

Lys-27 residues (H3K27) and demethylation of Lys-4 residues (H3K4) of H3 histones of genes involved in cell division. It has been demonstrated that prostate cancer (PC) progression is associated with significant increase of HOTAIR transcripts number in malignant prostate cells. In addition, it is known that HOTAIR overexpression stimulates the PC cells proliferation, and HOTAIR knockdown leads to division suppression of malignant prostate cells.

*The aim of the study* was to study of the possible association between HOTAIR gene rs1899663 locus and metastasis development in Ukrainian prostate cancer patients.

*Object and methods.* The venous blood of PC 184 patients (80 with metastasis and 104 without metastatic signs) was used in current case-control study. Genotyping of participants by HOTAIR gene rs1899663-site was carried out by polymerase chain reaction followed by restriction fragment length polymorphism analysis (PCR-RFLP). Statistical analysis of obtained data was performed using SPSS 17.0 software package (Chicago, IL, USA). P values < 0.05 were considered as statistically significant.

*Results.* It was revealed that frequency of GG-, GT-, and TT-genotypes (HOTAIR gene rs1899663 site) did not differ significantly between PC patients without metastases and with metastatic process signs (P = 0.291). Statistically significant association between different rs1899663-allelic variants and metastasis development in PC patients was not found both before and after adjusting for age, body mass index, smoking, and alcohol abuse (P > 0.05).

*Conclusion.* Thus, this study results showed that HOTAIR gene rs1899663 polymorphic locus is not involved in metastasis occurrence in Ukrainian men with prostate cancer.

**Key words:** long non-coding RNA, HOTAIR, nucleotide polymorphism, metastasis, prostate cancer.

Рецензент – проф. Старченко І. І.  
Стаття надійшла 10.12.2019 року

DOI 10.29254/2077-4214-2019-4-2-154-262-265

УДК 616.37-002.2:616.37-006.6:575.116

<sup>1,2</sup>Муравйов П. Т., <sup>1,2</sup>Шевченко В. Г., <sup>1,2</sup>Шарапов І. В., <sup>1,2</sup>Бондарець Д. А., <sup>1,2</sup>Волков В. Б.

## ГЕНЕТИЧНІ ДЕТЕРМІНАНТИ ВИНИКНЕННЯ ПАТОЛОГІЇ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ: ПІЛОТНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ

<sup>1</sup>Одеський національний медичний університет (м. Одеса)

<sup>2</sup>Одеський обласний клінічний медичний центр (м. Одеса)

gemostatik@gmail.com

**Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.** Дослідження виконане відповідно до НДР кафедри хірургії № 2 ОНМедУ «Пошук, розробка і впровадження новітніх методів профілактики і лікування хірургічних та онкологічних захворювань органів гепатопанкреатодуоденальної зони та шлунково-кишкового тракту» (№ державної реєстрації 0109У008575).

**Вступ.** У структурі хірургічної патології значне місце посідають захворювання підшлункової залози (ПЗ) [1,2,3]. Хронічний панкреатит (ХП) є доброякісним запальним процесом в підшлунковій залозі, який веде до постійного пошкодження паренхіми залози, порушення її екзокринної та ендокринної функцій, що призводить до атрофії залози [1,3,4,5,6]. В останні роки неухильно зростає число пацієнтів з ХП. Так, захворюваність ХП за останні десять років в країнах Європи зросла втричі, при цьому відзначається зростання захворюваності серед жінок і молоді. Поширеність ХП становить 0,04 – 5%, а в США – 25-30 випадків на 100 тис. населення. Дослідження в Данії виявили поширеність від 8,2 до 27,4 випадку на 100 тис. населення, в Японії і Росії – 25-30 випадків на 100 тис. населення. Частка ХП в структурі хвороб органів травлення ста-

