

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 577.121+616.37-002+575.174.015.3

©Коллектив авторов

МЕТАБОЛИЗМ ЛИМФОЦИТОВ БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ПАНКРЕАТИТОМ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ГЕНОТИПАХ *GSTM1* И *GSTT1* ГЕНОВ

*Е.В. Маркова¹, Н.В. Зотова¹, А.А. Савченко¹, Н.М. Титова¹, Е.В. Слепов¹,
Д.В. Черданцев², А.Н. Коноваленко²*

¹Красноярский государственный университет; 660041, Красноярск, пр. Свободный, 79; факс: 8(3912) 448625; эл. почта: markova88@mail.ru

²Красноярская государственная медицинская академия, *
ул. Партизана Железняка, 1, 660022 Красноярск,

Проведен анализ распределения активности NAD(P)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов и полиморфных вариантов генов глутатион-S-трансфераз M1 (*GSTM1*) и T1 (*GSTT1*) в группе больных острым панкреатитом в сравнении с контрольной группой из популяции русских жителей г. Красноярск. Установлено, что генотип *GSTM1* 0/0 ассоциирован с предрасположенностью к панкреатиту. Полиморфизм *GSTT1* гена не является фактором риска развития панкреатита, по крайней мере, в обследованной группе. По результатам исследования активностей ферментов показано статистически значимое снижение уровней глицерол-3-фосфатдегидрогеназы, NAD-зависимой малатдегидрогеназы, повышение активности NAD-зависимой глутаматдегидрогеназы и малатдегидрогеназы в лимфоцитах при панкреатите. Развитие панкреатита при различных генотипах *GSTM1* и *GSTT1* генов сопровождается перестройкой основных внутриклеточных процессов: доминирование пластического обмена в лимфоцитах при делеции по *GSTM1* и преобладание энергетических процессов в случае *GSTT1* 0.

Ключевые слова: острый панкреатит, метаболизм лимфоцитов, активность NAD(P)-зависимых дегидрогеназ, генетический полиморфизм, *GSTM1*, *GSTT1*.

ВВЕДЕНИЕ. Острый панкреатит является одним из наиболее распространенных и тяжелых заболеваний органов брюшной полости. Абсолютное количество больных острым панкреатитом, которые ежегодно госпитализируются в стационары г. Красноярск, за период с 1995 по 2002 год увеличилось более чем в два раза. Патогенез заболевания чрезвычайно сложен, многие факторы инициации и прогрессирования воспаления поджелудочной железы до настоящего времени неизвестны [1]. Выявлены существенные изменения со стороны антиоксидантной и, в частности, глутатионовой системы у пациентов с острым панкреатитом [2].

Поиск молекулярно-генетических механизмов, ответственных за развитие острого и хронического панкреатита - одна из наиболее актуальных проблем современной панкреатологии. Среди генов предрасположенности к панкреатиту рассматриваются гены *PRSSI* (катионного трипсинагена), *SPINK1* (секреторного ингибитора трипсина), *CFTR* (трансмембранного регулятора муковисцидоза), *GST* (глутатион-S-трансфераз) и некоторые другие [3-6]. Фенотипические проявления дефектов в генах предрасположенности к панкреатиту до конца не изучены.

Достаточно информативными можно считать показатели активности внутриклеточных ферментов иммунокомпетентных клеток при панкреатите, которые позволяют учитывать не только функциональные возможности клеток, но и определить наиболее оптимальные пути коррекции нарушений метаболизма клеток иммунной системы [7, 8]. Особый интерес представляет изучение активности NAD(P)-зависимых дегидрогеназ иммунокомпетентных клеток при различных генотипах ферментов системы биотрансформации ксенобиотиков, поскольку остаются не до конца изученными фенотипические проявления делеционных вариантов. При “нулевых генотипах” *GSTM1* (*GSTM1* 0/0) и *GSTT1* (*GSTT1* 0/0) снижается эффективность глутатион-зависимой системы биотрансформации в защите метаболической системы от воздействия патогенных факторов панкреатической паренхимы и, соответственно, повышается вероятность развития панкреатита [9].

Показано снижение активности ферментов глутатион-S-трансфераз, осуществляющих детоксикацию ксенобиотиков во второй фазе биотрансформации, при протяженных делециях в соответствующих генах. Данные мутации могут являться факторами риска для развития панкреатита [10, 11]. Экспрессия генов *GST* проявляет тканеспецифические особенности: так, *GSTM* выявляется во многих тканях, в том числе в лимфоидных органах и лимфоцитах, фермент также обнаружен в панкреатической паренхиме [12]. *GSTT* экспрессируется только в эритроцитах и печени, поэтому возможна его связь через общие метаболические пути с развитием острого панкреатита [13].

