

UDC: 616.37-002.1-092-07-085

V.V. Maksymyuk, I.Yu. Polyansky, V.V. Tarabanchuk, L.M. Haruk

Some Genetic Aspects of Acute Pancreatitis

Department of Surgery

Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine, E-mail: maxsurg@mail.ru

Abstract. Clinical course of acute pancreatitis depends on the character of aggressive influence of activated aggressive enzymes on the pancreas and the surrounding tissues. An important role is played by genetically determined defence mechanisms aimed at preventing an intrapancreatic activation of enzymes.

The objective of the research was to study the SPINK1 N34S polymorphism in patients with different forms of acute pancreatitis living in Chernivtsi region (Ukraine).

Materials and methods. The study included 37 persons with different forms of acute pancreatitis. The patients were divided into 2 groups: Group I consisted of 17 patients with acute edematous pancreatitis; Group II included 20 patients with pancreatonecrosis. All the patients underwent complex instrumental and laboratory examination in accordance with the protocol of providing medical care to patients with acute pancreatitis. In addition, a genetic analysis was performed in order to study the SPINK1 N34S polymorphism.

Results. The carriage of the favourable N-allele (45.9% and 51.4%) was more often observed among patients with different forms of acute pancreatitis and lower number of pathological SS-homozygotes (2.7%). The incidence of the biliary form of acute pancreatitis was not associated with a certain genotype of the SPINK1 N34S polymorphism. The non-biliary form of acute pancreatitis was insignificantly more common in carriers of the mutant S-allele: 29.7% (11) versus 18.9% (7) persons.

Conclusions. The carriage of the unfavourable SS-genotype is a probable predisposing factor of disease initiation as well as potentiation of its further progression.

Keywords: acute pancreatitis; SPINK1 gene; polymorphism

Problem statement and analysis of the recent research

Clinical course of acute pancreatitis, the onset of which is caused by the same factor in different patients, may be of a completely opposite nature - from edematous form to pancreatonecrosis [8]. An important role is played by genetically determined defence mechanisms aimed at preventing an intrapancreatic activation of enzymes [1-7]. One of such fundamental mechanisms is the neutralizing action of pancreatic secretory trypsin inhibitor (serine protease inhibitor Kazal-type 1 - SPINK1). The gene, which is responsible for the synthesis of SPINK1 is located on the fifth chromosome. The N34S mutation is known to be the most common mutation of the third exon of this gene [1, 3, 4, 6, 7]. The presence of this genetic defect may lead to an excessive uncontrolled intraacinar activation of this enzyme.

The objective of the research was to study the SPINK1 N34S polymorphism in patients with different forms of acute pancreatitis living in Chernivtsi region (Ukraine).

Materials and methods

The research involved 37 persons with different forms of acute pancreatitis. Among them there were 25 (67.6%) men and 12 (34.2%) women. Group I consisted of 17 patients with acute edematous pancreatitis; Group II included 20 patients with pancreatonecrosis.

The alleles of polymorphic sites of the third exon of the SPINK1 gene were studied by isolating genomic DNA from the peripheral blood leukocytes, stabilized EDTA as an anticoagulant (Merk®, Germany). The amplification of the polymorphic site was performed by means of the polymerase chain reaction (PCR) with an individual temperature program for specific primers: sense 5'-CAATCACAGTTATTCCCCAGAG-3', antisense 5'-GTTTGCTTTTCTCGGGGTGAG-3'.

Results

Electropherograms of amplification products are presented in Fig. 1. The length of the amplification of the SPINK1 N34S polymorphism was 320 pairs of nucleotides (pn). In the presence of the 3rd exon of the nucleotide sequence of the aforementioned gene of adenine in the 34th codon the amplification split by the

restriction enzyme PstI into fragments, measuring 320 and 286 pn. In case of A-G transversion the restriction site for PstI was lost.

The presence of the favourable wild-type N - allele (wild-type, Wt) - 73.0% (27) was detected in the majority of patients. The pathological mutant S-variant was identified in 27.0% (10) of patients. There were 45.9% (17) of cases of homozygous carriers of the wild-type NN-genotype (N34) and 51.4% (19) of cases of heterozygotes carriers of the NS-genotype (N34S). One (2.7%) patient was a homozygous carrier of the mutant S-allele (SS-genotype, 34S) (Fig. 1). The distribution of the genotypes according to the polymorphic N34S variant of the SPINK1 gene among patients corresponded to expected Hardy-Weinberg equilibrium ($p > 0.05$).