новить 8-10%. Приблизно у третини пацієнтів розвиваються ускладнення, які призводять до інвалідизації та збільшення ризику летального результату. Смертність від ускладнень за 10-річний період хвороби становить близько 10-30%, а за 20 років помирає більше половини пацієнтів. Найбільш часто захворювання діагностується в осіб працездатного віку, що має соціально значимий аспект. Також проблемою є розвиток раку ПЗ на тлі ХП, який реєструється у 0,5-5% пацієнтів. Зустрічальність екстрапанкреатичних пухлин на тлі ХП становить від 3,9 до 12,5%. В доповнення до ендокринної та екзокринної дисфункцій розвиваються такі ускладнення, як панкреатичні псевдокісти, стеноз загальної жовчної протоки і панкреатичної протоки, стеноз дванадцятипалої кишки, компресія портальної та/або селезінкової вени [1].

Основною причиною ХП (75-90% випадків) є зловживання алкоголем [1,5]. Інші відомі причини ХП поділяють на морфологічні (рансгеас divisum), імунологічні (вірусна інфекція). Велике значення має індивідуальна генетична схильність (мутація гена CFTR, недостатність L-антитрипсину) [3,4,5,7], гіперкальціємія, гіперліпідемія, а також недостатне білкове харчування, жовчнокам'яна хвороба і холелітаз.

Спадковий панкреатит може бути обумовлений мутацією гена трипсину-гену PRSS1, а також гена SPINK1 [1,4,8]. Описані й інші мутації, асоційовані із ХП [3,5].

Екзокринний рак підшлункової залози (РПЗ) абсолютно переважає

**Таблиця – Розподіл по генотипах досліджуваних поліморфізмів у пацієнтів з РПЗ та ХП**

Ген	SNP	РПЗ						ХП					
		AA		Aa		aa		AA		Aa		aa	
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
PRSS1	Arg122His	27	90,0	1	3,3	2	6,7	29	26,7	1	3,3	-	-
SPINK1	Asn34Ser	18	60,0	11	36,7	1	3,3	24	80,0	5	16,7	1	3,3
CFTR	Phe508del	21	70,0	9	30,0	-	-	26	86,7	4	13,3	-	-
TNF	G308A	19	63,3	9	30,0	2	6,7	25	83,3	5	16,7	1	3,3

серед злякисних пухлин органів білопанкреатодуоденальної зони. У 2018 році в Україні на рак підшлункової залози захворіло більше 4000 осіб (без урахування окупованих територій та анексованої АР Крим), при однорічній летальності 73,2% [9].

РПЗ вкрай рідко зустрічається у віці до 30 років, потім показники збільшуються, досягаючи максимальних значень у віці 80-85 років [1,5]. Стандартизовані за віком показники демонструють, що чоловіки мають приблизно в 1,5 рази вищий ризик розвитку РПЗ аніж жінки. В цілому, незважаючи на досягнення в лікуванні раку, протокова аденокарцинома ПЗ залишається однією з найагресивніших пухлин і найчастішою причиною смерті в структурі онкологічних захворювань в

економічно розвинутих країнах [1,2,7,10,11,12,13]. За оцінками фахівців, генетично обумовленими є лише 10% випадків РПЗ, але у регіонах з екологічно несприятливими умовами мутагенне навантаження може призводити до зростання числа мутацій, асоційованих з ризиком РПЗ [7].

Незважаючи на те, що генетична основа більшості сімейних випадків раку підшлункової залози залишається незрозумілою, було виявлено кілька важливих генів раку підшлункової залози. Цьому сприяли нещодавні досягнення в генотипізації та генетичному секвенуванні. Насьогодні доведена роль мутацій генів BRCA1, BRCA2, p53 (Li-Fraumeni), STK11 (Peutz-Jeghers), MSH2 (Lynch), ATM (атаксія-телеангіектазії)