В ряде работ также показана ассоциация “нулевых” генотипов *GSTM1* и *GSTT1* с повышенным риском развития ряда заболеваний: бронхиальной астмы [14], рака лёгкого [15], алкогольным воспалением печени [16], эндометриозом [17].

Целью исследования явилось изучение активности NAD(P)-зависимых дегидрогеназ в лимфоцитах периферической крови во взаимосвязи с нулевыми генотипами *GSTM1* и *GSTT1* генов при панкреатите.

МЕТОДИКА.

Характеристика обследованной группы.

Обследованы 25 здоровых доноров - группа контроля (14 мужчин, 11 женщин; средний возраст – 31 год), - являющиеся жителями г. Красноярска и больные панкреатитом - 25 пациентов городской клинической больницы №7 (15 мужчин, 10 женщин; средний возраст – 42 года) – жителей г. Красноярска и пригородов, не имеющие других хронических патологий. Причиной заболевания у 17 больных панкреатитом явилось употребление алкоголя, у остальных – желчекаменная болезнь и иная этиология. Диагноз устанавливался на основании анамнеза, данных объективного обследования, лабораторных и инструментальных методов. Для определения тяжести состояния больных использовали шкалу, предложенную группой авторов из НИИ скорой помощи им. И.И. Джанелидзе (Санкт-Петербург) [18]. Состояние при поступлении соответствовало средней степени тяжести у всех больных. Забор крови производили в первые сутки нахождения пациента в стационаре.

Биолюминесцентное определение активности NAD(P)-зависимых дегидрогеназ.

Для исследования внутриклеточной активности ферментов выделение общей фракции лимфоцитов из венозной крови осуществляли по методу Voym (1968) в градиенте плотности фиколл—верографин (1,077 г/мл) с последующей очисткой от прочих клеток [19].

Определение активности NAD(P)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов проводили биолюминесцентным методом [20]. Данным методом определяли уровни активности следующих ферментов: глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (G6PD, EC 1.1.1.49), глицерол-3-фосфатдегидрогеназы (G3PD, КФ 1.1.1.8), NAD- и NADH-зависимой реакции лактатдегидрогеназы (NAD(+)LDH и NADH(+)LDH, КФ 1.1.1.27), NADP-зависимой малатдегидрогеназы (NADP(+)MDH, КФ 1.1.1.40), NAD- и NADH-зависимой реакции малатдегидрогеназы (NAD(+)MDH и

NADH(+)-MDH, КФ 1.1.1.37), NADP- и NADPH-зависимой глутаматдегидрогеназы (NADP(+)-GDH и NADPH(+)-GDH, КФ 1.4.1.4), NAD- и NADH-зависимой глутаматдегидрогеназы (NAD(+)-GDH и NADH(+)-GDH, КФ 1.4.1.3), NAD-зависимой изоцитратдегидрогеназы (NAD(+)-IDH, КФ 1.1.1.41) и глутатионредуктазы (GSR, КФ 1.6.4.2).

Используемые концентрации субстратов, кофакторов и pH среды указаны в таблице 1.

Таблица 1. Концентрация субстратов, кофакторов и показатели pH среды для определения активности NAD(P)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов биолюминесцентным методом.

Фермент	Субстрат, мМ	Кофактор, мМ	pH буфера
G6PDH	глюкозо-6-фосфат – 1,5	NADP – 0,025	9,8
G3PDH	глицерол-3-фосфат – 0,5	NAD – 0,35	9,8
NAD(+)-LDH	лактат – 2,0	NAD – 0,5	9,0
NADH(+)-LDH	пируват – 0,25	NADH – 0,005	7,0
NADP(+)-MDH	малат – 7,5	NADP – 0,375	9,8
NAD(+)-MDH	малат – 2,0	NAD – 2,5	9,8
NADH(+)-MDH	оксалоацетат – 0,5	NADH – 0,005	7,0
NADP(+)-GDH	глутамат – 0,5	NADP – 1,65	9,8
NADPH(+)-GDH	2-кетоглутарат – 100,0	NADPH – 0,0025	7,4
NAD(+)-GDH	глутамат – 8,7	NAD – 8,1	9,8
NADH(+)-GDH	2-кетоглутарат – 100,0	NADH – 0,0025	7,0
NAD(+)-IDH	изоцитрат – 5,0	NAD – 5,0	7,8
GSR	глутатион – 0,5	NADPH – 0,0025	7,4

Примечание: среды с pH 9,0 и 9,8 приготавливали на трис-HCl-буфере; среды с pH 7,0; 7,4 и 7,8 – на K⁺, Na⁺ -фосфатном буфере.

