



Роль полиморфизма гена PЕMТ фосфатидилэтанолламин-N-метилтрансферазы rs12449964 в развитии острого панкреатита и его осложнений

Т.А. Самгина*, Ю.Э. Азарова, Ю.В. Канищев, В.А. Лазаренко, П.М. Назаренко, А.В. Полоников

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

Острый панкреатит считают важной проблемой современной медицины. Особую роль в регуляции липидного обмена играет фермент фосфатидилэтанолламин-N-метилтрансфераза, который катализирует процесс метилирования фосфатидилэтанолламина в фосфатидилхолин. Данные липиды являются одними из основных компонентов мембраны митохондрий и клеточной мембраны, обеспечивая ее текучие и пластические свойства, а также участвуют в транспорте жиров, жирных кислот и холестерина. Помимо своей функции по синтезу фосфатидилхолина, метилирование фосфатидилэтанолламина способствует обороту S-аденозилметионина для синтеза цистеина и глутатиона посредством транссульфурации. PЕMТ — ген, кодирующий фермент фосфатидилэтанолламин-N-метилтрансферазу.

Цель исследования — определить значение полиморфизма PЕMТ C/T rs12449964 для риска развития острого панкреатита и его осложнений у русских жителей Центральной России.

Материалы и методы. Образцы цельной крови были собраны у от 502 неродственных больных острым небиллярным панкреатитом (97 женщин и 405 мужчин) русской национальности, находившихся на стационарном лечении в хирургических отделениях города Курска в период с 2015 по 2018 год, и 513 неродственных индивидов русской национальности без заболеваний ЖКТ (101 женщина и 412 мужчин). Средний возраст больных составил $48,9 \pm 13,1$ года, здоровых лиц — $47,89 \pm 12,1$. Геномную ДНК выделяли стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование полиморфизма (rs12449964) 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).

Результаты. Проведенное исследование показало, что частота аллеля С и генотипа C/C PЕMТC/Trs12449964 была выше в группе больных острым панкреатитом, а генотипа C/T, наоборот, в контрольной группе. Генотипы C/T–T/T обладали протективным эффектом в отношении развития инфицированного панкреонекроза, гнойно-некротического перипанкреатита и тяжелой степени тяжести острого панкреатита

Выводы: нарушение процессов метилирования фосфатидилэтанолламина повышает чувствительность клетки к окислительному стрессу, что может привести к развитию острого панкреатита.

Ключевые слова: острый панкреатит, полиморфизм генов, PЕMТ, rs12449964

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Самгина Т.А., Азарова Ю.Э., Канищев Ю.В., Лазаренко В.А., Назаренко П.М., Полоников А.В. Роль полиморфизма гена PЕMТ фосфатидилэтанолламин-N-метилтрансферазы rs12449964 в развитии острого панкреатита и его осложнений. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2019;29(5):21–25. <https://doi.org/10.22416/1382-4376-2019-29-5-21-25>

The Role of Phosphatidylethanolamine-N-methyltransferase (PEMT) Gene rs12449964 Polymorphism in the Development of Acute Pancreatitis and its Complications

Tatiana A. Samgina*, Yulia E. Azarova, Yury V. Kanishchev, Victor A. Lazarenko, Peter M. Nazarenko, Aleksey V. Polonikov

Kursk State Medical University, Kursk, Russian Federation

Background. Acute pancreatitis is considered to be an important issue in modern medicine. The phosphatidylethanolamine-N-methyltransferase enzyme plays a significant role in the regulation of lipid metabolism by catalyzing the process of methylation of phosphatidylethanolamine to phosphatidylcholine. These lipids are key components of mitochondrial and cell membranes, providing their fluid and plastic properties and participating in the transport of fats, fatty acids and cholesterol. Along with its function in the synthesis of phosphatidylcholine, the methylation of phosphatidylethanolamine promotes the turnover of S-adenosylmethionine for the synthesis of cysteine and glutathione through transsulphurisation. *PEMT* is a gene encoding the phosphatidylethanolamine-N-methyltransferase enzyme.