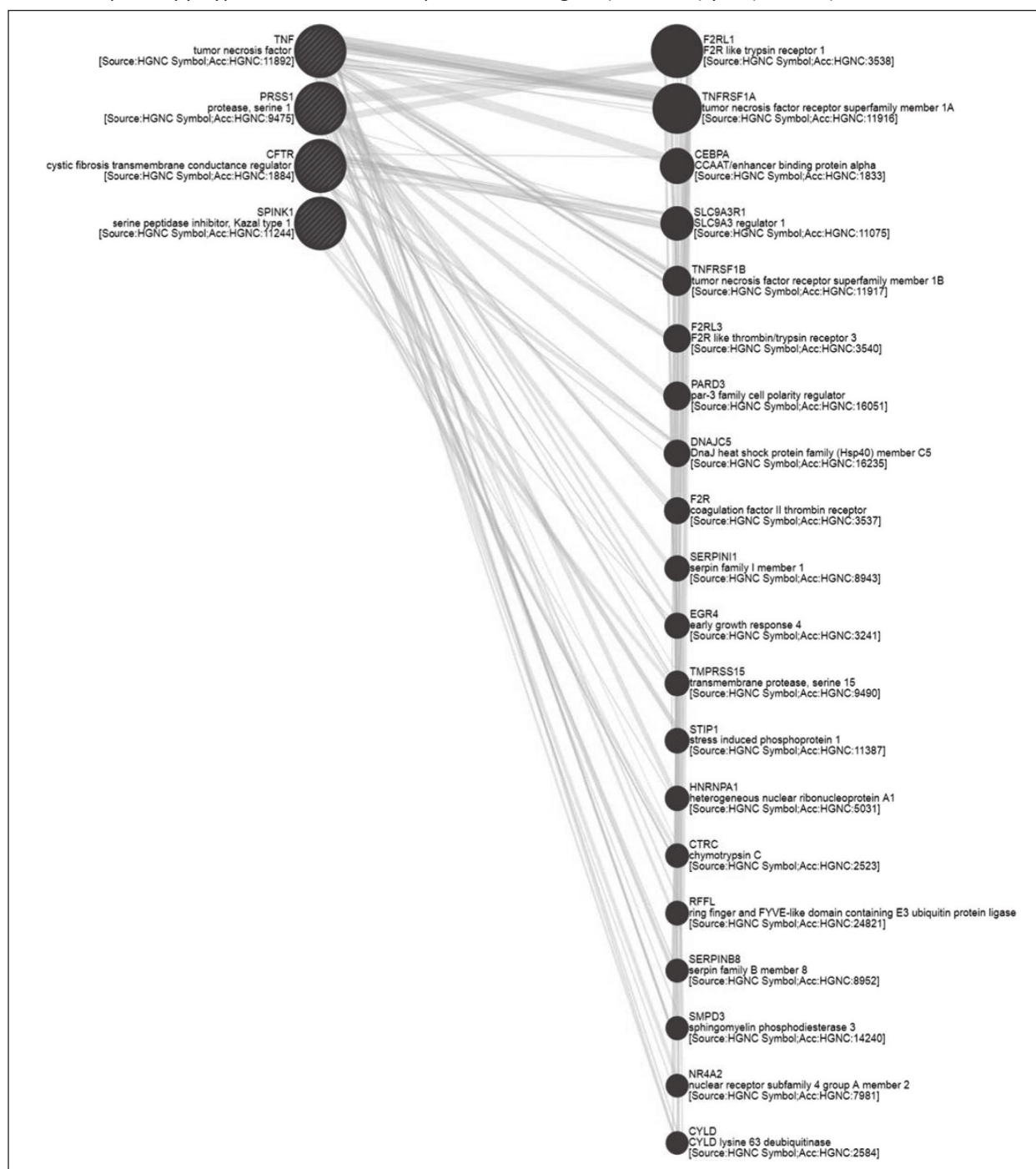


Рисунок – Генетична мережа із залученням досліджених генів (GeneMania, 2019).

та APC (сімейний аденоматозний поліпоз) у розвитку РПЗ [5,13]. Триває пошук нових генетичних маркерів схильності для ХП та РПЗ. Деякі дослідники пропонують включати генетичний скринінг як обов'язковий для визначення індивідуальної схильності до патології ПЗ [10,11,12].