После инкубации при 37°C в течение 30 мин (для ферментативных реакций с восстановлением NAD(P)) или 5 мин (для реакций с окислением NAD(P)H), 200 мкл инкубационной смеси добавляли в кювету биолюминометра “БЛМ-8804”, куда предварительно вносили 50 мкл FMN в концентрации 0,000015 М, 10 мкл ферментативной смеси NAD(P)H: FMN оксидоредуктаза-люцифераза, (выделенной из *Photobacterium leognathi* в Институте биофизики СО РАН, г. Красноярск) и 50 мкл 0,0005% альдегида C₁₄ (все реактивы биолюминесцентной системы разведены в 0,1 М K⁺, Na⁺ - фосфатном буфере, pH 7,0). Измеряли уровень биолюминесценции и при помощи калибровочной кривой определяли концентрацию NAD(P)H в пробе. Калибровочные графики строили для каждого pH буфера.

Активность дегидрогеназ выражали в мкмоль/мин на 10⁴ клеток.

МЕТАБОЛИЗМ ЛИМФОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ ПАНКРЕАТИТОМ

Молекулярно-генетический анализ.

В работе использовали образцы ДНК, полученные из 4 мл стабилизированной ЭДТА крови не родственных доноров русской национальности. Экстракцию осуществляли по стандартной методике с обработкой протеиназой К (“СибЭнзим”) и фенол-хлороформной смесью.

Анализ генетического полиморфизма проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) на программируемом амплификаторе “Mastercycler gradient” (“Eppendorf”, Германия). В качестве внутреннего контроля амплификации использовали ген цитохрома P450 – *CYP1A1*. За основу брали методы Т.Э. Иващенко с соавт. (2001) с модификациями [21]. Смеси для мультиплексных ПЦР *GSTM1* и *CYP1A1*, *GSTT1* и *CYP1A1* генов объемом 30 мкл включали буфер для Taq-ДНК-полимеразы (“СибЭнзим”), 2 mM MgCl₂, 0,5 mM каждого dNTP, около 1 мкг геномной ДНК и 2U Taq-ДНК-полимеразы (“СибЭнзим”). В каждую смесь добавляли по 30 пмоль специфических олигонуклеотидных праймеров (табл. 2).

Таблица 2. Условия амплификации *GSTM1* и *GSTT1* генов.

Гены	Праймеры		Температурные циклы
<i>GSTM1</i>	<i>GSTM1 F</i>	5'gaac(ccctgaaaagctaaagc 3'	94°C – 7 мин, 30 циклов (94°C – 40 сек, 55°C – 40 сек, 72°C – 1 мин) и 72°C – 5 мин.
	<i>GSTM1 R</i>	5'gttgggctcaaatatcgggtgg 3'	
	<i>CYP1A1 F</i>	5'gaactgccactcagctgct 3'	
	<i>CYP1A1 R</i>	5'gaaagaccctccagcgggca 3'	
<i>GSTT1</i>	<i>GSTT1 F</i>	5'ttccttactgggtccctcacatctc 3'	94°C – 5 мин, 35 циклов (94°C – 40 сек, 68°C – 40 сек, 72°C – 40 сек) и 72°C – 5 мин.
	<i>GSTT1 R</i>	5'tcaccggatcatgccagca 3'	
	<i>CYP1A1W1</i>	5'cggaagtgtatcggtagagacc 3'	
	<i>CYP1A1W2</i>	5'gtagacagagctaggcccca 3'	

Визуализацию результатов осуществляли электрофоретически в 3%-ном агарозном геле с добавлением бромистого этидия (0,5 мкг/мл). Электрофорез производили в ТАЕ-буфере (0,04 М трис-ацетат, 0,002 М ЭДТА, pH 8,0) при напряжении 90 В в течение 45 минут. Результаты просматривали в проходящем ультрафиолетовом свете на трансиллюминаторе и сохраняли с использованием геледокументирующей системы “Doc Print” (“Vilber Lourmat”, Франция). Оценку размеров амплифицированных фрагментов производили с использованием программы “Photo-CaptMw” относительно маркера молекулярного веса (100-1000 bp).

При амплификации *GSTM1* и *GSTT1* в случае нормальных вариантов генов наблюдали соответствующие фрагменты: 219 п.н. – для *GSTM1* (с внутренним контролем 187 п.н.) (рис. 1) и 459 п.н. – для *GSTT1* (с внутренним контролем 190 п.н.) (рис. 2). При протяженных делециях (0/0-генотип) амплифицированные фрагменты не выявлялись.

