступною візуалізацією в транслюмінаторі за допомогою комп'ютерної програми Vitran.

Для вивчення міжгенної взаємодії досліджуваних генів і побудови моделі її впливу на появу певного виду набрякового панкреатиту у вибірці обстежених осіб використали метод мультифакторної просторової редукції (Multifactory Dimension Reduction (MDR)) — новий непараметричний метод статистики, який дає змогу оцінити головні, незалежні та спільні ефекти впливу поліморфізму генів з розрахунком потенціалів предикції [5, 13] (програмне забезпечення MDRver. 3.0.2). Статистичну обробку виконували за допомогою прикладної програми MYSTAT 12 (Systat Software Inc., США).

Результати та обговорення

Розподіл генотипів аналізованих генів у когорті обстежених відповідав закону популяційної рівноваги Hardy—Weinberg. Найкращі моделі ген-генної взаємодії, зокрема з урахуванням виду та етіології ГП, найбільшою взаємно-валідаційною узгодженістю (cross-validation consistency) та потенціалом предикції наведено в таблиці.

Відтворюваність однофакторної моделі за участю гена *PRSS1* становила 100% (10/10), од-

нак пермутаційний тест не підтвердив її значущості і довів недостатньо високу точність. Ризик появи набрякового панкреатиту у вибірці обстежених осіб доведено за допомогою дво- і трьохкомпонентної моделей (*CFTR*, *IL-4* та *CFTR*, *PRSS1*, *IL-4*) із відтворюваністю 90 і 100 % (відношення шансів (ВШ) — 19,76; $p < 0,001$ і ВШ 5,77; $p = 0,045$ відповідно) і високою точністю передбачення ризику появи набрякового панкреатиту (93,3 і 83,62 %). Такий ризик підтвердили для однокомпонентної моделі (із геном *IL-4*) для гострого і загострення хронічного панкреатиту (ВШ 9,09; $p = 0,009$ і ВШ 48,0; $p < 0,001$ відповідно), алкогольного та біліарного генезу (ВШ 56,0; $p < 0,001$ і ВШ 68,0; $p < 0,001$ відповідно), хоча точність моделі для ЗХП і біліарного набрякового панкреатиту, незважаючи на відтворюваність 100 і 90 %, була нижчою, ніж очікувалося — 57,14 і 50,71 % відповідно. Дієвими виявилися моделі, які включали гени *CFTR*, *PRSS1*, *IL-4* для прогнозу ЗХП (ВШ 4,12; $p = 0,048$), алкогольного та біліарного набрякового панкреатиту (ВШ 5,20; $p < 0,05$ і ВШ 18,33; $p < 0,001$ відповідно) із точністю моделей 88,93 %, 79,0 % і 49,26 %.

Показник взаємної валідації (cross-validation testing T-statistic (CV-TT)) був значущо найви-

щим для прогнозу біліарного набрякового панкреатиту для трьохкомпонентної моделі (*CFTR*, *PRSS1*, *IL-4*) (CV-TT — 11,32; $p < 0,001$) та для прогнозу ГП за однокомпонентною моделлю, яка включала ген *IL-4* (CV-TT — 9,24; $p = 0,009$). Точність передбачення ризику біліарного панкреатиту була невисокою — 49,26 %, хоча і вірогідною за пермутаційним тестом зі 100 % відтворюваністю.

Для оцінки комплексного впливу вивчених локусів на появу набрякового панкреатиту, а також для прогнозування його ризику у вибірці обстежених осіб побудовано графічну модель ген-генної взаємодії за допомогою методу MDR. На рис. 1–3 представлено вплив генотипів одного гена та комбінації генотипів аналізованих генів, де GG-генотип (немає мутації) гена *PRSS1* позначено як «0», GA-генотип — як «1», CC-генотип гена *IL-4* — як «0», TC-генотип — як «1», TT-генотип — як «2», NN-генотип гена *CFTR* — як «0», NM-генотип — як «1». Графічна класифікаційна модель на рис. 3А мала прогностичну точність 93,30 % у тестованій вибірці (testing balanced accuracy) з взаємно-валідаційною узгодженістю 11,39 (cross-validation consistency) і 90 % відтворюваністю (9/10). Встановлено, що поєднання гомозиготи за мінорним алелем гена

