

<https://doi.org/10.22416/1382-4376-2020-30-6-40-44>
УДК: 616.37-002.1:575.174.015.3



Роль совместного влияния полиморфизма rs1799930 гена *NAT2*-590 G>A и употребления алкоголя в развитии острого панкреатита

Т. А. Самгина

ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
Курск, Российская Федерация

Цель: определить вклад полиморфизма rs1799930 гена *NAT2*-590 G>A в развитие острого алкогольного панкреатита.

Материалы и методы. Образцы ДНК получены от 547 неродственных больных острым алкогольным панкреатитом и 573 неродственных индивидов без заболеваний желудочно-кишечного тракта. По результатам анкетирования выявлены лица, употреблявшие алкоголь более 200 мл в пересчете на этанол в неделю; 2 раза в неделю и более; с длительностью употребления алкоголя 10 лет и более. Генотипирование выполнено с помощью метода ПЦР с дискриминацией аллелей с помощью TaqMan-зондов.

Результаты. Ассоциаций изучаемого полиморфизма гена с риском развития острого алкогольного панкреатита не обнаружено, ассоциации полиморфизма rs1799930 гена *NAT2*-590 G>A с длительностью и частотой употребления алкоголя не обнаружено. Генотип G>A полиморфизма rs1799930 гена *NAT2*-590 G>A при употреблении алкоголя более 200 г в пересчете на этанол в неделю обладал повышенным риском развития острого алкогольного панкреатита (отношение шансов 2,16; 95% доверительный интервал 1,13–4,12).

Заключение. Полиморфизм G/Ars1799930 гена *NAT2*-590 повышал риск развития ОП при употреблении алкогольных напитков более 200 г этанола в неделю.

Ключевые слова: острый алкогольный панкреатит, полиморфизм rs1799930 гена *NAT2*-590 G>A

Конфликт интересов: автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Самгина Т.А. Роль совместного влияния полиморфизма rs1799930 гена *NAT2*-590 G>A и употребления алкоголя в развитии острого панкреатита. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2020;30(6): 40–44. <https://doi.org/10.22416/1382-4376-2020-30-6-40-44>.

Mutual Effect of *NAT2* rs1799930 (590G>A) Polymorphism and Alcohol Abuse on Risk of Acute Pancreatitis

Tatyana A. Samgina

Kursk State Medical University
Kursk, Russian Federation

Aim. Estimation of the contribution of rs1799930 (590G>A) polymorphism of gene *NAT2* to the development of acute alcoholic pancreatitis.

Materials and methods. DNA samples were obtained from 547 unrelated patients with acute alcoholic pancreatitis and 573 unrelated individuals without gastrointestinal diseases. A survey selected individuals with the alcohol consumption of >200 g/week pure ethanol two times a week or more during 10 or more years. Genotyping was performed with PCR using TaqMan allelic discrimination assays.

Results. No association was observed between the *NAT2* allelic rs1799930 (590G>A) polymorphism, risk of acute alcoholic pancreatitis, duration and rate of alcohol consumption. The 590G>A variant of rs1799930 in gene *NAT2* correlated with an increased risk of acute alcoholic pancreatitis (odds ratio 2.16; 95% confidence interval 1.13–4.12) under alcohol consumption >200 g/week pure ethanol.

Conclusion. The rs1799930 G/A polymorphism of gene *NAT2* increases the risk of acute pancreatitis under alcohol consumption >200 g/week pure ethanol.

Keywords: acute alcoholic pancreatitis, gene *NAT2* polymorphism rs1799930 (590G>A)

Conflicts of interest: the author declares no conflict of interest.

For citation: Samgina T.A. Mutual Effect of NAT2rs1799930(590G>A) Polymorphism and Alcohol Abuse on Risk of Acute Pancreatitis. Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology. 2020;30(6):40–44. <https://doi.org/10.22416/1382-4376-2020-30-6-40-44>.

