

AKUUTILLE ALKOHOLIHAIMATULEHDUKSELLE ALTISTAVAT GEENIT

Pihla Pakkanen
Syventävien opintojen kirjallinen työ
Tampereen yliopisto
Lääketieteen yksikkö
Maaliskuu 2016

Tampereen yliopisto
Lääketieteen yksikkö
Haimatutkimusryhmä

PAKKANEN PIHLA: AKUUTILLE ALKOHOLIHAIMATULEHDUKSELLE
ALTISTAVAT GEENIT

Kirjallinen työ, 18 s.
Ohjaaja: dosentti Johanna Laukkarinen

Tammikuu 2016

Avainsanat: akuutti pankreatiitti, geenipolymorfia, mutaatio, patogeneesi

Akuutin haimatulehduksen ilmaantuvuus on Suomessa suurempi kuin monissa muissa Euroopan maissa ja alkoholi aiheuttaa Suomessa 70 % haimatulehdustapauksista. 2-3 % alkoholin suurkuluttajista sairastuu elämänsä aikana akuuttiin haimatulehdukseen. Tutkimuksen tarkoituksena oli verrata toisiinsa kolmea potilasryhmää ja selvittää, oliko näiden ryhmien välillä eroa eri muuttujien suhteen.

Ensimmäisen ryhmän muodostivat yhden alkoholi-haimatulehduksen sairastaneet, toiseen ryhmään kuuluivat potilaat, joilla on ollut vähintään kolme alkoholin aiheuttamaa haimatulehdusta ja kontrolliryhmään alkoholin suurkuluttajat, jotka eivät olleet sairastaneet haimatulehdusta. Haimatulehdus määriteltiin alkoholin aiheuttamaksi, kun muut etiologiset tekijät oli poissuljettu ja alkoholin suurkulutus varmistettu AUDIT-kyselyllä.

Ensimmäisen alkoholi-haimatulehduksen sairastaneiden ryhmässä oli vähemmän naisia, heidän painoindeksinsä oli suurempi, he tupakoivat vähemmän ja käyttivät vähemmän huumausaineita kuin alkoholin suurkuluttajien muodostama kontrolliryhmä. Vertailuryhmän potilaat käyttivät viikossa enemmän alkoholia, heillä oli enemmän maksasairauksia ja heidän seerumin ionisoituneen kalsiumin pitoisuus oli suurempi. Toistuvia alkoholin aiheuttamia haimatulehduksia sairastaneiden ryhmässä oli enemmän miehiä kuin vertailuryhmässä, mutta kontrolliryhmän potilaat käyttivät viikoittain enemmän alkoholia, heidän AUDIT-pisteensä ja kerralla käyttämä alkoholimäärä olivat suurempia ja seerumin ionisoituneen kalsiumin pitoisuus oli korkeampi.

Työ tulee olemaan osa laajempaa tutkimusta, jossa selvitetään akuutille alkoholi-haimatulehdukselle altistavia genejä. Työssä todettiin, että kolmen potilasryhmän välillä on eroja tiettyjen muuttujien suhteen, joten nämä muuttujat tulee ottaa huomioon geenitutkimuksen tilastoanalyysia tehdessä.

Tämän opinnäytteen alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck-ohjelmalla Tampereen yliopiston laatu järjestelmän mukaisesti.