Таблиця. Моделі ген-генної взаємодії для когорти обстежених і з урахуванням виду та етіології гострого панкреатиту

Група	Комбінації генів у прогностичній моделі	Відтворюваність моделі	Взаємна валідація	Точність моделі, %	ВШ	p
Загальна вибірка (n = 123)	PRSS1	10/10	17,42	41,79	2,46	> 0,05
	CFTR, IL-4	9/10	11,39	93,30	19,76	< 0,001
	CFTR, PRSS1, IL-4	10/10	12,79	83,62	5,77	0,045
Гострий панкреатит (n = 73)	IL-4	9/10	9,24	70,68	9,09	0,009
	PRSS1, IL-4	9/10	9,24	69,35	2,50	> 0,05
	CFTR, PRSS1, IL-4	10/10	10,72	59,17	2,05	> 0,05
Загострення хронічного панкреатиту (n = 50)	IL-4	10/10	7,99	57,14	48,0	< 0,001
	CFTR, IL-4	10/10	7,99	57,14	3,00	> 0,05
	CFTR, PRSS1, IL-4	10/10	7,99	88,93	4,12	0,048
Алкогольний панкреатит (n = 75)	IL-4	10/10	7,21	70,71	56,0	< 0,001
	PRSS1, IL-4	9/10	7,21	70,71	0,58	> 0,05
	CFTR, PRSS1, IL-4	10/10	8,44	79,0	5,20	< 0,05
Біліарний панкреатит (n = 48)	IL-4	9/10	8,51	50,71	68,0	< 0,001
	CFTR, IL-4	9/10	8,51	50,71	0,58	> 0,05
	CFTR, PRSS1, IL-4	10/10	11,32	49,26	18,33	< 0,001

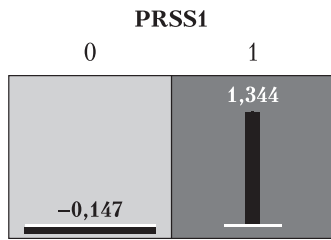


Рис. 1. Поліморфні варіанти гена PRSS1 (365G>A), які зумовлюють високий (темно-сіра клітинка) і низький (світло-сіра клітинка) ризик появи панкреатиту у загальній вибірці обстежених осіб

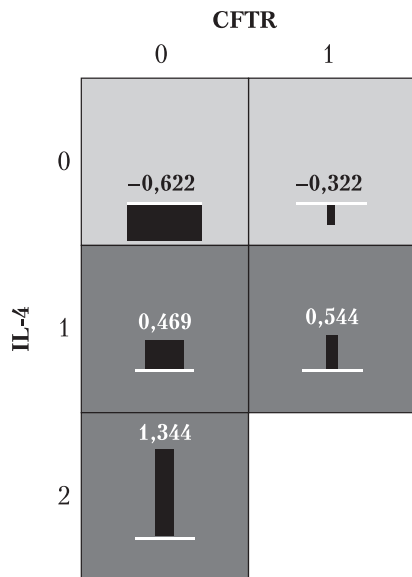


Рис. 2. Комбінація поліморфних варіантів генів IL-4 (C-590T) та CFTR (delF508), які зумовлюють високий (темно-сіра клітинка) і низький (світло-сіра клітинка) ризик появи панкреатиту у загальній вибірці обстежених осіб