Aim. To determine the role of *PEMT* C/T rs12449964 polymorphism in the risk of developing acute pancreatitis and its complications among Russian residents in Central Russia.

Materials and methods. Whole blood samples were collected from 502 unrelated patients with acute non-biliary pancreatitis (97 women and 405 men) of Russian nationality who had been admitted to the surgical departments of the city of Kursk from 2015 to 2018, as well as from 513 unrelated individuals of Russian nationality without gastrointestinal diseases (101 women and 412 men). The average age of patients and healthy individuals was 48.9 ± 13.1 and 47.89 ± 12.1 years, respectively. Genomic DNA was isolated by a standard phenol-chloroform extraction method. Genotyping of rs12449964 polymorphism was performed using real-time PCR by allelic discrimination using a CFX96 Bio-Rad Laboratories amplifier (USA) with TaqMan probes and commercial TaqMan SNP Genotyping Assays reagents purchased from Applied Biosystems (USA).

Results. The study has shown that the frequency of the C allele and the C/C *PEMT* C/T rs12449964 genotype was higher in the group of patients with acute pancreatitis, while the C/T genotype was predominant in the control group. C/T — T/T genotypes demonstrated a protective effect on the development of infected pancreatic necrosis, purulent necrotic peripancreatitis and severe acute pancreatitis.

Conclusions. The disruption of phosphatidylethanolamine methylation processes increases the sensitivity of cells to oxidative stress, which can lead to the development of acute pancreatitis.

Keywords: acute pancreatitis, gene polymorphism, *PEMT*, rs12449964

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

For citation: Samgina T.A., Azarova Yu.E., Kanishchev Yu.V., Lazarenko V.A., Nazarenko P.M., Polonikov A.V. The Role of Phosphatidylethanolamine-N-methyltransferase (*PEMT*) Gene rs12449964 Polymorphism in the Development of Acute Pancreatitis and its Complications. Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology. 2019;29(5):21–25. <https://doi.org/10.22416/1382-4376-2019-29-5-21-25>

Острый панкреатит (ОП) считают важной социальной и экономической проблемой современной медицины в связи с высокой распространенностью патологии, развитием осложнений и инвалидизацией пациентов. За последние 30 лет отмечена общемировая тенденция к увеличению заболеваемости ОП более чем в два раза [1].

В развитие заболевания вносят вклад как генетическая предрасположенность и сложное взаимодействие множества генов, так и различные факторы внешней среды. Вопросы, затрагивающие генетические механизмы развития панкреатита и его осложнений, на данный момент изучены недостаточно.

К факторам риска развития острого панкреатита относят нарушения жирового обмена [2, 3]. Многочисленные зарубежные и отечественные исследования указывают на возможную патогенетическую связь между часто регистрируемой у больных гипертриглицеридемией (ГТГ) и острым панкреатитом [4, 5], хотя механизмы этой взаимосвязи остаются невыясненными.

Фермент фосфатидилэтаноламин-N-метилтрансфераза играет важную роль в регуляции липидного обмена, так как катализирует процесс метилирования фосфатидилэтаноламина в фосфатидилхолин. Данные липиды являются основными компонентами мембраны митохондрий и клеточной мембраны,

обеспечивают ее текучие и пластические свойства, а также участвуют в транспорте жиров, жирных кислот и холестерина.

PEMT — ген, кодирующий фермент фосфатидилэтаноламин-N-метилтрансферазу, экспрессируется в печени, сердце, жировой ткани и поджелудочной железе.

Опубликовано небольшое количество работ, посвященных полиморфным вариантам гена *PEMT*, авторами обнаружены ассоциации с патогенетическими механизмами при ишемическом инсульте и ИБС [6, 7].

Целью данного исследования является определение значения полиморфизма rs12449964 гена *PEMT* для риска развития острого панкреатита и его осложнений у русских жителей Центральной России.