When distributing all patients according to the etiological agent it was found out that the frequency of the NN- and NS-genotypes in patients with biliary pancreatitis was 52.6% (10) and 47.7% (9), respectively and did not differ statistically from that in patients with pancreatitis of non-biliary genesis - 33.3% (6) and 61.1% (11), respectively ($\chi^2 = 0.003$, $p = 0.95$ and $\chi^2 = 0.68$, $p = 0.4$, respectively).

While analyzing the group of patients with acute edematous biliary pancreatitis, it was revealed that homozygous carriers of the favourable wild-type N-allele and heterozygotes were detected with the same frequency - 50% (5) and 50% (5), respectively. However, a tendency towards the domination of the NS-genotype was observed in patients with edematous pancreatitis of non-biliary genesis compared to the NN-genotype the detection frequency of which was 85.7% (6) and 14.3% (1), respectively. However, such differences were not statistically significant ($\chi^2 = 2.00$, $p = 0.16$). No homozygous carriers of the mutant S-allele were detected among patients with acute edematous pancreatitis.

In patients with acute destructive pancreatitis of biliary and non-biliary genesis the frequency of detecting the NN-(N34) and NS-(N34S) genotypes did not differ significantly: 55.5% (5) and 44.5% (4) versus 45.5% (5) and 45.5% (5), respectively ($\chi^2 = 0.001$, $p = 0.97$ and $\chi^2 = 0.114$, $p = 0.74$, respectively).

The homozygous mutation of the SS-genotype was detected in 1 person of the aforementioned group. It should be noted that the initiation of the disease was associated with the non-biliary factor in a female patient with the SS-genotype. The course of the disease was characterized by particular "aggressiveness" with the development of acute suppurative subtotal pancreonecrosis complicated by the formation of abscesses of the omental bursa and the right subdiaphragmatic space, retroperitoneal phlegmon, external pancreatic and duodenal fistulae, left-sided exudative pleurisy and toxico-bacterial shock. The hospital stay lasted 118 bed days; 10 surgical interferences were performed. The development of the painful form of chronic pancreatitis with a tendency to frequent recurrences was observed in the aforementioned patient in the process of follow-up. Taking into account the analysis of the patient's case history (the SS-genotype, as well as the non-biliary and nonalcoholic etiology of the disease), it is appropriate to consider, that one of the principal causes of such a severe clinical course of acute pancreatitis in a specific case was its hereditary character.

Conclusions

1. The carriage of the favourable N-allele (45.9% and 51.4%) was more often observed among patients with different forms of acute pancreatitis and lower number of pathological SS-homozygotes (2.7%).
2. The frequency of the biliary form of acute pancreatitis