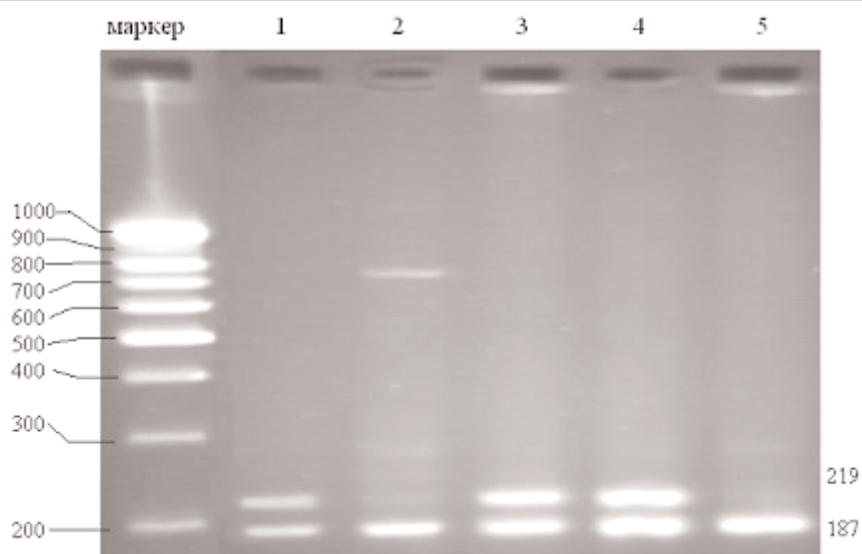


Рисунок 1.

Электрофореграмма ПЦР-продуктов генов *GSTM1* и *CYP1A1*: 1, 3, 4 – нормальные аллели *GSTM1*; 2, 5 – генотип *GSTM1* 0/0.

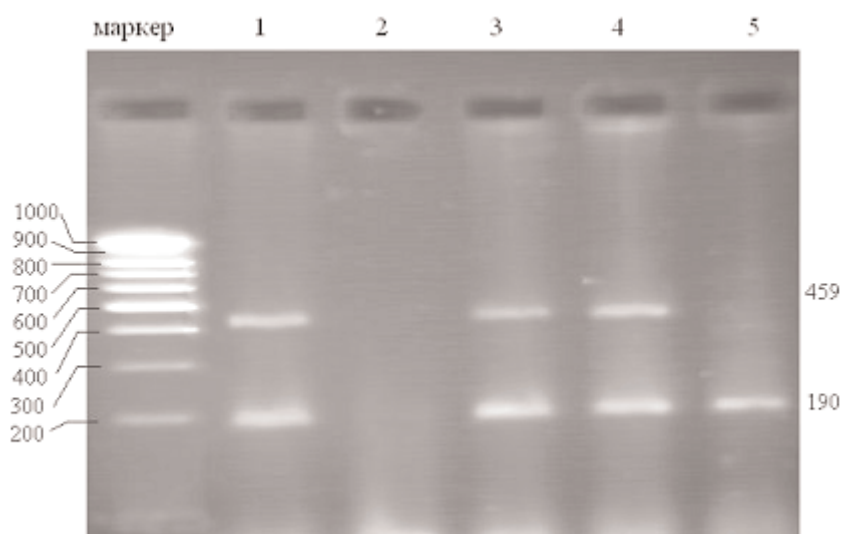


Рисунок 2.

Электрофореграмма ПЦР-продуктов генов *GSTT1* и *CYP1A1*: 1, 3, 4 – нормальные аллели *GSTT1*; 5 – генотип *GSTT1* 0/0; 2 – отрицательный контроль.

Математическая обработка полученных данных.

По результатам определения активностей ферментов рассчитывали среднее арифметическое значение и ошибку средней. Достоверность различий уровней активности дегидрогеназ лимфоцитов здоровых и больных панкреатитом осуществляли по критерию Манна-Уитни. Исследование силы взаимосвязей между исследуемыми количественными и качественными параметрами осуществляли с помощью бисериального коэффициента корреляции [22]. Статистическую обработку производили с использованием пакета программ Excel 2003.

МЕТАБОЛИЗМ ЛИМФОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ ПАНКРЕАТИТОМ

Расчёт частот аллелей и генотипов проводили по уравнению Харди-Вайнберга для аутосомных признаков; сравнение частот нулевых и нормальных генотипов в отношении генов *GSTM1* и *GSTT1* в исследованных группах проверяли по критерию χ^2 Пирсона. В качестве критерия, определяющего, является ли изучаемый признак фактором риска заболевания, использовалось отношение шансов (odds ratio -OR):

$$OR = (A/B)/(C/D),$$

где А и В - процент носителей аллельного варианта признака и “дикого” аллеля признака в опытной группе, соответственно, а С и D - процент носителей аллельного варианта и дикого аллеля признака в группе сравнения [23].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.