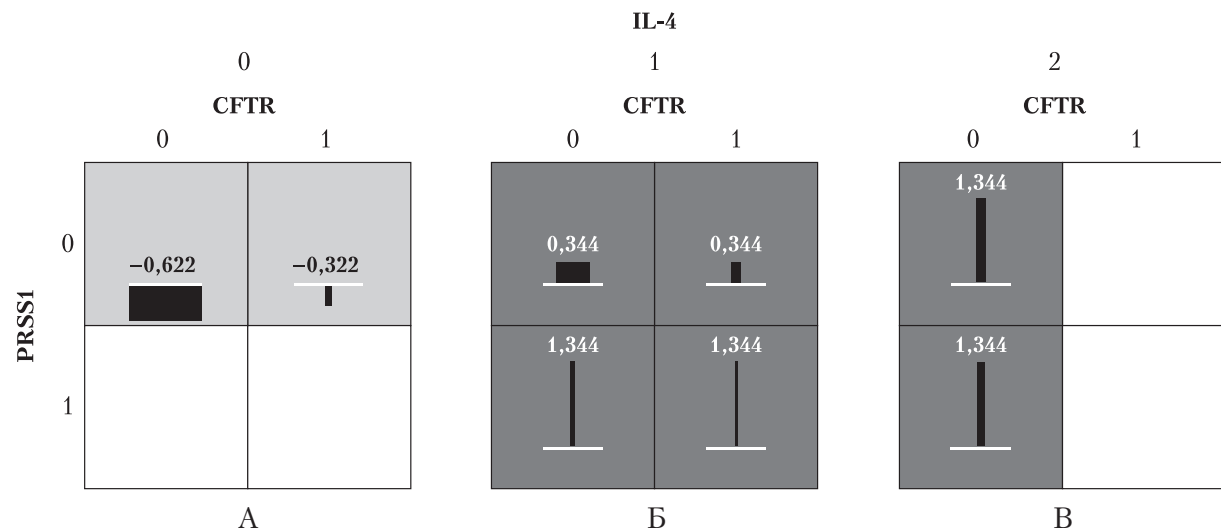


Рис. 3. Комбінація поліморфних варіантів генів PRSS1 (365G>A), IL-4 (C-590T) та CFTR (delF508), які зумовлюють високий (темно-сіра клітинка) і низький (світло-сіра клітинка) ризик панкреатиту у загальній вибірці обстежених осіб

IL-4 та генотипу NN гена CFTR (темно-сірі клітинки (див. рис. 2), а також генотипу GA гена PRSS1 із генотипом NN гена CFTR і TC-генотипом чи генотипом TT гена IL-4 (див. рис. 3) асоціюється з високим ризиком появи панкреатиту у вибірці обстежених осіб (1,344), натомість поєднання гомозигот за диким алелем генів IL-4 і CFTR (див. рис. 2), PRSS1, CFTR та IL-4 (див. рис. 3А) — із низьким ризиком набрякового панкреатиту (від $-0,622$ до $-0,322$).

Циркулярний графік кластерного аналізу результатів моделювання ген-генної взаємодії методом MDR наведено на рис. 4. Характер міжлокусної взаємодії між генами — на рівні «незалежні ефекти» впливу (IL-4 — CFTR: $-1,21\%$, CFTR — PRSS1: $-1,62$, IL-4 — PRSS1: $-4,59\%$). Частка ентропії досліджуваного поліморфізму кожного гена щодо статусу «випадок — контроль» становила $1,21\%$ для гена CFTR, $4,59\%$ — для гена PRSS1 і $28,96\%$ — для гена IL-4, засвідчуючи високу значущість останнього гена та його вагомий вплив на появу набрякового панкреатиту у вибірці обстежених осіб.

Класифікаційну здатність створених одно-, дво- і трикомпонентної моделей для хворих на ГП підтверджено лише для однофакторної моделі для гена IL-4 (ВШ $9,09$; $p = 0,009$) із точністю $70,68\%$, CV-TT — $9,24$. Встановлено, що збіг гомозиготи за мінорним алелем C-590T поліморфізму гена IL-4 та генотипу GA гена PRSS1, зокрема незалежно від алельного стану гена CFTR, асоціюється із високим ризиком ГП ($1,457$), однак коригувальний пермутаційний тест довів статистичну неспроможність цих моделей. За ГП частка ентропії досліджуваного поліморфізму

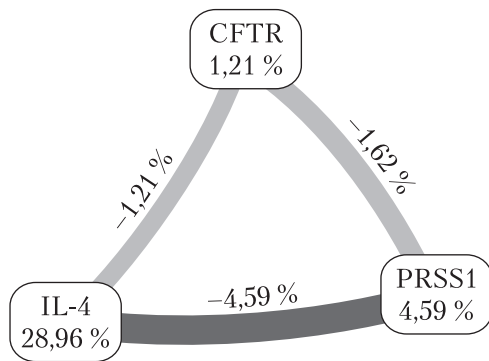


Рис. 4. Кластерний аналіз моделювання ген-генної взаємодії генів *PRSS1*, *CFTR* та *IL-4* у загальній вибірці хворих на набряковий панкреатит (кругова дендродіаграма за Fruchterman – Rheingold)