SISÄLLYSLUETTELO

1 JOHDANTO	1
1.1 Akuutin haimatulehduksen epidemiologia	1
1.2 Akuutin haimatulehduksen aiheuttajat ja sille altistavat tekijät	1
1.3 Akuutin alkoholi-haimatulehduksen patogeneesi.....	2
1.4 Akuutissa alkoholi-haimatulehduksessa tutkitut geenit	3
1.4.1 Tunnetut perinnölliselle krooniselle haimatulehdukselle altistavat geenimutaatiot...	5
1.4.2 Alkoholimetaboliaan osallistuvat entsyymit	7
1.4.3 Tulehduksen välittäjäaineet.....	8
1.4.4 Glutathioni-S-transferaasi ja gammaglutamyylitransferaasi.....	10
1.5 Tutkimuksen tarkoitus	10
2 AINEISTO JA MENETELMÄT	11
3 TULOKSET	13
3.1 Ensimmäisen alkoholi-haimatulehduksen sairastaneet (ryhmä 1)	13
3.2 Vähintään kolme alkoholi-haimatulehdusta sairastaneet (ryhmä 2).....	13
3.3 Kontrolliryhmä (ryhmä 3).....	13
3.4 Ensimmäisen alkoholi-haimatulehduksen sairastaneet verrattuna kontrolliryhmään	14
3.5 Toistuvia alkoholi-haimatulehduksia sairastaneet verrattuna kontrolliryhmään.....	15
4 POHDINTA	17

1 JOHDANTO

1.1 Akuutin haimatulehduksen epidemiologia

Haimatulehduksen ilmaantuvuus on Suomessa suurempi kuin monissa muissa Euroopan maissa. Akuutin ja kroonisen haimatulehduksen ilmaantuvuus Suomessa kasvoi vuosina 1972–1989 58 prosenttia, eli 46,6:sta 73,4:ään/100 000 asukasta/vuosi. Miehillä vakavien akuuttien haimatulehdusten osuus kaikista haimatulehdustapauksista kasvoi 8,1 %:sta 14,0 %:in vuosina 1977–1989. Vakavan akuutin haimatulehduksen insidenssi on Suomessa 5,3/100 000/vuosi. (Jaakkola ja Nordback 1993) Akuutin haimatulehduksen vuoksi sairaalahoitoon joutuneiden määrä kasvoi Suomessa vuosina 1987–2007 miehillä 57:stä 69:ään/100 000/vuosi ja naisilla 7:stä 12:een/100 000/vuosi (Sand ym. 2009).

1.2 Akuutin haimatulehduksen aiheuttajat ja sille altistavat tekijät

Suomessa akuutin haimatulehduksen yleisin syy on alkoholi, joka aiheuttaa 70 % kaikista haimatulehdustapauksista (Nordback ja Sand 2006). Alkoholin aiheuttama haimatulehdus on yleisempi miehillä ja afroamerikkalaisilla ja siihen sairastutaan keskimäärin 30–40-vuotiaana (Pandol ym. 2011, Gullo ym. 2005). On arvioitu, että 2-3 % alkoholin suurkuluttajista sairastuu elämänsä aikana akuuttiin haimatulehdukseen, ja että sitä edeltävä alkoholinkulutus on ollut yli 100 g päivässä vähintään viiden vuoden ajan (Lankisch ym. 2015, Cappell 2008). Muita akuutin haimatulehduksen aiheuttajia ovat sappitiehytkivet, endoskooppinen retrogradinen kolangiografia (ERCP), hypertriglyseridemia, IgG4-autoimmuunihaimatulehdus, vatsan alueen traumat, infektiot, lääkkeet, hyperkalsemia, kasvaimet, leikkaukset, Oddin sfinkterin toimintahäiriö ja anatomiset poikkeavuudet, kuten pancreas divisum (Cappell 2008). Myös tupakointi lisää akuutin haimatulehduksen riskiä ja runsaasti tupakoivilla, jotka käyttävät alkoholia vähintään 400 g kuukaudessa, sairastumisriski on yli nelinkertainen. Tyypin 2 diabeteksen on todettu altistavan akuutille haimatulehdukselle. (Lankisch ym. 2015) Kuitenkin noin 5-10 %:ssa tapauksista haimatulehduksen etiologia jää epäselväksi (Nordback ja Sand 2006).

1.3 Akuutin alkoholihaimatulehduksen patogeneesi

Akuutissa haimatulehduksessa haiman asinussolut kuolevat, minkä lisäksi haimaan kehittyy paikallinen inflammaatioreaktio, joka voi edetä systeemiseksi (Pandol ym. 2011).