**Метою дослідження** була оцінка поширеності мутацій генів *PRSS1*, *SPINK1*, *CFTR* та *TNF* у хворих на ХП та РПЗ.

**Об'єкт і методи дослідження.** Дослідження виконане впродовж 2015-2019 рр. на базі Обласного медичного центру (м. Одеса). Обстежено 60 осіб, що перебували на стаціонарному лікуванні у хірургічному відділенні, в тому числі 30 – з верифікованим діагнозом РПЗ (С25.9) – I група, та 30 – з діагнозом ХП (К86.1) – II група [14]. Всі пацієнти пройшли обстеження та лікування відповідно до чинних клінічних протоколів [15].

Біологічний матеріал для молекулярно-генетичного дослідження було отримано методом зіскрібка епітеліальних клітин ротової порожнини за допомогою одноразових стерильних зондів тампонів-тупферів. Після прополоскування порожнини рота випробуваному пропонувалося протягом 2 хв. протирати щічні поверхні слизової рота, після чого зонд опускали в пробірку без транспортного середовища. Проби до виділення ДНК зберігали при  $t = -18^{\circ}\text{C}$ . Виділення ДНК з отриманого біологічного матеріалу проводили за методом Деларпорта [16]. Аналіз поліморфних ДНК-локусів генів *PRSS1*, *SPINK1*, *CFTR* та *TNF* здійснювали методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) за допомогою відповідних праймерів («Літех», РФ).

Статистична обробка одержаних даних проведена за допомогою пакетів програмного забезпечення Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США).

**Результати досліджень та їх обговорення.** Як показали результати проведених молекулярно-генетичних досліджень для пацієнтів з РПЗ було характерним наявність нерівноважного розподілу алелів, тобто по всіх генах вимоги рівняння Харді-Вайнберга не виконувалися (табл.).

Таким чином, співвідношення «дикого» та мутантного алелів у пацієнтів з РПЗ склало для гену *PRSS1* 28/3=7,3:1, для гену *SPINK1* – 29/12=2,4:1, для гену *CFTR* – 30/9=3,3:1, для гену *TNF* – 28/11=2,5:1. Такі співвідношення значно відрізняються від популяційних стандартів, одержаних для східноєвропейських країн.

Для хворих на ХП розподіл був дещо іншим – гену *PRSS1* 30/1, для гену *SPINK1* – 29/6=4,8:1, для гену

*CFTR* – 30/4=7,5:1, для гену *TNF* – 30/6=2,5:1. Таким чином, частота виявлення мутантних алелів у хворих I групи була вдвічі вищою, ніж у II групі. Водночас, у зв'язку з малим розміром вибірки та значною гетерогенністю даних виявлені відмінності не є статистично значущими ( $p>0,05$ ).

З іншого боку, одержані дані суттєво відрізняються від попередніх даних, щодо поширеності досліджених генів у східноєвропейській популяції. Так, частота *SPINK1* мутації серед хворих на ХП складає від 6,4% у Франції до 25% – у Фінляндії та 40% – у Польщі (дані Європейського реєстру спадкового панкреатиту та сімейного РПЗ (The European Registry of Hereditary Pancreatitis and Familial Pancreatic Cancer, EUROPAC). Частота мутацій *PRSS1* оцінюється на рівні 20-25% [7]. Щодо мутацій *CFTR* та *TNF* то вони зустрічаються у 15-38% та 12-30% випадків відповідно [5,7].

За допомогою відкритої бази даних GeneMania побудовано генетичну мережу містить досліджені нами гени (рис.). Виявилось, що функціонально вони тісно пов'язані з такими генами як *SERPINB8*, *SERPINI1*, *SMPD3*, *NR4A2*, *CYLD*, *F2RL1*, *TNFRSF1A*, *TNFRSF1B*, *CEBPA*, *SLC9A3R1*, *RFFL*, *CTRC*, *HNRNDA1*, *STIP1*, *TMPRSS15*, *EGR4*, *F2R*, *DNAJC5*, *PARD3*, *F2RL3*.