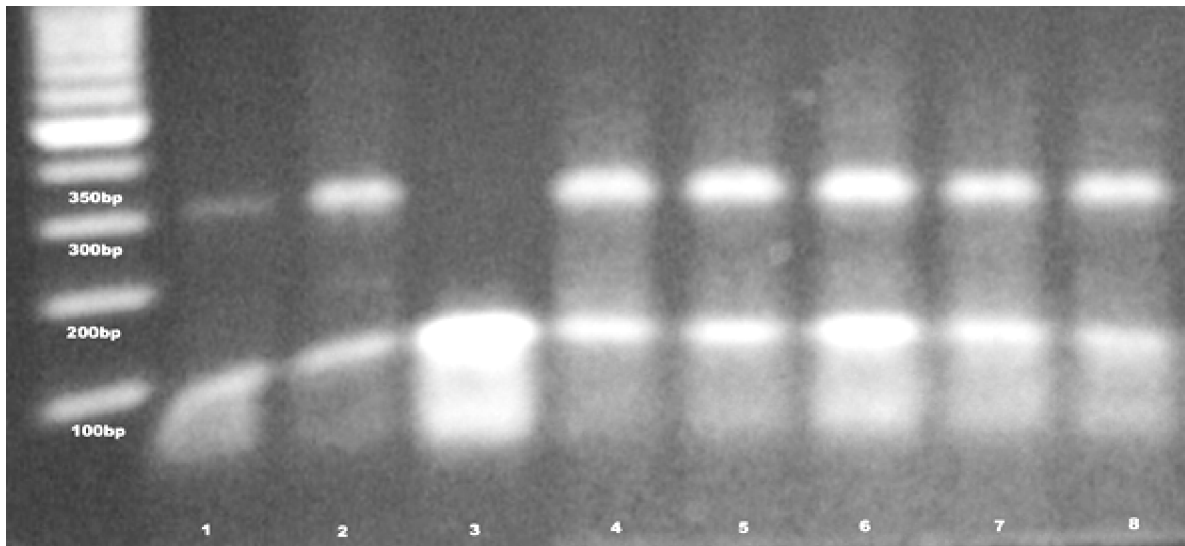


Fig.1. Electrophoregram of products of the amplification of the N34S polymorphism of the SPINK1 gene: 1-2, 4-8 – heterozygous carriers of the NS - genotype; 3 - homozygote after the mutation type (S34S - genotype)

(both edematous and destructive) was not associated with a certain genotype of the SPINK1 N34S polymorphism. The non-biliary form of acute pancreatitis appeared insignificantly more often in carriers of the mutant S-allele: 29.7% (11) versus 18.9% (7) of persons.

3. The carriage of the unfavourable SS-genotype is a probable predisposing factor of disease initiation, potentiation of its further progression, as well as a prognostic marker of severe clinical course of acute pancreatitis with the development of necrotic lesions of the pancreas.

References

1. Boulling A, Witt H, Chandak G, et al. Assessing the pathological relevance of SPINK1 promoter variants. *Eur. J. Hum. Genet.* 2011;19:1066-1073.
2. Tremblay K, Dubois-Bouchard C, Brisson D, Gaudet D. Association of CTRC and SPINK1 gene variants with recurrent hospitalizations for pancreatitis or acute abdominal pain in lipoprotein lipase deficiency. *Front. Genet.* 2014; doi.org/10.3389/fgene.2014.00090.
3. Terlizzi V, De Gregorio F, Sepe A, et al. Brand new SPINK1 and CFTR mutations in a child with acute recurrent pancreatitis: a case report. *Minerva Pediatr.* 2013;65(6):669-672.
4. Kereszturi E, Kiraly O, Sahin-Toth M. Minigene analysis of intronic variants in common SPINK1 haplotypes associated with chronic pancreatitis. *Gut.* 2009;58(4):545-549.
5. Sandhu B, Vitazka P, Ferreira-Gonzalez A, et al. Presence of SPINK-1 variant alters the course of chronic pancreatitis. *J. of Gastroenterology and Hepatology.* 2011;26(6):965-969.
6. O'Reilly D, Witt H, Rahman S, et al. The SPINK1 N34S variant is associated with acute pancreatitis. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 2008;20:726-731.
7. Waele D, Jan J. Acute pancreatitis. *Current Opinion in Critical Care.* 2014;20(2):189-195.

Максим'юк В. В., Полянський І. Ю., Тарабанчук В. В., Харук Л. М.

Окремі генетичні аспекти гострого панкреатиту
ВДНЗУ «Буковинський державний медичний університет»,
кафедра хірургії, Чернівці, Україна, maxsurg@mail.ru

Резюме. Вступ: перебіг гострого панкреатиту, виникнення якого зумовлено одним і тим же чинником, у різних хворих може носити зовсім протилежний характер – від набрякової форми до панкреонекрозу. Важливу роль при цьому відіграють генетично детерміновані захисні механізми, які спрямовані на попередження інтрапанкреатичної активації ферментів.

Мета: вивчено поліморфізм N34S гена SPINK1 у хворих на різні форми гострого панкреатиту, які проживають у Чернівецькій

області України.

Матеріал і методи: Матеріал дослідження склали 37 осіб із різними формами гострого панкреатиту. Хворих розділяли на 2 групи. Першу групу склали 17 пацієнтів на гострий набряковий панкреатит. У другу групу увійшло 20 хворих на панкреонекроз. В усіх хворих проводили комплексне лабораторно-інструментальне обстеження згідно з протоколом надання медичної допомоги хворим на гострий панкреатит. Окрім того, в усіх осіб проводився генетичний аналіз на предмет вивчення поліморфізму N34S гена SPINK1.