В результате исследования активности NAD- и NADP-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов здоровых доноров и больных панкреатитом выявлено статистически достоверное снижение уровней G3PD, NAD(+)MDH, повышение NAD(+)GDH, NADH(+)LDH и NADH(+)GDH при панкреатите ($p < 0,01$) (рис. 3).

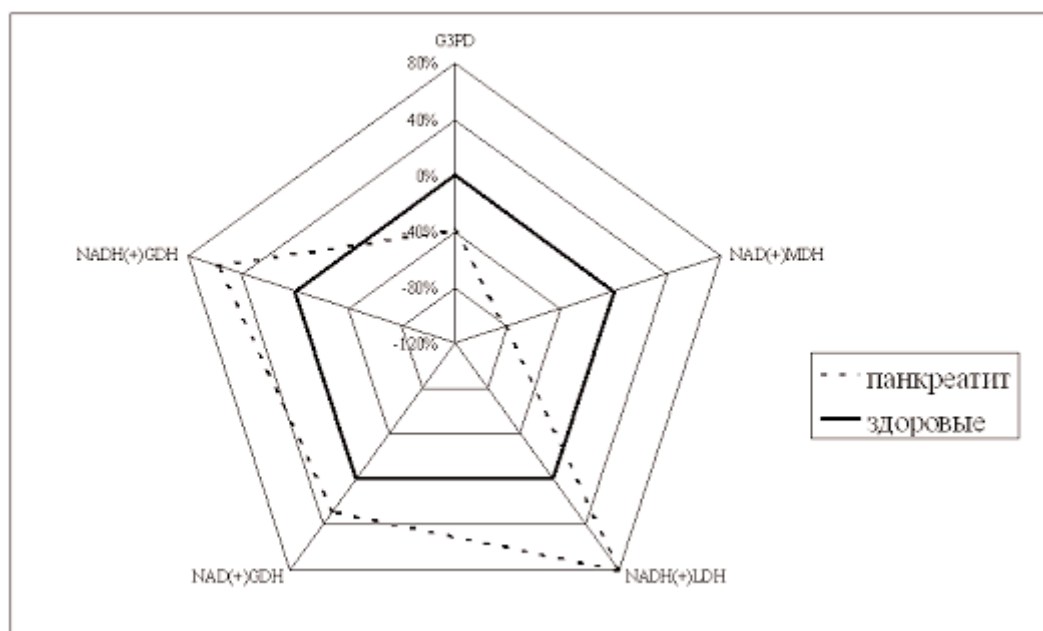


Рисунок 3.

Различия активностей дегидрогеназ лимфоцитов больных панкреатитом и контрольной группы ($p < 0,01$).

Достоверных отличий активности внутриклеточных ферментов G6PD, NAD(+)LDH, NADP(+)GDH, NADPH(+)GDH, NADP- и NADH(+)MDH, NAD(+)IDH, GSR при панкреатите по отношению к контрольному диапазону не выявлено.

Результаты определения энзиматической активности иммунокомпетентных клеток крови при различных генотипах *GSTM1* и *GSTT1* генов в контрольной группе и при панкреатите представлены в таблицах 3, 4.

Таблица 3. Активность NAD(P)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов при различных генотипах *GSTM1* и *GSTT1* генов в контрольной группе (мкмоль/мин на 10^4 клеток).

Ферменты	GSTM1		GSTT1	
	+/+ , +/0	0/0	+/+ , +/0	0/0
NADP(+)GDH	18,32±5,85*	25,74±1,57*	12,14±5,29*	37,19±9,86*
NAD(+)GDH	4,53±2,36*	2,82±1,93*	4,38±2,22*	3,34±2,88*
NADP(+)MDH	10,33±2,42	14,06±4,28	13,51±2,35	7,23±4,01
NAD(+)MDH	7,01±2,84*	8,57±4,54*	9,77±3,21*	2,85±2,67*
G3PD	3,06±1,22*	8,37±5*	4,83±2,46	4,16±1,95
NAD(+)LDH	4,03±2,1	5,89±2,86	2,47±1,16	8,8±4,21
NADH(+)LDH	6,48±2,55*	1,97±0,9*	5,8±2,67*	3,89±1,65*
NAD(+)IDH	14,91±3,3	9,67±4,12	13,49±3,62	13,17±3,43
GSR	19,56±8,75	17,17±8,51	25,23±7,5	8,13±2,5

Примечание: * - достоверные различия между группами 0/0 и +/+, +/0 по критерию Манна-Уитни, $p < 0,01$.