Материалы и методы исследования

Материалом для исследования послужили образцы ДНК, полученные от 502 неродственных больных острым небилиарным панкреатитом (97 женщин и 405 мужчин) русской национальности, находившихся на стационарном лечении в хирургических отделениях города Курска в период с 2015 по 2018 год, и 513 неродственных индивидов русской национальности без заболеваний

ЖКТ (101 женщина и 412 мужчин). Средний возраст больных составил $48,9 \pm 13,1$ года, здоровых лиц — $47,8 \pm 12,1$.

Диагноз устанавливали с использованием современной классификации острого панкреатита, разработанной Российским обществом хирургов в 2014 году с учетом классификации Атланта-92 и ее модификаций, предложенных в г. Кочин в 2011 году, Международной ассоциацией панкреатологов (International Association of Pancreatology) и Международной рабочей группой по классификации острого панкреатита (Acute Pancreatitis Classification Working Group) в 2012 году, с использованием общеклинических, лабораторных (общий и биохимический анализ крови) и инструментальных (УЗИ и МРТ поджелудочной железы, ЭФГДС) методов исследования. От всех больных получено информированное согласие на участие в исследовании.

У всех обследуемых проводился забор венозной крови для проведения молекулярно-генетического анализа. Геномную ДНК выделяли стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование полиморфизма (rs12449964) 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%-ную воспроизводимость оригинальных результатов. Для оценки ассоциаций аллелей и генотипов гена с риском развития острого панкреатита использовали критерий χ^2 и отношение шансов (OR) с 95%-ми доверительными интервалами (CI). Статистический анализ осуществлялся с использованием программы Statistica 10.0 (StatSoft, США), программы SNPStats.

Результаты исследования и их обсуждение

Распределение частот генотипов полиморфизма *PEMT* C/T rs12449964 и результаты тестирования на соответствие равновесию Харди–Вайнберга в общей выборке русских жителей Центрально-Черноземного района соответствовали ожидаемому при равновесии Харди–Вайнберга ($p = 0,1$).

Частоты аллелей и генотипов полиморфизма *PEMT* C/T rs12449964 представлены в таблицах 1 и 2. Как видно из таблицы 1, аллель С и генотип C/C ассоциирован с ОП, генотип C/T чаще встречается в группе здоровых индивидов.

Проведенное исследование показало, что частота аллеля С и генотипа C/C *PEMT* C/T rs12449964 была выше в группе больных острым панкреатитом, а генотипа C/T, наоборот, в контрольной группе. Генотипы C/T–T/T обладали протективным эффектом в отношении развития инфицированного панкреонекроза, гнойно-некротического перипанкреатита и тяжелой степени тяжести острого панкреатита.

S-аденозилметионин (SAM) является донором метила для биологических модификаций метилирования, которые регулируют функции белков и нуклеиновых кислот. Метилирование фосфатидилэтаноламина является основным потребителем SAM. Индукция генов биосинтеза фосфолипидов сопровождается индукцией фермента, который гидролизует S-аденозилгомоцистеин (SAH), продукт и ингибитор метилтрансфераз. Помимо своей функции по синтезу фосфатидилхолина, метилирование фосфатидилэтаноламина способствует обороту SAM для синтеза цистеина и глутатиона посредством транссульфурации. Клетки, в которых отсутствует метилирование фосфатидилэтаноламина, накапливают SAM, что приводит к гиперметилированию гистонов и основной фосфатазы PP2A, зависимости от цистеина и чувствительности к окислительному

Таблица 1. Частоты аллелей и генотипов полиморфизма *PEMT* C/T rs12449964 в группах больных острым панкреатитом и здоровых лиц

Table 1. Allele and *PEMT* C/T rs12449964 genotype polymorphism frequencies in the groups of acute pancreatitis patients and healthy individuals