Результати: встановлено, що серед хворих на різні форми гострого панкреатиту частіше зустрічається носійство сприятливого N-алеля (45,9% і 51,4%), при меншій кількості патологічних SS-гомозигот (2,7%). Частота появи біліарної форми гострого панкреатиту не асоціюється з певним генотипом N34S поліморфізму гена SPINK1. Небіліарна форма гострого панкреатиту невірогідно частіше зустрічається у носіїв мутантного S-алеля: 29,7% (11) проти 18,9% (7) осіб.

Висновок: носійство несприятливого SS-генотипу є ймовірним сприяючим чинником ініціації захворювання та потенціювання його подальшого прогресування.

Ключові слова: гострий панкреатит, ген SPINK1, поліморфізм.

Максим'юк В. В., Полянський І. Ю., Тарабанчук В. В., Харук Л. М.
Отдельные генетические аспекты острого панкреатита
ВДНЗУ «Буковинский государственный медицинский университет», кафедра хирургии, Черновцы, Украина

Резюме. Введение: течение острого панкреатита, возникновение которого обусловлено одним и тем же фактором, у разных больных может носить совершенно противоположный характер – от отечной формы к панкреонекрозу. Важную роль при этом играют генетически детерминированные защитные механизмы, направленные на предупреждение интрапанкреатической активации ферментов. **Цель:** изучить полиморфизм N34S гена SPINK1 у больных различными формами острого панкреатита, проживающих в Черновицкой области Украины. **Материал и методы:** материал исследования составили 37 человек с различными формами острого панкреатита. Больных разделили на 2 группы. Первую группу составили 17 пациентов с острым отечным панкреатитом. Во вторую группу вошли 20 больных панкреонекрозом. У всех больных проводили комплексное лабораторно-инструментальное обследование согласно протоколу оказания медицинской помощи больным острым панкреатитом. Кроме того, во всех лиц проводился генетический анализ на предмет изучения полиморфизма N34S гена SPINK1. **Результаты:** установлено, что среди больных различными формами острого панкреатита чаще встречается носительство благоприятного N-аллеля (45,9% и 51,4%), при меньшем количестве патологических SS-гомозигот (2,7%). Частота появления билиарной формы острого панкреатита

не ассоциируется с определенным генотипом N34S полиморфизма гена SPINK1. Небилиарная форма острого панкреатита недостоверно чаще встречается у носителей мутантного S-аллеля: 29,7% (11) против 18,9% (7) человек. Вывод: носительство неблагоприятного SS-генотипа является вероятным способствующим фактором инициации заболевания и потенцирование его дальнейшего

прогрессирования.

Ключевые слова: острый панкреатит, ген SPINK1, полиморфизм.

Received 08.06.2016.

УДК: 616.34-007.272-06:616.348-002.4]-053.3-089

Мартинюк Т.В., Горбатюк О.М., Мартинюк В.Ф., Селюк В.С.

Кишкова непрохідність як ускладнення некротичного ентероколіту у дітей

Волинське обласне дитяче територіальне медичне об'єднання

Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика

Резюме. Лікування дітей з кишковою непрохідністю внаслідок некротичного ентероколіту (НЕК) залишається актуальним предметом дискусій багатьох фахівців. Проте рання діагностика ускладненого перебігу НЕК з явищами кишкової непрохідності і своєчасне лікування насамперед залежить від обізнаності лікарів у цих питаннях.

Мета: вивчити і проаналізувати випадки кишкової непрохідності внаслідок НЕК у новонароджених і немовлят та надати власний досвід діагностики і лікування ускладнених форм перебігу даної патології.

Матеріал і методи. Під нашим спостереженням знаходилося 11 новонароджених з НЕК, у яких перебіг захворювання ускладнився клінічними ознаками обтураційної кишкової непрохідності, і 7 немовлят з пізніми ускладненнями НЕК у вигляді кишкових стенозів та злукової кишкової непрохідності. Вивчення клініко-лабораторних особливостей патології проводилось з використанням комплексу діагностичних методик.