Таблица 4. Активность NAD(P)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов при различных генотипах *GSTM1* и *GSTT1* генов в группе больных панкреатитом (мкмоль/мин на 10^4 клеток).

Ферменты	GSTM1		GSTT1	
	+/+ , +/0	0/0	+/+ , +/0	0/0
NADP(+)GDH	10,93±6,58*	31,44±6,46*	14,36±6,44*	34,8±26,42*
NAD(+)GDH	4,37±2,34*	7,74±4,88*	5,27±2,51*	7,01±6,15*
NADP(+)MDH	14,72±6,56	11,4±4,67	8,79±3,68*	31,29±3,58*
NAD(+)MDH	1,82±1,23*	0,91±0,7*	0,64±0,55*	4,68±2,93*
G3PD	3,12±1,64*	2,82±1,55*	2,93±1,42*	3,29±1,74*
NAD(+)LDH	4,41±2,89*	8,2±3,6*	3,46±1,42*	14,82±8,4*
NADH(+)LDH	15,24±9,95*	43,33±13,4*	32,17±11,8*	1,48±1,32*
NAD(+)IDH	8,3±4,96*	14,62±4,58*	8,96±2,58	17,17±13,83
GSR	26,97±9,64	32,08±12,62	23,93±8,14*	45,92±18,05*

Примечание: * - достоверные различия между группами 0/0 и +/+, +/0 по критерию Манна-Уитни, $p < 0,01$.

Различия в активностях GDH выявлены при “нулевых генотипах” *GSTM1* и *GSTT1*. Обнаружено статистически значимое изменение активностей в сторону снижения NAD(+)GDH, в сторону повышения - NADP(+)GDH в группе здоровых доноров по сравнению с “+”-генотипами. При панкреатите также повышается активность NADP(+)GDH, наряду с повышением NAD(+)GDH. По-видимому, при различных генотипах глутатион-S-трансфераз имеются определенные особенности энергетики внутриклеточных процессов: противоположное направление интенсивности субстратного потока из цикла трикарбоновых кислот (ЦТК) на обмен аминокислот.

Активность NAD(+)MDH лимфоцитов по-разному изменяется в контроле и при патологии у индивидов с различными генотипами: в случае *GSTM1 0* здоровой группы и *GSTT1 0* при панкреатите происходит увеличение активности данного фермента (на 18,2% и 69,4% - NAD(+)MDH, $p < 0,01$ соответственно), а при *GSTT1 0* контрольной группы и *GSTM1 0* панкреатита – снижение (на 70,8% и 50,0% - NAD(+)MDH, $p < 0,01$ соответственно). При *GSTT1 0* панкреатите также происходит увеличение активности NADP(+)MDH на 71,9% ($p < 0,01$). Кроме того, выявлено увеличение активности G3PD в контрольной группе при *GSTM1 0* и уменьшение при *GSTT1 0* по сравнению с “+”-генотипами.

Активность NADH(+)LDH уменьшается в случае *GSTM1 0* и *GSTT1 0* у здоровых доноров и при *GSTT1 0* – панкреатите, однако в группе больных панкреатитом при *GSTM1 0* ($43,33 \pm 13,43$; $p < 0,01$) происходит увеличение активности по сравнению с “+”-генотипами ($15,24 \pm 9,95$; $p < 0,01$).

Активность NAD(+)IDH в иммунокомпетентных клетках повышается при 0-генотипе *GSTM1* при панкреатите. Такие данные могут отражать различие субстратного потока по ЦТК для поддержания необходимой концентрации NADH и энергетического потенциала митохондрий.

Достоверные различия активности GSR - фермента, обеспечивающего регенерацию глутатиона, выявлены при различных генотипах *GST* в группе больных панкреатитом ($p < 0,01$). В случае “нулевого” генотипа при панкреатите усиливается глутатион-опосредованная антиоксидантная защита иммунокомпетентных клеток, в контроле его активность снижена (табл. 3, 4).

Таким образом, можно заключить, что “нулевые” генотипы как в контрольной группе, так и в группе больных панкреатитом обнаруживают определенные метаболические особенности. Выявленные изменения могут служить фенотипическими проявлениями генетического полиморфизма на биохимическом уровне. Развитие панкреатита при различных генотипах *GSTM1* и *GSTT1* генов сопровождается различной перестройкой основных внутриклеточных процессов. Так в случае делеции по *GSTM1* устанавливается доминирование процессов пластического обмена (за счет ингибирования NAD(+)MDH, NADPH(+)GDH и активирования NADH(+)LDH, и NAD(+)GDH). При *GSTT1 0*-панкреатите в основном преобладают энергетические процессы (повышение активности NAD- и NADP(+)MDH, G3PD и снижение NADH(+)LDH).