Генотипы/аллели Genotype/allele	Больные ОП AP patients		Здоровые лица Healthy individuals		<i>p</i>	$_{cor}$ OR (95 % CI)
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%		
Сравнение групп больных ОП (<i>n</i> = 502) и здоровых лиц (<i>n</i> = 513) Comparison between AP patients (<i>n</i> = 502) and healthy individuals (<i>n</i> = 513)						
C/C	233	46,4	176	34,3	0,001	0,60 (0,47–0,78)
C/T	202	40,2	268	52,2	0,0002	0,62 (0,48–0,79)
T/T	67	13,3	69	13,4	0,996	0,99 (0,69–1,42)
C	0,67		0,6		0,004	0,77 (0,64–0,92)
T	0,33		0,4			

Таблица 2. Анализ ассоциации генотипов полиморфизма *PEMT* C/T rs12449964 с клиническими формами осложнениями острого панкреатита (наиболее значимые модели)

Table 2. Analysis of *PEMT* C/T rs12449964 polymorphism genotype association with the clinical forms of complication of acute pancreatitis (the most significant models)

Ген (SNP ID) Gene (SNP ID)	Генотип Genotype	n (%)		$_{\text{cor}}$ OR (95 % CI)	p
		здоровые healthy (n = 513)	больные patients (n = 502)		
<i>PEMT</i> C/T rs12449964	С инфицированным панкреонекрозом Infected pancreatic necrosis				
	C/C	202 (36 %)	43 (51,2 %)	1,00	0,005^D
	C/T–T/T	359 (64 %)	41 (48,8 %)	0,51 (0,32–0,82)	
	С гнойно-некротическим перипанкреатитом Purulent necrotic peripancreatitis				
	C/C	202 (36 %)	48 (50 %)	1,00	0,0055^D
	C/T–T/T	359 (64 %)	48 (50 %)	0,53 (0,34–0,83)	
	С тяжелым течением острого панкреатита Severe acute pancreatitis				
	C/C	202 (36 %)	52 (50,5 %)	1,00	0,0033^D
	C/T–T/T	359 (64 %)	51 (49,5 %)	0,52 (0,34–0,81)	

Примечание: p – уровень значимости; $_{\text{cor}}$ OR (95 % CI) – отношения шансов и 95%-ные интервалы, скорректированные по возрасту пациентов.

Note: p – significance level; $_{\text{cor}}$ OR (95 % CI) – odds ratio and 95 % intervals corrected by the patient age.

стрессу [8]. J.W. Knowles и соавт. (2012) также определили роль рискового аллеля С в развитии атеросклеротических сердечно-сосудистых заболеваний [7].

Литература / References

1. Ермолов А.С., Филимонов М.И., Благовестнов Д.А. Острый панкреатит. Абдоминальная хирургия. Национальное руководство: краткое издание. под ред. И.И. Затевахина, А.И. Кириенко, В.А. Кубышкина. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. 912 с. [Ermolov A.S., Filimonov M.I., Blagovestnov D.A. Acute pancreatitis. Abdominal surgery. National Guide: Short Edition. Eds. I.I. Zatevakhin, A.I. Kiriienko, V.A. Kubyshekin. Moscow: GEOTAR-Media, 2016. 912 p. (In Rus.)].
2. Багненко С.Ф., Гольцов В.Р. Острый панкреатит – современное состояние и нерешенные проблемы. Альманах института хирургии им. А.В. Вишневского. 2008;3(3):104–12. [Bagnenko S.F., Goltsov V.R. Acute pancreatitis – current status and unresolved issues. Almanac of A.V. Vishnevsky Institute of Surgery. 2008;3(3):104–12 (In Rus.)].
3. LaRusch J., Whitcomb D.C. Genetics of pancreatitis. Curr Opin Gastroenterol. 2011;27(5):467–74. DOI: 10.1097/MOG.0b013e328349e2f8
4. Lindkvist B., Appelros S., Regnér S., Manjer J. A prospective cohort study on risk of acute pancreatitis related to serum triglycerides, cholesterol and fasting glucose. Pancreatology. 2012;12(4):317–24.
5. Tsuang W., Navaneethan U., Ruiz L., Palascak J. B., Gelrud A. Hypertriglyceridemic pancreatitis: presentation and management. The American journal of gastroenterology. 2009;104(4):984.
6. Dichgans M., Malik R., König I.R., Rosand J., Clarke R., Gretarsdottir S., O'Donnell C.J. Shared genetic susceptibility to ischemic stroke and coronary artery disease: a genome-wide analysis of common variants. Stroke. 2014;45(1):24–36. DOI: 10.1161/STROKEAHA.113.002707
7. Knowles J.W., Assimes T.L., Kiernan M., Pavlovic A., Goldstein B.A. Randomized Trial of Personal Genomics for Preventive Cardiology Circulation: Cardiovascular Genetics. 2012;5:368–76. DOI: 10.1161/CIRCGENETICS.112.962746
8. Ye C., Sutter B. M., Wang Y., Kuang Z., Tu B. P. A metabolic function for phospholipid and histone methylation. Molecular cell. 2017;66(2):180–93.