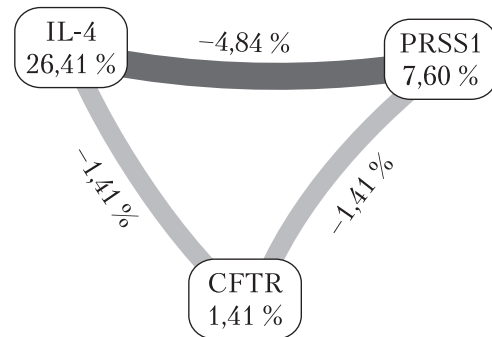


Рис. 5. Кластерний аналіз моделювання ген-генної взаємодії генів *PRSS1*, *CFTR* та *IL-4* у загальній вибірці хворих на гострий панкреатит (кругова дендродіаграма за Fruchterman – Rheingold)

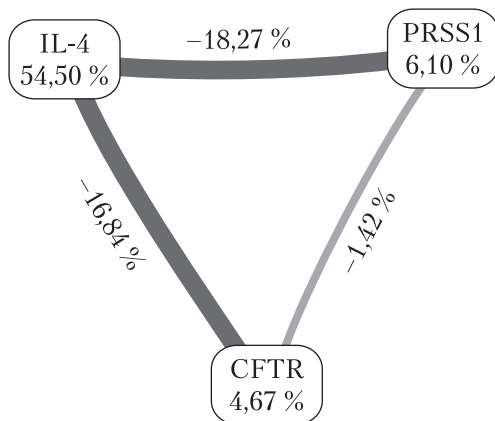


Рис. 6. Кластерний аналіз моделювання ген-генної взаємодії генів *PRSS1*, *CFTR* та *IL-4* у загальній вибірці хворих на загострення хронічного панкреатиту (кругова дендродіаграма за Fruchterman – Rheingold)

му кожного гена за результатами кластерного аналізу моделювання ген-генної взаємодії була високою і становила для гена *IL-4* – 26,41%, для гена *PRSS1* – 7,60%, для гена *CFTR* – 1,41% (рис. 5), за наявності незалежного, але статистично значущого впливу на появу ГП у вибірці обстежених осіб (від –4,84% до –1,41%). Характер міжлокусної взаємодії засвідчив високий внесок гена *IL-4* у розвиток ГП та значно нижчу (у 18,73 разу) ентропію для гена *CFTR*.

За ЗХП значущими виявилися однокомпонентна модель за участі гена *IL-4* та трикомпонентна модель за взаємодії генів *PRSS1*, *CFTR* та *IL-4* із достатньо високою CV-ТТ (7,99). Ризик ЗХП зростав за наявності гомозиготного носійства Т-алеля гена *IL-4* незалежно від генотипів генів *PRSS1* та *CFTR* (1,269) у гаплотипі. Частка ентропії досліджуваного поліморфізму трьох ге-

нів за результатами кластерного аналізу моделювання ген-генної взаємодії у хворих на ЗХП становила: для гена *IL-4* – 54,60% (найвища), для гена *PRSS1* – 6,10%, для гена *CFTR* – 4,67% (рис. 6), за наявності незалежного, але статистично значущого впливу на появу ЗХП у вибірці обстежених осіб (–18,27%).

За алкогольного панкреатиту трикомпонентна модель ген-генної взаємодії показала високу точність – 79,0% та CV-ТТ – 8,44 (ВШ 5,50; $p < 0,05$). Трикомпонентна модель за біліарного панкреатиту також виявилась значущою, хоча і з помірною точністю (49,26%), але з високою CV-ТТ – 11,32 (ВШ 18,33; $p < 0,001$). Ризик алкогольного набрякового панкреатиту зростав за наявності в гаплотипі генотипу ТТ гена *IL-4* незалежно від генотипів генів *PRSS1* та *CFTR* (1,286), а ризик біліарного набрякового панкреатиту – за наявності в гаплотипі Т-алеля гена *IL-4* незалежно від алельного стану решти аналізованих генів (1,303).