Trypsinogeenin aktivaation estyminen häiriintyy, mikä edistää inflammaatiokaskadin etenemistä. Vapaiden rasvahappojen etyyliesterit (fatty acid ethyl ester, FAEE), asetaldehydi ja substanssi P aktivoivat transkriptiotekijöitä NF- κ B:tä ja AP-1:tä, mikä lisää proinflammatoristen sytokiinien ja kemokiinien tuotantoa (Vonlaufen ym. 2008, Thrower ym. 2008). Myös etanoli lisää NF- κ B:n aktivaatiota (Pandol ym. 2011). Akuutissa haimatulehduksessa tuumorinekroositekijä-alfan, interleukiini-1 β :n ja interferoni-gamman pitoisuudet nousevat, jolloin proinflammatorisen sytokiinin interleukiini-32:n määrä kasvaa pankreaattisissa periasinaarisissa fibroblasteissa (Thrower ym. 2008).

Akuutissa haimatulehduksessa tapahtuu asinussolujen kuolemista sekä apoptoosin että nekroosin kautta. Etanoli estää apoptoosia ja edistää nekroosia. (Gukovskaya ym. 2006) Tämä voi johtua siitä, että etanoli aiheuttaa mitokondriaalista dysfunktiota ja vähentää kaspasimolekyylien ilmentymistä (Pandol ym. 2011). Lisäksi intra-asinaarinen trypsinogeenin aktivaatio katepsiini B:n välityksellä voi johtaa asinussolunekroosiin (Pandol ym. 2011, Apte ym. 2010). Transkriptiotekijä XBP1 suojaaa haimaa alkoholin toksisilta vaikutuksilta, sillä se auttaa ohjaamaan solukuolemaa apoptoosin suuntaan nekroosin sijaan (Pandol ym. 2011). Nekroosista seuraa inflammatorinen vaste ja siihen liittyy huono ennuste (Gukovskaya ym. 2006).

Alkoholimetabolia tapahtuu pääosin maksassa, mutta sitä tavataan tämän lisäksi myös haimassa. Etanolin oksidatiivisessa metaboliassa alkoholidehydrogenaasi muuttaa etanolin asetaldehydiksi ja edelleen etikkahapoksi. (Apte ym. 2010) Alkoholidehydrogenaasia avustavat sytokromi P4502E1 (CYP2E1) ja katalaasi (Wilson ja Apte 2003). Etanolin oksidatiivisessa metaboliassa nikotiiniamidiadeniinidinukleotidin (NAD) määrä vähenee ja laktaattipitoisuus nousee, mikä johtaa soluvaurioon (Apte ym. 2010). Asetaldehydi estää kolekystokiniinivälitteistä asinussolusekreetiota ja metabolian sivutuotteena muodostuu vapaita happiradikaaleja (reactive oxygen species, ROS), jotka aiheuttavat soluvaurioita (Vonlaufen ym. 2008). Lisäksi haiman karboksyyliesterilipaasi esteröi non-oksidatiivisesti etanolia ja vapaita rasvahappoja rasvahapon etyyliestereiksi, jotka sitoutuessaan inositoli-

trifosfaattireseptoriin saavat aikaan kalsiumin vapautumisen sytosoliin (Pandol ym. 2011, Apte ym. 2005, 2010). Solunsisäisen kalsiumpitoisuuden nousu johtaa lopulta asinussolunekroosiin (Pandol ym. 2011). Tämän lisäksi FAEE:t aktivoivat trypsinogeeniä ja destabiloivat lysosomeja (Apte ym. 2005, Wilson ja Apte 2003).

Alkoholi vaikuttaa lisäksi haiman asinussolujen autofagisiin ja lysosomaalisiin toimintoihin (Pandol ym. 2011). Alkoholi vähentää lysosomien ja tsymogeenirakkuloiden stabiliteettia, jolloin ruoansulatus- ja lysosomaaliset entsyymit pääsevät aiheuttamaan autodigestiivisen vaurion. Etanoli stimuloi näiden entsyymien synteesiä ja pitkään jatkuneen runsaan alkoholin käytön on osoitettu vähentävän ruoansulatusentsyymien sekreetiota asinussoluista. Nämä tekijät yhdessä johtavat siihen, että entsyymien määrä asinussoluissa kasvaa. (Apte ym. 2010) Lisäksi etanoli suurentaa solunsisäistä kalsiumpitoisuutta, mikä edistää trypsinogeenin muuttumista trypsiiniksi (LaRusch ja Whitcomb 2012).