Частина цих генів кодує амінокислотні послідовності білків, які є рецепторами *TNF*, але більшість з них репрезентують різноманітні біологічно активні сполуки, залучені до патогенезу панкреато-біліарної патології.

### Висновки

1. Носіями мутантних алелів гену *PRSS1* є 10% з обстежених хворих на РПЗ, гену *SPINK1* – 40,0%, *CFTR* – 30,0%, *TNF* 36,7%.

2. Частота виявлення мутантних алелів у хворих I групи є вдвічі вищою, ніж у II групі.

3. Немає достатніх підстав включення генетичного скринінгу на носійництво мутантних алелів генів *PRSS1*, *SPINK1*, *CFTR* та *TNF* до рутинних клінічних діагностичних алгоритмів.

4. Досліджені гени *PRSS1*, *SPINK1*, *CFTR* та *TNF* тісно пов'язані функціонально із генами *SERPINB8*, *SERPINI1*, *SMPD3*, *NR4A2*, *CYLD*, *F2RL1*, *TNFRSF1A*, *TNFRSF1B*, *CEBPA*, *SLC9A3R1*, *RFFL*, *CTRC*, *HNRNDA1*, *STIP1*, *TMPRSS15*, *EGR4*, *F2R*, *DNAJC5*, *PARD3*, *F2RL3*.

**Перспективи подальших досліджень** пов'язані із дослідженням особливостей перебігу нейроендокринної проліферативної патології у носіїв мутацій генів *PRSS1*, *SPINK1*, *CFTR* та *TNF*.

### Література

- Shchastnyy AT. Khirurgicheskaya pankreatologiya. Vitebsk: VGMU; 2017. 98 s. [in Russian].
- Capasso M, Franceschi M, Rodriguez-Castro KI, Crafa P, Cambiè G, Miraglia C, et al. Epidemiology and risk factors of pancreatic cancer. Acta Biomed. 2018 Dec 17;89(9-5):141-6.
- Zou WB, Tang XY, Zhou DZ, Qian YY, Hu LH, Yu FF, et al. SPINK1, PRSS1, CTRC, and CFTR Genotypes Influence Disease Onset and Clinical Outcomes in Chronic Pancreatitis. Clin Transl Gastroenterol. 2018 Nov 12;9(11):204.
- Hasan A, Moscoso DI, Kastrinos F. The Role of Genetics in Pancreatitis. Gastrointest Endosc Clin N Am. 2018 Oct;28(4):587-603.
- Hohmann M, Schmelz R, Hampe J, Zeißig S. Sinnvolle genetische Untersuchungen in der Gastroenterologie. Dtsch Med Wochenschr. 2018 Oct;143(20):1477-80.
- Jancsó Z, Oracz G, Kujko AA, Kolodziejczyk E, Radisky ES, Rygiel AM, et al. Novel Pathogenic PRSS1 Variant p.Glu190Lys in a Case of Chronic Pancreatitis. Front Genet. 2019 Feb 6;10:46.
- The European Registry of Hereditary Pancreatitis and Familial Pancreatic Cancer, EUROPAC. Available from: [https://www.lctu.org.uk/LCTU\\_NET/Frontend/?Data=W1tiRzIqWVd4bF1dW09RPT1d](https://www.lctu.org.uk/LCTU_NET/Frontend/?Data=W1tiRzIqWVd4bF1dW09RPT1d)
- Averbukh LD, Mavilia MG. SPINK-1 Polymorphism as a Pancreatitis Risk Factor. Cureus. 2019 Jan 8;11(1):e3852.
- Natsional'nyy Kantser-Reyestr. Rak pidshlunkovoyi zalozy. Dostupno: [http://www.ncru.inf.ua/publications/BULL\\_20/PDF/34-35-podg.pdf](http://www.ncru.inf.ua/publications/BULL_20/PDF/34-35-podg.pdf) [in Ukrainian].
- Braillon A. Screening for pancreatic cancer and scientific integrity. Gastrointest Endosc. 2018 Dec;88(6):971.