Важную роль в развитии острого панкреатита исследования последних лет отводят действию химических токсинов из окружающей среды и нарушению регуляции процессов про- и антиоксидантной защиты. Так, была выявлена ассоциация острого небилиарного панкреатита с курением [1], а у курящих и употребляющих алкогольные напитки пациентов с острым панкреатитом (ОП) отмечался повышенный риск развития панкреонекроза [2]. Несмотря на многочисленные исследования, генетические механизмы реализации предрасположенности к ОП и его осложнениям пока недостаточно изучены, но очевидно, что генетически детерминированные особенности функционирования системы биотрансформации ксенобиотиков и антиоксидантной системы (АОС) играют в этом важную роль.

Ариламин-N-ацетилтрансфераза 2 (NAT2) — цитозольный фермент, функция которого заключается как в активации, так и дезактивации ариламинов, гидразина и канцерогенов. Ген локализован на 8 р22 и содержит 6 пептидных последовательностей, которые ранее были определены из триптических пептидов полиморфного NAT [3]. Как NAT1, так и NAT2 приводят к появлению функциональных белков NAT в трансфицированных клетках COS-1, о чем свидетельствует их ферментативная активность с субстратом ариламином — сульфаметазином. Аллельные варианты NAT2 гена связаны с точковыми мутациями, большинство которых нарушают каталитические функции и стабильность фермента. Существует не меньше 13 аллельных вариантов гена NAT2 [3]. Ген NAT2 играет важную роль в индивидуальном физиологическом ответе на различные ксенобиотики — экзогенные химические вещества и лекарства [4, 5].

Полиморфизмы этого гена также связаны с более высоким уровнем заболеваемости раком и лекарственной токсичностью. В азиатской популяции по результатам метаанализа была обнаружена ассоциация гетерозиготного генотипа с повышенным риском развития онкологических заболеваний в целом [6] и рака поджелудочной железы у курящих в частности [7].

Цель исследования — определить вклад полиморфизма rs1799930 гена NAT2-590 G>A и злоупотребления алкоголем в развитие острого алкогольного панкреатита.

Материалы и методы

Материалом для исследования послужили образцы ДНК, полученные от 547 неродственных больных острым алкогольным панкреатитом (154 женщины и 393 мужчины) русской национальности (самоидентифицированы), находившихся

на стационарном лечении в хирургических отделениях города Курска в период с 2012 по 2015 год, и 573 неродственных индивидов русской национальности без заболеваний ЖКТ (161 женщина и 412 мужчин). Средний возраст больных составил $48,9 \pm 13,1$ года, здоровых лиц — $47,8 \pm 12,1$ года.

Диагноз ОП устанавливали с использованием современной классификации острого панкреатита, разработанной Российским обществом хирургов в 2014 г. с учетом классификации Атланта-92 и ее модификаций, предложенных в г. Кочин в 2011 г. Международной ассоциацией панкреатологов (International Association of Pancreatology) и Международной рабочей группой по классификации острого панкреатита (Acute Pancreatitis Classification Working Group) в 2012 г., с использованием общеклинических, лабораторных (общий и биохимический анализ крови) и инструментальных (УЗИ и МРТ поджелудочной железы, ЭГДС) методов исследования. У 201 больного острый панкреатит развился на фоне хронического злоупотребления алкоголем, алкогольного гепатита. У 123 больных имел место стерильный мелкоочаговый панкреонекроз, у 97 развился инфицированный панкреонекроз, у 154 острый панкреатит осложнился развитием перипанкреатического инфильтрата, у 120 — ферментативного перитонита, у 101 — псевдокисты, у 111 — гнойно-некротического перипанкреатита.

В развитии острого панкреатита основополагающую роль играют сложные взаимодействия между генетическими и средовыми факторами, в этой связи изучение совместного влияния полиморфных вариантов генов и средовых факторов риска [8–13] представляется важным этапом исследования патогенеза заболевания.