За результатами кластерного аналізу моделювання ген-генної взаємодії частка ентропії досліджуваного поліморфізму кожного гена за алкогольного панкреатиту була високою і становила: для гена *IL-4* – 59,35%, для гена *CFTR* – 4,53%, для гена *PRSS1* – 2,33 (рис. 7), за наявності незалежного, але статистично значущого впливу на появу алкогольного панкреатиту у вибірці обстежених осіб (від –16,85% до –2,33%). Міжлокусна взаємодія за біліарного панкреатиту (рис. 8) характеризувалася вираженим незалежним ген-генним зв'язком (від –21,65% до –12,55%) із високим рівнем ентропії для гена *IL-4* (41,81%), що вказує на високий його внесок у розвиток як біліарного, так і особливо алкогольного панкреатиту. Значно нижчою в цьому випадку була ентропія гена *CFTR* (1,81%).

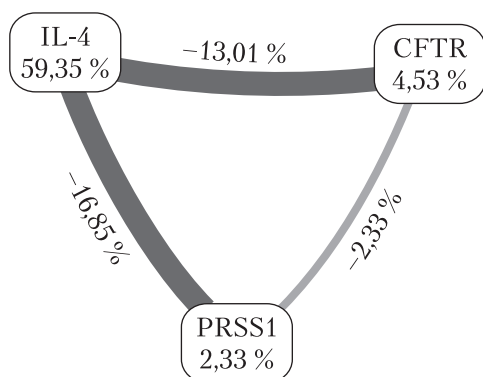


Рис. 7. Кластерний аналіз моделювання ген-генної взаємодії генів PRSS1, CFTR та IL-4 у хворих на алкогольний набряковий панкреатит (кругова дендрограма за Fruchterman – Rheingold)

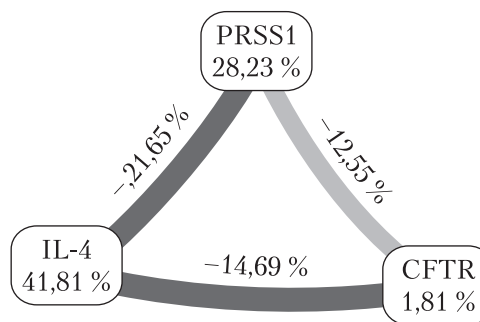


Рис. 8. Кластерний аналіз моделювання ген-генної взаємодії генів PRSS1, CFTR та IL-4 у хворих на біліарний набряковий панкреатит (кругова дендрограма за Fruchterman – Rheingold)

Висновки

Методом мультифакторної просторової редукції створено графічні моделі ген-генної взаємодії з найбільшою взаємно-валідаційною узгодженістю. Встановлено комплексний «незалежний» вплив поліморфних локусів генів PRSS1, IL-4 та CFTR на появу панкреатиту та його підвидів у вибірці обстежених осіб. Класифікаційна здатність створених моделей, незважаючи на високу відтворюваність (90 та 100 %), підтвердила значущість однофакторної моделі за участю генотипу TT гена IL-4: за гострого панкреатиту (ВШ 9,09; $p = 0,009$), за загострення хронічного панкреатиту (ВШ 48,0; $p < 0,001$), за алкогольного (ВШ 56,0; $p < 0,001$) і біліарного (ВШ 68,0; $p < 0,001$) панкреатиту із точністю 70,68, 57,14, 70,71 та 50,71 % і тестувальною крос-перевірною здатністю 9,24, 7,99, 7,21 та 8,51 відповідно. Класифікаційно спроможною виявилася також трикомпо-

нентна модель за участю трьох генів щодо ризику загострення хронічного панкреатиту (ВШ 4,12; $p = 0,048$), алкогольного (ВШ 5,20; $p < 0,05$) і біліарного (ВШ 18,33; $p < 0,001$) панкреатиту.

Міжлокусна взаємодія за всіх видів панкреатиту характеризувалася вираженим незалежним ген-генним зв'язком (від -21,65 % до -12,55 %) із найвищим рівнем ентропії, притаманним для гена IL-4 (26,41 % — за гострого панкреатиту, 54,60 % — за загострення хронічного панкреатиту, 59,35 % — за алкогольного панкреатиту, 41,81 % — за біліарного), що вказує на високий його внесок у розвиток як набрякового панкреатиту загалом (28,96 %), так і його підвидів зокрема.

Перспективи подальших досліджень полягають в оцінці супутньої патології як чинника ризику розвитку набрякового панкреатиту з позиції поліморфізму досліджуваних генів.

Конфлікту інтересів немає.