По проведенному корреляционному анализу между генотипами и активностями ферментов можно заключить, что на 5% уровне значимости выявлена зависимость активности NAD(+)LDH и NADP(+)GDH от *GSTT1* генотипа. Также установлена корреляция активности NADP(+)GDH от *GSTT1* генотипа в контрольной группе и активности NAD(+)LDH, NAD- и NADP(+)MDH от *GSTT1* генотипа в группе больных панкреатитом.

Сравнение частот аллелей и генотипов в обследованных группах представлено в таблице 5.

Выявлено статистически значимое ($\chi^2=12,55$; $p < 0,001$) различие частот делеционного варианта *GSTM1* гена в обследуемых группах. Величина OR для *GSTM1* гена составила 3,93. Такие результаты свидетельствуют об ассоциации полиморфизма гена глутатион-S-трансферазы M1 с развитием острого панкреатита. Полиморфизм *GSTT1* гена, очевидно, не является фактором риска развития панкреатита, по крайней мере, в обследованной группе.

Таблица 5. Распределение частот генотипов и аллелей *GSTM1* и *GSTT1* генов в обследуемых группах.

Ген	Группы	N	Частота аллелей, %		Частота генотипов, %		
			+	0	+/+	+/0	0/0
<i>GST</i>	Здоровые	69	55	45	30,25	49,45	20,3
<i>M1</i>	Панкреатит	49	29,3	70,7	8,58	41,42	50
<i>GST</i>	Здоровые	42	43	57	18,49	48,91	32,6
<i>T1</i>	Панкреатит	42	62,2	37,8	38,7	47	14,3

Примечание: “+”- обычный (дикий) аллель гена; “0”- делеционный (“нулевой”) аллель гена.

По-видимому, генотип *GSTM1* 0 является генетическим фактором риска развития панкреатита. Кодированный этим геном фермент экспрессируется в панкреатической паренхиме и лимфоцитах, непосредственно принимает участие в обезвреживании экзогенных токсинов, а его отсутствие ведет к деструкции ткани железы [12]. В свою очередь, *GSTT1* 0-зависимый панкреатит сопровождается компенсаторной перестройкой основных метаболических путей в большей степени, чем *GSTM1* 0 и сам по себе не является предрасполагающим фактором. Поскольку фермент этого класса экспрессируется в клетках крови и печени, его значение при панкреатите возможно лишь косвенное [13].

Таким образом, пациенты с острым алкогольным панкреатитом характеризуются различием частот аллелей, генотипов и уровней активности метаболических ферментов. Данные различия реализуются в разной чувствительности пациентов к медикаментозной терапии, поэтому необходим индивидуальный подход в лечении данной патологии.

Метаболические процессы в иммунокомпетентных клетках больных панкреатитом и здоровых индивидуумов имеют различия, также выявлена некоторая корреляция активности ферментов с генотипами *GSTM1* и *GSTT1* генов. Судя по активности NAD(P)-зависимых дегидрогеназ, ряд метаболических процессов у здоровых и больных панкреатитом имеют противоположные изменения.

Работа проводилась при инструментальной поддержке ЦКПП НОЦ “Енисей”, грант REC-002/KR-002-99 Министерства образования РФ и АФ ГИР.

ЛИТЕРАТУРА

1. Черданцев Д.В. (2002) Коррекция синдрома системной воспалительной реакции при остром панкреатите. Дисс. д-ра мед. наук, КрасГМА, Красноярск.
2. Черданцев Д.В., Винник, Ю.С., Каспаров Э.В., Титова Н.М., Первова О.В. (2002) Диагностика и лечение окислительного стресса при остром панкреатите. Красноярск.
3. Whitcomb D.C. (1999) Gut, 44(9), 150-155.
4. Охлобыстин А.В. (1999) Росс. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол., 9(4), 18-23.
5. Маркова Е.В., Зотова Н.В., Коноваленко А.Н., Черданцев Д.В., Титова Н.М. (2003) Депонир. в ВИНТИ, 10.12.2003, № 2157-B2003.
6. Маркова Е.В., Зотова Н.В., Коноваленко А.Н., Черданцев Д.В., Титова Н.М. (2004) Мед. генетика, 3(8), 388-391.