На основании результатов проведенного анкетирования в обследуемых группах пациентов нами было проанализировано влияние злоупотребления алкоголем на риск развития острого алкогольного панкреатита.

Все участники исследования при поступлении заполняли анкеты, разработанные на кафедре биологии, медицинской генетики и экологии КГМУ [14].

Характер употребления алкоголя оценивали по частоте его потребления, объему и длительности [14]. Анкета содержала вопросы по частоте употребления алкогольных напитков (варианты ответов: реже 1 раза в месяц/или не употребляю; 1–2 раза в месяц; 1–2 раза в неделю; 3–4 раза в неделю; в течение нескольких дней (запой); другое); названию алкогольного напитка; объему употребления; продолжительности употребления алкогольных напитков. Объем алкоголя в граммах этанола рассчитывали исходя из известного процентного содержания этанола в каждом виде алкогольного напитка [9].

В зависимости от объема употребляемого алкоголя в перерасчете на этанол (г) в неделю участники исследования подразделялись на две группы: употреблявшие алкоголь менее 200 г в неделю и употреблявшие более 200 г в неделю. Данное значение выбрано в качестве порогового, так как оно представляет медиану (в граммах чистого этанола) среди максимальных уровней «безопасного потребления алкоголя» в неделю, одобренного во многих странах в соответствии с национальными рекомендациями [10]. По частоте употребления алкоголя участники исследования были разделены на две группы: употребляющие алкоголь от 1 до 2 дней в месяц или реже и употребляющие алкоголь 1 или более дней в неделю. Значение выбрано в качестве порогового для разделения участников исследования на группы, так как оно представляет медиану. Согласно длительности употребления алкоголя все пациенты были разделены на 2 группы: с продолжительностью употребления алкоголя до 10 лет и употребляющих алкоголь в течение 10 или более лет. Данное значение выбрано в качестве порогового, так как оно представляет медиану.

К злоупотребляющим алкоголем относили лиц, употребляющих крепкие спиртные напитки 2 раза в неделю и более, употребляющих 200 г этанола и более, при длительности 10 лет и более.

Забор венозной крови для поведения молекулярно-генетического анализа проводили у всех обследуемых. Геномную ДНК выделяли стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование проводилось методом ПЦР в режиме реального времени путем дискриминации аллелей с помощью TaqMan-зондов на амплификаторе CFX96Bio-Rad Laboratories (США) с использованием коммерческих наборов реактивов TaqMan SNP Genotyping Assays фирмы Applied Biosystems (США). Повторное генотипирование 10% исследованных образцов, отобранных по случайному принципу и при отсутствии информации о статусе болезни, показало 100% воспроизводимость оригинальных результатов. Для оценки ассоциаций аллелей и генотипов генов с риском развития осложнений ОП использовали критерий χ^2 и отношение шансов (ОШ) с 95% доверительными интервалами (ДИ). Статистический анализ осуществлялся с использованием программы Statistica 6.0 (StatSoft, США), SNPstats.

Результаты исследования и их обсуждение

Генотипы полиморфизма rs1799930 гена *NAT2*-590 G>A находились в соответствии с распределением Харди – Вайнберга ($p > 0,05$). Ассоциаций изучаемого полиморфизма гена с риском развития острого алкогольного панкреатита мы не обнаружили (табл. 1).

Нами было изучено совместное влияние алкоголя (объем, частота и длительность употребления) и полиморфизма rs1799930 гена *NAT2*-590 G>A

на риск развития острого панкреатита. Ассоциации полиморфизма rs1799930 гена *NAT2*-590 G>A с длительностью и частотой употребления алкоголя не обнаружили. Однако генотип G>A полиморфизма rs1799930 гена *NAT2*-590 G>A при употреблении алкоголя более 200 г чистого этанола в неделю показал повышенный риск развития ОП (табл. 2).