Сведения об авторах

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

Азарова Юлия Эдуардовна — кандидат медицинских наук, доцент кафедры биологической химии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.
Контактная информация: azzzzar@yandex.ru;
305000, г. Курск, ул. Карла Маркса, д. 3.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8098-8052>

Канищев Юрий Васильевич — доктор медицинских наук, профессор кафедры хирургических болезней ФПО ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.
Контактная информация: doctoryuriy@mail.ru;
305000, г. Курск, ул. Карла Маркса, д. 3.
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7781-8733>

Назаренко Петр Михайлович — доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой хирургических болезней № 2 ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.
Контактная информация: surgery.facultetskaya@mail.ru;
305000, г. Курск, ул. Карла Маркса, д. 3.
ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4961-1382>

Полоников Алексей Валерьевич — доктор медицинских наук, профессор кафедры биологии, медицинской генетики и экологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.
Контактная информация: polonikov@rambler.ru;
305000, г. Курск, ул. Карла Маркса, д. 3.
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6280-247X>

Лазаренко Виктор Анатольевич — ректор, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой хирургических болезней ФПО ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.
Контактная информация: kurskmed@mail.ru;
305000, г. Курск, ул. Карла Маркса, д. 3.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2069-7701>

Information about the authors

Tatiana 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>

Yulia E. Azarova — Cand. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Department of Biological Chemistry, Kursk State Medical University.
Contact information: azzzzar@yandex.ru;
305000, Kursk, Karla Marksa str., 3.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8098-8052>

Yury V. Kanishchev — Dr. Sci. (Med.), Prof., Department of Surgical Diseases, Kursk State Medical University.
Contact information: doctoryuriy@mail.ru;
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7781-8733>

Peter M. Nazarenko — Dr. Sci. (Med.), Prof., Departmental Head, Department of Surgical Diseases No. 2, Kursk State Medical University.
Contact information: surgery.facultetskaya@mail.ru;
305000, Kursk, Karla Marksa str., 3.
ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4961-1382>

Aleksey V. Polonikov — Dr. Sci. (Med.), Prof., Department of Biology, Medical Genetics and Ecology, Kursk State Medical University.
Contact information: polonikov@rambler.ru;
305000, Kursk, Karla Marksa str., 3.
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6280-247X>

Victor A. Lazarenko — Dr. Sci. (Med.), Prof., Rector, Departmental Head, Department of Surgical Diseases, Kursk State Medical University.
Contact information: kurskmed@mail.ru;
305000, Kursk, Karla Marksa str., 3.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2069-7701>

Поступила: 28.07.2019 Принята после доработки: 02.09.2019 Опубликована: 30.10.2019
Submitted: 28.07.2019 Revised: 02.09.2019 Published: 30.10.2019

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author