11. Chhoda A, Lu L, Clerkin BM, Risch H, Farrell JJ. Current Approaches to Pancreatic Cancer Screening. *Am J Pathol.* 2019 Jan;189(1):22-35.
12. DaVee T, Coronel E, Papafragkakis C, Thaiudom S, Lanke G, Chakinala RC, et al. Pancreatic cancer screening in high-risk individuals with germline genetic mutations. *Gastrointest Endosc.* 2018 Jun;87(6):1443-50.
13. Welinsky S, Lucas AL. Familial Pancreatic Cancer and the Future of Directed Screening. *Gut Liver.* 2017 Nov 15;11(6):761-70.
14. МКХ-10. Доступно: <https://www.icd10data.com/> [in Ukrainian].
15. Asotsiatsiya khirurhiv Ukrainy. Diyuchi normatyvni akty z pytan' khirurhiyi. Доступно: <http://as-ukr.org/diyuchi-normativni-akti-z-pitan-hirurg/> [in Ukrainian].
16. Dreyper Dzh, Skott R. Vydeleniye nukleinovykh kislot. *Gennaya inzheneriya. Lab. ruk-vo: per. s angl. M.: Mir; 1991. s. 248-52.* [in Russian].

### ГЕНЕТИЧНІ ДЕТЕРМІНАНТИ ВИНИКНЕННЯ ПАТОЛОГІЇ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ: ПІЛОТНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ

**Муравйов П. Т., Шевченко В. Г., Шарапов І. В., Бондарець Д. А., Волков В. Б.**

**Резюме.** Метою дослідження була оцінка поширеності мутацій генів *PRSS1*, *SPINK1*, *CFTR* та *TNF* у хворих на ХП та РПЗ.

Дослідження виконане впродовж 2015-2019 рр. на базі Обласного клінічного медичного центру (м. Одеса). Обстежено 60 осіб, що перебували на стаціонарному лікуванні у хірургічному відділенні, в тому числі 30 – з верифікованим діагнозом РПЗ (С25.9) – I група, та 30 – з діагнозом ХП (К86.1) – II група. Всі пацієнти пройшли обстеження та лікування відповідно до чинних клінічних протоколів.

Біологічний матеріал для молекулярно-генетичного дослідження було отримано методом зіскрібка букального епітелію. Аналіз поліморфних ДНК-локусів генів *PRSS1*, *SPINK1*, *CFTR* та *TNF* здійснювали методом ПЛР.

Показано, що носіями мутантних алелів гена *PRSS1* є 10% з обстежених хворих на РПЗ, гена *SPINK1* – 40,0%, *CFTR* – 30,0%, *TNF* 36,7%. Частота виявлення мутантних алелів у хворих I групи є вдвічі вищою, аніж у II групі.

Досліджені гени *PRSS1*, *SPINK1*, *CFTR* та *TNF* тісно пов'язані функціонально із генами *SERPINB8*, *SERPINI1*, *SMPD3*, *NR4A2*, *CYLD*, *F2RL1*, *TNFRSF1A*, *TNFRSF1B*, *CEBPA*, *SLC9A3R1*, *RFLL*, *CTRC*, *HNRNDA1*, *STIP1*, *TMPRSS15*, *EGR4*, *F2R*, *DNAJC5*, *PARD3*, *F2RL3*.

**Ключові слова:** хронічний панкреатит, рак підшлункової залози, медична генетика, діагностика.

### ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ДЕТЕРМИНАНТЫ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ПАТОЛОГИИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ: ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

**Муравьев П. Т., Шевченко В. Г., Шарапов И. В., Бондарец Д. А., Волков В. Б.**

**Резюме.** Целью исследования была оценка распространенности мутаций генов *PRSS1*, *SPINK1*, *CFTR* и *TNF* у больных ХП и РПЖ.

Исследование выполнено в течение 2015-2019 гг. На базе Областного клинического медицинского центра (г. Одесса). Обследовано 60 человек, находившихся на стационарном лечении в хирургическом отделении, в том числе 30 – с верифицированным диагнозом РПЖ (С25.9) – I группа, и 30 – с диагнозом ХП (К86.1) – II группа. Все пациенты прошли обследование и лечение в соответствии с действующими клиническими протоколами.