N-ацетилтрансфераза 2 является одним из ферментов метаболизма 2 фазы трансформации ксенобиотиков, кодируется геном *NAT2* [15]. *NAT2* участвует в детоксикации токсичных арил-аминов, ароматических аминов, гидразинов, которые принадлежат к конечным канцерогенам, вовлеченным в процесс развития рака посредством N-ацетилирования и O-ацетилирования [15, 16]. Ген *NAT2* расположен в хромосоме в положении 8q21.3–23.1, известно несколько полиморфизмов одиночных нуклеотидов [17, 18]. Роль полиморфизма гена *NAT2* в развитии различных заболеваний может быть весьма велика, и данные исследований в европейской и азиатской популяциях разнообразны. Исследований при остром и хроническом панкреатите мы не нашли.

Известно, что скорость ацетилирования, которая определяется активностью *NAT2*, значительно различается в популяции. Так, среди европейцев носители аллельных вариантов гена *NAT2* (*NAT2*5A*, *NAT2*5B*, *NAT2*6A*, *NAT2*6B*, *NAT2*7A*, *NAT2*7B*, *NAT2*14A*, *NAT2*14*) являются «медленными ацетиляторами». Оказалось, что нежелательные лекарственные реакции препаратов, которые подвергаются ацетилированию, наиболее часто развиваются именно у «медленных ацетиляторов», что связано с увеличением концентрации препарата в плазме крови [19]. Следует отметить, что «медленные ацетиляторы» чаще встречаются среди больных ревматоидным артритом по сравнению со здоровыми лицами [19]. Среди европейцев носители генотипа A/A полиморфизма rs1799930 *NAT2* имели повышенный риск развития рака молочной железы при курении более 5 сигарет в день [20]. Курящие мужчины китайской популяции, носители генотипа A/A и аллеля A, также имели повышенный риск развития рака легких [21]. Однако мутантный аллель A обладал протективным эффектом в отношении развития лейкемии [22]. Проведенный метаанализ, включивший 15450 представителей различных популяций, по изучению связи полиморфизма rs1799930 с риском развития рака толстой кишки выявил слабую его ассоциацию только среди азиатов [6].

Заключение

1. Ассоциации аллелей и генотипов полиморфизма rs1799930 гена *NAT2*-590 G>A с риском развития ОП мы не обнаружили.

2. Полиморфизм G/A rs1799930 гена *NAT2*-590 повышал риск развития ОП при употреблении алкогольных напитков более 200 г этанола в неделю.

Таблица 1. Анализ ассоциации аллелей и генотипов полиморфизма rs1799930 гена NAT2-590 G>A с риском развития острого алкогольного панкреатита (кодминантная модель)

Table 1. Association of gene NAT2 allelic polymorphism rs1799930 (590G>A) with acute alcoholic pancreatitis (codominant model)

Ген (SNP ID)	Генотип, аллель Genotype, allele	n (%)		p	ОШ (95 ДИ) OR (95 % CI)
		здоровые healthy (n = 573)	больные disease (n = 547)		
nAT2-590 G>A rs1799930	G/G	300 (53,6)	273 (50,0)	0,37	1,00
	G/A	217 (38,8)	221 (40,5)		1,12 (0,87–1,44)
	A/A	43 (7,7)	52 (9,5)		1,33 (0,86–2,06)
	A	0,27	0,3	0,16	1,14 (0,95–1,37)

Таблица 2. Влияние злоупотребления алкоголем более 200 г этанола в неделю и полиморфизма rs1799930 гена NAT2-590 G>A на развитие острого алкогольного панкреатита

Table 2. Effect of alcohol consumption >200 g/week pure ethanol and gene NAT2 polymorphism rs1799930 (590G>A) on acute alcoholic pancreatitis rate