7. Дунаевская С.С. (2002) Метаболический иммунодефицит у больных острым панкреатитом и методы его коррекции. Дисс. канд. мед. наук, КрасГМА, Красноярск.
8. Куртасова Л.М., Савченко А.А., Пучко Е.А., Ольховский И.А. (2001) Клин. лаб. диагностика, **8**, 3-5.
9. Standop J., Ulrich A.B., Schneider M.B., Buchler M.W., Pour P.M. (2002) *Pancreatology*, **2**, 510-518.
10. Frenzer A., Butler W.J., Norton I.D., Wilson J.S., Apte M.V., Pirola R.C., Ryan P., Roberts-Thomson I.C. (2002) *Gastroenterol. Hepatol*, **17**, 177-182.
11. Bartsch H., Malaveille C., Lowenfels A.B., Maisonneuve P., Hautefeuille A., Boyle P. (1998) *Eur. J. Cancer. Prev.*, **7**(3), 215-223.
12. Coles B.F., Anderson K.E., Doerge D.R., Churchwell M.I., Lang N.P., Kadlubar F.F. (2000) *Cancer Res.*, **60**(1), 573-579.
13. Juronen E., Tasa G., Uuskula M., Pooga M., Mikelsaar A.V. (1996) *Biochem. Mol. Biol. Int.*, **39**, 21-29.
14. Вавилин В.А., Часовникова О.Б., Ляхович В.В., Гавалов С.М., Рябова О.А. (2000) *Вопр. мед. химии*, **6**, 388-397
15. Савченко А.А., Лапешин П.В., Маркова Е.В. и др. (2004) *Росс. биотерапевт. журн.*, **3**(3), 24-27.
16. Шангареева З.А., Викторова Т.В. (2004) *Мед. генетика*, **3**, 210-219.
17. Баранов В.С., Иващенко Т.Э., Швед Н.Ю., Ямолинская М.И. и др. (1999) *Генетика*, **35**, 243-248.
18. Багненко С.В., Рухляда Н.В., Краснорогов В.Б. и др. (2002) *Анн. хирург. гепатол.*, **7**(1), 183.
19. Маца А.Н. (ред.) (1999) *Лимфоциты. Методы.*, Мир, Москва.
20. Савченко А.А., Сунцова Л.Н. (1989) *Лаб. дело*, **3**(11), 23-25.
21. Иващенко Т.Э., Сиделева О.Г., Петрова М.А., Гембицкая Т.Е., Орлов А.В., Баранов В.С. (2001) *Генетика*, **37**(1), 107-111.
22. Лакин Г.Ф. (1990) *Биометрия, Высшая школа*, Москва.
23. Pearce N. (1993) *Int. J. Epidemiol*, **22**, 1189-1192.

Поступила: 21. 01. 2005.

LYMPHOCYTE METABOLISM IN PATIENTS WITH ACUTE PANCREATITIS
AND DIFFERENT GENOTYPES OF *GSTM1* AND *GSTT1* GENES

E.V. Markova¹, N.V. Zotova¹, A.A. Savchenko¹, N.M. Titova¹, E.V. Slepov¹,
D.V. Cherdancev², A.N. Konvalenko²

¹Krasnoyarsk State University; pr. Svobodny, 79, Krasnoyarsk, 660041 Russia;
fax: (3912) 448625; e-mail: markova88@mail.ru

²Krasnoyarsk State Medical Academy, ul. Partizana Zheleznyaka, 1, Krasnoyarsk, 660022 Russia.

In this study, we have investigated correlation between enzymatic activity of NAD(P)-dependent dehydrogenases of lymphocytes and polymorphic variants of glutathione S-transferase M1 (*GSTM1*) and T1 (*GSTT1*) genes in the group of unrelated patients with acute pancreatitis in comparison with healthy Russians from Krasnoyarsk. Thus, genotype *GSTM1* 0/0 is the marker of predisposition to the acute pancreatitis, whereas polymorphism of the *GSTT1* gene is not involved in the development of the pancreatitis, at least in our group. The bioluminescence analysis showed statistically significant decrease of the levels of G3PD, NAD(+)MDH and the increase of NADH(+)LDH, NAD(+)GDH, NADH(+)GDH in lymphocytes of pancreatic group. Development of pancreatitis in patients with different genotypes *GSTM1* and *GSTT1* genes showed the rearrangement of the basic intracellular processes: dominance of a plastic metabolism in the patients with *GSTM1* - deletions and predominance of energetic processes at *GSTT1* 0 - pancreatitis.

Key words: acute pancreatitis, metabolism lymphocytes, activity of NAD(P)-dependent dehydrogenases, genetic polymorphism, *GSTM1*, *GSTT1*.