Участь авторів: концепція і дизайн дослідження, статистичне опрацювання даних — С. І., Л. С.; збір та обробка матеріалу, написання тексту — С. І.; редагування — Л. С.

Список літератури

1. Наказ МОЗ України від 02.04.2010 р. № 297 «Про затвердження стандартів та клінічних протоколів надання медичної допомоги зі спеціальності «Хірургія» / МОЗ. — К.: МОЗ, 2010. — Режим доступу: http://www.moz.gov.ua/ua/portal/dn_20100402_297.html.
2. Derikx M.H., Kovacs P., Scholz M. et al. Polymorphisms at PRSS1-PRSS2 and CLDN2-MORC4 loci associate with alcoholic and non-alcoholic chronic pancreatitis in a European replication study // Gut. — 2015. — Vol. 64. — P. 1426–1433.
3. Drenth J.P., te Morsche R., Jansen J.B. Mutations in serine protease inhibitor Kazal type 1 are strongly associated with chronic pancreatitis // Gut. — 2002. — Vol. 50 (5). — P. 687–692.
4. Gasiorowska A., Talar-Wojnarowska R., Czupryniak L. et al. The prevalence of cationic trypsinogen (PRSS1) and serine protease inhibitor, Kazal type 1 (SPINK1) gene mutations in Polish patients with alcoholic and idiopathic chronic pancreatitis // Dig. Dis. Sci. — 2011. — Vol. 56 (3). — P. 894–901.
5. He H., Oetting W.S., Brott M.J. et al. Power of multifactor dimensionality reduction and penalized logistic regression for detecting gene-gene interaction in a case-control study // BMC Medical Genetics. — 2009. — Vol. 10. — P. 127.
6. Ivashchuk S., Sydoruk L. Level of reactive response of peripheral blood neutrophil granulocytes of patients with acute pancreatitis depending on genes polymorphism of CFTR (delF508C), PRSS1 (R122H), IL-4 (C-590T) and TNF- α (G-308A) // Pharma Innovation. — 2016. — Vol. 5 (8). — P. 96–100.

7. Ivashchuk S.I., Sydorhuk L.P. Association of the genes IL-4 (C-590T), TNF- α (G-308A), PRSS1 (R122H) and CFTR (delF508C) with cytotoxicity syndrome activity in patients with acute edematous pancreatitis // Arch. Balk. Med. Union. — 2016. — Vol. 51 (1). — P. 41—45.
8. Ivashchuk S.I., Sydorhuk L.P. Cholestatic syndrome activity in patients with acute edematous pancreatitis and genes IL-4 (C-590T), TNF-A (G-308A), PRSS1 (R122H) and CFTR (DEL508C) polymorphism [Published in Ukrainian] // J. Clin. Exp. Med. Res. — 2016. — Vol. 4 (1). — P. 56—64.
9. LaRusch J., Stello K., Yadav D. et al. CFTR, PRSS1, SPINK1 and CTRC mutations in the final NAPS2 cohort // Pancreatol. — 2015. — Vol. 15 (1). — S79.
10. Liu J., Zhang Hx. A Comprehensive study indicates PRSS1 gene is significantly associated with pancreatitis // Int. J. Med. Sci. — 2013. — Vol. 10 (8). — P. 981—987.
11. Masson E., Chen J.-M., Audr ezet M.-P. et al. A Conservative Assessment of the Major Genetic Causes of Idiopathic Chronic Pancreatitis: Data from a Comprehensive Analysis of PRSS1, SPINK1, CTRC and CFTR Genes in 253 Young French Patients // PLOS ONE. — 2013. — Vol. 8 (8). Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0073522>.
12. Moran R.A., Klapheke R., Jalaly N.Y. et al. Metastatic pancreatic adenocarcinoma associated with chronic calcific pancreatitis and a heterozygous SPINK1N34S mutation // Pancreatol. — 2016. — Vol. 16 (5). — P. 869—872.
13. Motsinger A.A., Ritchie M.D. Multifactor dimensionality reduction: an analysis strategy for modelling and detecting gene-gene interactions in human genetics and pharmacogenomics studies // Hum. Genomics. — 2006. — Vol. 2 (5). — P. 318—328.
14. Németh B.C., Sahin-Tóth M. Human cationic trypsinogen (PRSS1) variants and chronic pancreatitis // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver. Physiol. — 2014. — Vol. 306. — P. G466—G473.
15. Pezzilli R., Andriulli A., Bassi C. et al. Exocrine pancreatic insufficiency in adults: a shared position statement of the Italian association for the study of the pancreas // World J. Gastroenterol. — 2013. — Vol. 19 (44). — P. 7930—7946.
16. Rad I.A., Bagheri M., Rahimi-Rad M.H. et al. IFN- γ +874 and IL-4 — 590 polymorphisms and asthma susceptibility in North West of Iran // Tanaffos. — 2010. — Vol. 9 (4). — P. 22—27.
17. Sydorhuk L., Iftoda O., Sydorhuk A. et al. Cytokines' cascade changes in children with hearing loss depending on gap junction protein beta 2 (C.35delG) and interleukin 4 (C-590T) genes polymorphism // Pharma Innovation. — 2016. — Vol. 5 (2). — P. 22—27.