Биологический материал для молекулярно-генетического исследования был получен методом соскоба букального эпителия. Анализ полиморфных ДНК-локусов генов *PRSS1*, *SPINK1*, *CFTR* и *TNF* осуществляли методом ПЦР. Показано, что носителями мутантных аллелей гена *PRSS1* есть 10% из обследованных больных РПЖ гена *SPINK1* – 40,0%, *CFTR* – 30,0%, *TNF* 36,7%. Частота выявления мутантных аллелей у больных I группы вдвое выше, чем во II группе.

Исследованные гены *PRSS1*, *SPINK1*, *CFTR* и *TNF* тесно связаны функционально с генами *SERPINB8*, *SERPINI1*, *SMPD3*, *NR4A2*, *CYLD*, *F2RL1*, *TNFRSF1A*, *TNFRSF1B*, *CEBPA*, *SLC9A3R1*, *RFLL*, *CTRC*, *HNRNDA1*, *STIP1*, *TMPRSS15*, *EGR4*, *F2R*, *DNAJC5*, *PARD3*, *F2RL3*.

**Ключевые слова:** хронический панкреатит, рак поджелудочной железы, медицинская генетика, диагностика.

### GENETIC DETERMINANTS OF PANCREATIC PATHOLOGY: A PILOT STUDY

**Muraviov P. T., Shevchenko V. G., Sharapov I. V., Bondarets D. A., Volkov V. B.**

**Abstract.** The aim of the study was to evaluate the prevalence of mutations in the *PRSS1*, *SPINK1*, *CFTR*, and *TNF* genes in patients with chronic pancreatitis and pancreatic cancer.

The study was performed during 2015-2019 at the Regional Clinical Medical Center (Odessa). Sixty inpatients at the surgical department were examined, including 30 persons with a verified diagnosis of pancreatic cancer (C25.9) – group I and 30 with a diagnosis of chronic pancreatitis (K86.1) – group II. All patients were examined and treated according to current clinical protocols.

Biological material for molecular genetic testing was obtained by scraping the buccal epithelium. Analysis of the polymorphic DNA loci of the *PRSS1*, *SPINK1*, *CFTR*, and *TNF* genes was performed by PCR.

The ratio of «wild» and mutant alleles in patients with pancreatic cancer was for the *PRSS1* gene 28/3 = 7,3: 1, for the *SPINK1* gene – 29/12 = 2,4: 1, for the *CFTR* gene – 30/9 = 3,3: 1, for *TNF* gene – 28/11 = 2,5: 1. For patients with chronic pancreatitis – *PRSS1* 30/1 gene, for *SPINK1* gene – 29/6 = 4,8: 1, for *CFTR* gene – 30/4 = 7,5: 1, for *TNF* gene – 30/6 = 2,5: 1. It is shown that carriers of mutant alleles of the *PRSS1* gene are 10% of the examined patients suffering from pancreatic cancer, *SPINK1* gene – 40,0%, *CFTR* – 30,0%, *TNF* 36,7%. The frequency of detection of mutant alleles in patients of group I is twice higher than in group II.

The investigated *PRSS1*, *SPINK1*, *CFTR*, and *TNF* genes are closely related functionally to *SERPINB8*, *SERPINI1*, *SMPD3*, *NR4A2*, *CYLD*, *F2RL1*, *TNFRSF1A*, *TNFRSF1B*, *CEBPA*, *SLC9A3R1*, *RFLL*, *CTRC*, *F5RS1*, *RFLL*, *CTRC*, *FNR*, *CTRC*, *DNA*, *HRS* *PARD3*, *F2RL3*.

**Key words:** chronic pancreatitis, pancreatic cancer, medical genetics, diagnostics.

*Рецензент – проф. Білаш С. М.  
Стаття надійшла 13.11.2019 року*