Генотипы Genotypes	Отсутствие фактора риска (f-) No risk factor (f-)			Наличие фактора риска (f+) Risk factor present (f+)		
	здоровые healthy	больные disease	ОШ (95 % ДИ), p ¹ OR (95 % CI), p ¹	здоровые healthy	больные disease	ОШ (95 % ДИ), p ¹ OR (95 % CI), p ¹
NAT2 (rs1799930)						
G/G–A/A	261 (61,0)	203 (60,6)	1,02 (0,76–1,36)	44 (74,6)	121 (57,6)	2,16 (1,13–4,12) 0,018^{OD}
G/A	167 (39,0)	132 (39,4)	0,91	15 (25,4)	89 (42,4)	

Примечание: p – уровень значимости, достигнутый при анализе взаимодействия SNP и фактора риска; ^{OD} – сверхдоминантная модель.

Note: p – the level of significance achieved when analysing the interaction between SNP and the risk factor; ^{OD} – overdominance model.

Литература/References

- Setiawan V.W., Pandol S.J., Porcel J., Wilkens L.R., Le Marchand L., Pike M.C., Monroe K.R. Prospective Study of Alcohol Drinking, Smoking, and Pancreatitis: The Multiethnic Cohort. *Pancreas*. 2016;45(6):819–25. DOI: 10.1097/MPA.0000000000000657
- Ahmed Ali U., Issa Y., Hagensars J.C., Bakker O.J., van Goor H., Nieuwenhuijs V.B., et al. Risk of recurrent pancreatitis and progression to chronic pancreatitis after a first episode of acute pancreatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2016;14(5):738–46. DOI: 10.1016/j.cgh.2015.12.040
- Blum M., Grant D.M., McBride W., Heim M., Meyer U.A. Human arylamine-N-acetyltransferase genes: isolation, chromosomal localization, and functional expression. *DNA Cell Biol*. 1990;9(3):193–203. DOI: 10.1089/dna.1990.9.193
- Sabbagh A., Darlu P., Crouau-Roy B., Poloni E.S. Arylamine N-acetyltransferase 2 (NAT2) genetic diversity and traditional subsistence: a worldwide population survey. *PLoS One*. 2011;6(4):e18507. DOI: 10.1371/journal.pone.0018507
- Hein D.W., Grant D.M., Sim E. Update on consensus arylamine N-acetyltransferase gene nomenclature. *Pharmacogenetics*. 2000;10(4):291–2. DOI: 10.1097/00008571-200006000-00002
- Tian F.S., Shen L., Ren Y.W., Zhang Y. N-acetyltransferase 2 gene polymorphisms are associated with susceptibility to cancer: a meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014;15(14):5621–6. DOI: 10.7314/apjcp.2014.15.14.5621
- Jang J.H., Cotterchio M., Borgida A., Gallinger S. Genetic variants in carcinogen-metabolizing enzymes, cigarette smoking and pancreatic cancer risk. *Carcinogenesis*. 2012;33(4):818–27. DOI: 10.1093/carcin/bgs028
- Whitcomb D.C., Yadav D., Adam S., Hawes R.H. Multicenter approach to recurrent acute and chronic pancreatitis in the United States: the North American Pancreatitis Study 2 (NAPS2). *Pancreatology*. 2008;8(4–5):520–31. DOI: 10.1159/000152001
- МакНелли П.Р. Секреты гастроэнтерологии. М.: Бином; 2001. [McNally P.R. Secrets of gastroenterology. Moscow: Binom; 2001 (In Russ.).]
- Furtwaengler N.A., de Visser R.O. Lack of international consensus in low-risk drinking guidelines. *Drug Alcohol Rev*. 2013;32(1):11–8. DOI: 10.1111/j.1465-3362.2012.00475.x
- Forsmark C.E., Baillie J.; AGA Institute Clinical Practice and Economics Committee; AGA Institute Governing Board. AGA Institute Technical Review on Acute Pancreatitis. *Gastroenterol*. 132(5):2022–44. DOI: 10.1053/j.gastro.2007.03.065
- Somogyi L., Martin S.P., Venkatesan T., Ulrich C.D. Recurrent acute pancreatitis: an algorithmic approach to identification and elimination of inciting factors. *Gastroenterology*. 2001;120(3):708–17. DOI: 10.1053/gast.2001.22333
- Weiss F.U., Laemmerhirt F., Lerch M.M. Etiology and risk factors of acute and chronic pancreatitis. *Visc Med*. 2019;35(2):73–81. DOI: 10.1159/000499138
- Polonikov A.V., Samgina T.A., Nazarenko P.M., Bushueva O.Y. Alcohol consumption and cigarette smoking are important modifiers of the association between acute pancreatitis and the PRSS1-PRSS2 locus in men. *Pancreas*. 2017;46(2):230–6. DOI: 10.1097/MPA.0000000000000729
- Geller F., Soborg B., Koch A., Michelsen S.W. Determination of NAT2 acetylation status in the Greenlandic population. *Arch Toxicol*. 2016;90:883–9. DOI: 10.1007/s00204-015-1501-1
- Yarosh S.L., Kokhtenko E.V., Churnosov M.I., Ataman A.V., Solodilova M.A., Polonikov A.V. Synergism between the N-acetyltransferase 2 gene and oxidant exposure increases the risk of idiopathic male infertility. *Reprod Biomed Online*. 2014;29(3):362–9. DOI: 10.1016/j.rbmo.2014.04.008