С. И. Иващук, Л. П. Сидорчук

Буковинский государственный медицинский университет, Черновцы

Ген-генное взаимодействие при полиморфизме генов CFTR, PRSS1 и IL-4 с позиции прогноза риска возникновения отечного панкреатита

Цель — установить роль комбинации полиморфных вариантов генов PRSS1 (rs 111033565), CFTR (rs 113993960) и IL-4 (rs 2243250) и их междугенного взаимодействия в возникновении отечного панкреатита.

Материалы и методы. Генетические исследования выполнены 123 больным с отечным панкреатитом. Молекулярно-генетическое исследование предусматривало определение полиморфизма генов IL-4 (C-590T), PRSS1 (R122H) и CFTR (delF508) методом полимеразной цепной реакции с использованием олигонуклеотидных праймеров фирмы Metabion (Германия). Для изучения междугенного взаимодействия исследуемых генов и построения модели его влияния на появление отечного панкреатита в выборке обследованных лиц использовали метод мультифакторной пространственной редукции (Multifactor Dimension Reduction) с вычислением потенциалов предикции.

Результаты. Воспроизводимость однофакторной модели при участии гена PRSS1 составила 100 % (10/10), однако пермутационный тест не подтвердил ее значимости и доказал недостаточно высокую точность. Риск возникновения отечного панкреатита доказан при помощи двух- и трехкомпонентной моделей (CFTR, IL-4 и CFTR, PRSS1, IL-4) с воспроизводимостью 90 и 100 % (отношение шансов (ОШ) — 19,76; $p < 0,001$ и ОШ 5,77; $p = 0,045$ соответственно) и высокой точностью предсказания риска возникновения отечного панкреатита (93,3 и 83,62 %). Такой риск подтвердили для однокомпонентной модели (с геном IL-4) для острого и обострения хронического панкреатита (ОШ 9,09; $p = 0,009$ и ОШ 48,0; $p < 0,001$ соответственно), алкогольного и билиарного генеза (ОШ 56,0; $p < 0,001$ и ОШ 68,0; $p < 0,001$ соответственно). Действенными оказались модели, которые включали гены CFTR, PRSS1, IL-4 для прогноза обострения хронического панкреатита (ОШ 4,12; $p = 0,048$), алкогольного и билиарного панкреатита (ОШ 5,20; $p < 0,05$ и ОШ 18,33; $p < 0,001$ соответственно) с точностью моделей 88,93, 79,0 и 49,26 %. Тестирующая крос-проверочная способность (Cross-validation Testing T-statistic (CV-TT)) была значимо наивысшей для прогноза билиарного панкреатита для трехкомпонентной модели (CFTR, PRSS1, IL-4) (CV-TT — 11,32; $p < 0,001$) и для прогноза острого панкреатита по однокомпонентной модели относительно гена IL-4 (CV-TT — 9,24; $p = 0,009$).

Выводы. Классификационная способность созданных моделей ген-генного взаимодействия при высокой воспроизводимости (90 и 100 %) подтвердила достоверность однофакторной модели при участии TT-генотипа гена IL-4: при остром панкреатите, обострении хронического, алкогольного и билиарного панкреатита с точностью 70,68, 57,14, 70,71 и 50,71 % и CV-TT — 9,24, 7,99, 7,21 и 8,51, соответственно.