Результати. Переважна кількість досліджуваних новонароджених були недоношеними (81,82%). Основною причиною розвитку обтураційної кишкової непрохідності були гіпомоторика стабільної кишкової петлі та некротизованої ділянки і формування внутрішньочеревних інфільтратів довкола кишкових перфорацій і доперфоративних уражень кишкової стінки. Пізні ускладнення НЕК були діагностовані у 7 немовлят зі стенозами кишки та пізньою злуковою кишковою непрохідністю. Всі діти були прооперовані, померло 3 новонароджених від неонатального сепсису з поліорганною недостатністю.

Висновки:

1. У групі новонароджених дітей з перфоративною і доперфоративною стадією НЕК, а також при наявності стабільної кишкової петлі та масивних некротичних ураженнях кишечника, існує велика ймовірність виникнення обтураційної кишкової непрохідності як ускладненого перебігу НЕК. В переважній більшості ускладнений перебіг НЕК мали недоношені новонароджені – 81,82% клінічних випадків.

2. У немовлят, що перенесли НЕК в період новонародженості і були прооперовані з приводу набутої кишкової непрохідності, під час хірургічного втручання були виявлені кишкові стенози та злукова кишка непрохідність, як специфічні пізні ускладнення НЕК.

Ключові слова: новонароджені, некротичний ентероколіт, внутрішньочеревний інфільтрат, стеноз, злукова кишка непрохідність.

Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень.

Згідно з сучасними уявленнями, НЕК – це внутрішньоутробний пролонгований стан кишечника, що викликаний гіпоксично-ішемічним ураженням останнього, персистує в постнатальному періоді з розвитком ішемічно-реперфузійного процесу, некрозу і утворенням виразок [1]. В останні десятиріччя в літературі з'являється все більше робіт, при-

свячених таким ускладненням НЕК у новонароджених як кишкова непрохідність [2, 3]. Остання є однією з основних причин високої летальності серед новонароджених. За даними з різних літературних джерел, післяопераційна летальність у даного контингенту пацієнтів складає 30%-60% від загальної кількості оперованих новонароджених з приводу НЕК і може досягати навіть 100% у недоношених дітей з тяжкою супутньою патологією [4, 5, 2]. У літературі також широко дискутується питання про способи лікування інфільтратів черевної порожнини у новонароджених з НЕК, що зумовлюють ускладнений перебіг патології і можуть бути причиною кишкової непрохідності. Деякі автори вважають наявність інфільтрату абсолютним показанням до оперативного втручання. Так, А.А. Платонов, З.І. Зольников (2012), за відсутності позитивного ефекту лікування інфільтратів черевної порожнини при НЕК у новонароджених виконують лапароскопію, під час якої за допомогою ендопінцетів руйнують злуки між складовими інфільтрату і навіть дрениують черевну порожнину. На їхню думку, консервативне лікування інфільтративних утворень черевної порожнини при НЕК і вичікувальна тактика не призводять до очікуваних позитивних результатів лікування цих пацієнтів [5].

Можна відверто наголосити на тому, що проблема кишкової непрохідності внаслідок НЕК у новонароджених є достатньо новою в дитячій хірургії [4, 6].

Вивчення та аналіз літературних джерел показали, що лікування дітей з кишковою непрохідністю внаслідок НЕК до теперішнього часу залишається актуальним предметом дискусії багатьох фахівців. Діагностична та хірургічна тактика при цій нозології у новонароджених, заходи доопераційного та післяопераційного ведення пацієнтів потребують уточнення та подальшої розробки. Рання діагностика ускладненого перебігу НЕК з явищами кишкової непрохідності залежить від достатньої обізнаності лікарів у цих питаннях, адже успішне лікування даного контингенту дітей напряму залежить від своєчасної діагностики патології та вірної організації подальших терапевтичних заходів.

Мета роботи – вивчити і проаналізувати випадки кишкової непрохідності внаслідок НЕК у новонароджених і немовлят та надати власний досвід діагностики і лікування ускладнених форм перебігу даної патології.

Матеріал і методи дослідження

Протягом останніх 29 років (з 1987 по 2016 роки) у Волинському обласному дитячому територіальному медичному об'єднанні лікувалось 189 новонароджених з НЕК. У 11 дітей (5,82%) патологія ускладнилась клінічними ознаками обтураційної кишкової