17. *Adithan C., Subathra A.* NAT2 gene polymorphism: covert drug interaction causing phenytoin toxicity. *Indian J Med Res.* 2016;143(5):542–4. DOI: 10.4103/0971-5916.187101
18. *Sun J.D., Yuan H., Hu H.Q., Yu H.M.* Association of N-acetyltransferase-2 polymorphism with an increased risk of coronary heart disease in a Chinese population. *Genet Mol Res.* 2016;15(1):15016954. DOI: 10.4238/gmr.15016954
19. *Кукес В.Г.* Метаболизм лекарственных средств: клиничко-фармакологические аспекты. М.: Реафарм; 2004. [*Kukes V.G.* Drug metabolism: clinical and pharmacological aspects. Moscow: Reafarm; 2004 (In Russ.)].
20. *Kasajova P., Holubekova V., Mendelova A., Lasabova Z., Zubor P., Kudela E.* Active cigarette smoking and the risk of breast cancer at the level of N-acetyltransferase 2 (NAT2) gene polymorphisms. *Tumor Biology.* 2016;37(6):7929–37. DOI: 10.1007/s13277-015-4685-3
21. *Tian F., Zhang Y., Ren Y., Shen L.* N-Acetyltransferase 2 (NAT2) gene polymorphism and exposure to smoking in lung cancer of Chinese males. *Medical Oncology.* 2014;31(8):90. DOI: 10.1007/s12032-014-0090-9
22. *Zou Y., Dong S., Xu S., Gong Q., Chen J.* Genetic polymorphisms of NAT2 and risk of acute myeloid leukemia: A case-control study. *Medicine (Baltimore).* 2017;96(42):7499. DOI: 10.1097/MD.00000000000007499

Сведения об авторе

Самгина Татьяна Александровна — кандидат медицинских наук, доцент кафедры хирургических болезней № 2 ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет». Контактная информация: tass@list.ru; 305000, г. Курск, ул. Карла Маркса, д. 3. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7781-3793>

Information about the author

Tatyana A. Samgina — Cand. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Department of Surgical Diseases No. 2, Kursk State Medical University. Contact information: tass@list.ru; 305000, Kursk, Karla Marksa str., 3. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7781-3793>

Поступила: 13.07.2020 Поступила после доработки: 03.12.2020 Опубликована: 25.12.2020
Submitted: 13.07.2020 Revision received: 03.12.2020 Published: 25.12.2020