Междулокусное взаимодействие при всех видах панкреатита характеризуется выраженной независимой ген-генной связью (от -21,65 % до -12,55 %) с наивысшим уровнем энтропии, свойственным для гена IL-4 (26,41 % — при остром панкреатите, 54,60 % — при обострении хронического, 59,35 % — при алкогольном панкреатите, 41,81 % — при билиарном).

Ключевые слова: панкреатит, ген-генное взаимодействие, полиморфизм, CFTR, PRSS1, IL-4, прогноз.

S. I. Ivashchuk, L. P. Sydorчук
Bukovinian State Medical University, Chernivtsi

Gene-gene interaction of genes CFTR, PRSS1 and IL-4 polymorphism from the point of view of risk prediction for the edematous pancreatitis development

Objective — to establish the role of polymorphic variants combination of genes PRSS1 (rs 111033565), CFTR (rs 113993960) and IL-4 (rs 2243250) and their gene-gene interaction in the development of edematous pancreatitis.

Materials and methods. Genetic studies were performed for 123 patients with edematous pancreatitis. Molecular genetic studies included the determination of genes IL-4 (C-590T), PRSS1 (R122H) and CFTR (delF508) polymorphism by polymerase chain reaction using oligonucleotide primers of *Metabion* (Germany) company. The method of Multifactor Dimension Reduction with calculation of prediction potentials was used for investigation of gene-gene interactions of studied genes and constructing a model of its impact on the appearance of edematous pancreatitis in the sample of investigated persons.

Results. the reproducibility of single-factor model involving gene PRSS1 was 100 % (10/10), but permutation test did not confirm its probability and proved sufficient accuracy. The risk of edematous pancreatitis development was demonstrated by two- and three-component models (CFTR, IL-4 and CFTR, PRSS1, IL-4) with 90 % and 100 % reproducibility (the odds ratio (OR 19.76; $p < 0.001$ and OR 5.77; $p = 0.045$, respectively) and the high accuracy prediction of edematous pancreatitis risk (93.3 % and 83.62 %). This risk was confirmed for single-component model (with gene IL-4) for acute pancreatitis and the exacerbation of chronic pancreatitis (OR 9.09; $p = 0.009$ and OR 48.0; $p < 0.001$, respectively), and for the pancreatitis of alcoholic and biliary origin (OR 56.0; $p < 0.001$ and OR 68.0; $p < 0.001$, respectively). The models that included genes CFTR, PRSS1, IL-4 for the prediction of chronic pancreatitis exacerbation (OR 4.12; $p = 0.048$), alcoholic and biliary pancreatitis (OR 5.20; $p < 0.05$ and OR 18.33, $p < 0.001$, respectively) were the most effective ones, with the accuracy of 88.93 %, 79.0 % and 49.26 % respectively. Cross-validation Testing T-statistic (CV-TT) was highly significant for the forecast of biliary pancreatitis for three-component model (CFTR, PRSS1, IL-4) (CV-TT = 11.32; $p < 0.001$) and for the acute pancreatitis according to single-component model for gene IL-4 (CV-TT = 9.24; $p = 0.009$).

Conclusions. The classification ability of the created models of gene-gene interactions confirmed with high reproducibility (90 % or 100 %) the significance of single-factor model, involving TT-genotype of IL-4 gene: for acute pancreatitis, the exacerbation of chronic disease, and for alcoholic and biliary pancreatitis with accuracy 70.68 %, 57.14 %, 70.71 % and 50.71 %, respectively. The inter-locus interactions for all types of pancreatitis was characterized by independent pronounced gene-gene link (from -21.65 % till -12.55 %) with the highest entropy level inherent for gene IL-4 (26.41 % — for acute pancreatitis, 54.60 % — for the exacerbation of chronic, 59.35 % — for alcoholic pancreatitis, 41.81 % — for biliary).

Key words: pancreatitis, gene-gene interaction, polymorphism, CFTR, PRSS1, IL-4, prognosis.

Контактна інформація

Івашук Сергій Іванович, к. мед. н., доцент, доцент кафедри сімейної медицини
58029, м. Чернівці, вул. Героїв Майдану, 174/3
Тел. (372)-54-73-13. E-mail: ivserge@i.ua

Стаття надійшла до редакції 28 грудня 2016 р.