1.4 Akuutissa alkoholihaimatulehduksessa tutkitut geenit

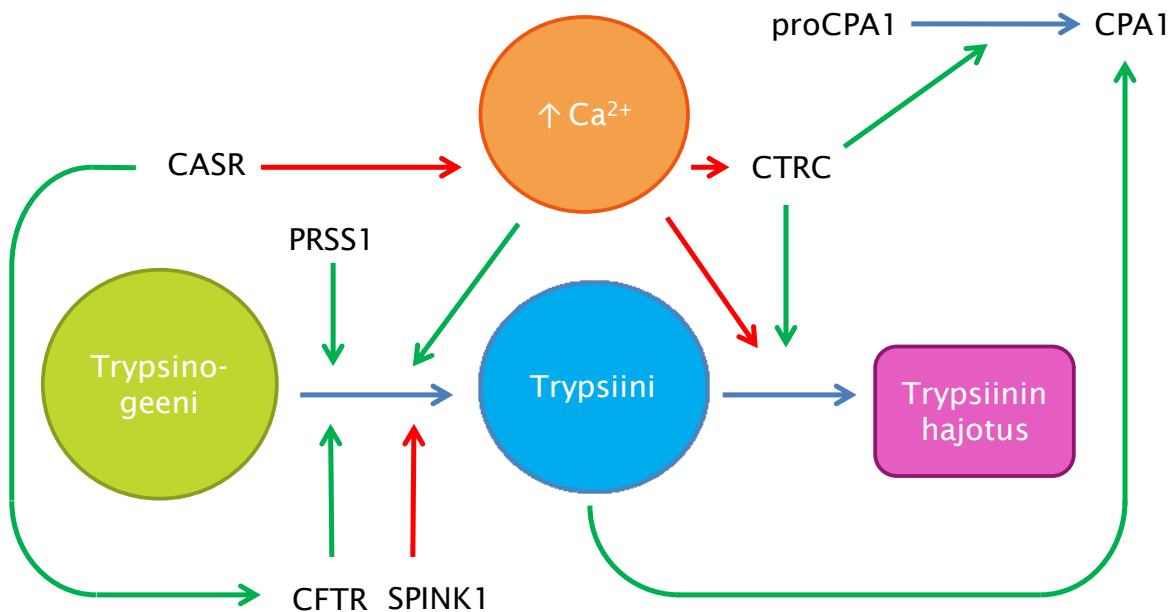
Useissa tutkimuksissa on selvitetty eri geenien merkitystä akuutin alkoholin aiheuttaman haimatulehduksen kehittymisessä. Tärkeimmät tiedot tutkimuksista on koottu taulukkoon 1.

Taulukko 1. Julkaisut, joissa on tutkittu geenejä, jotka mahdollisesti altistavat akuutille alkoholihaimatulehdukselle. Kohdissa, joissa verrokkiryhmä on jaettu kahteen osaan, ensimmäinen luku kuvaa alkoholin suurkuluttajien määrää ja toinen luku terveiden verrokkien määrää. +-merkki tutkitun geenin perässä merkitsee, että tutkimuksessa todettiin tilastollisesti merkitsevä yhteys geenin ja akuutin alkoholihaimatulehduksen välillä ja –merkki sitä, että yhteyttä ei ollut.

Kirjoittaja, julkaisu vuosi	Potilaat (n)	Verrokkit (n)	Tutkitut geenit
Chao ym., 1997	48	94	ADH2 +/- ADH2 – ALDH2 – CYP2E1 –
Chao ym., 2000	87	175 + 241	ADH2 + ADH3 – ALDH2 –
Chao ym., 2005	100	235	CD14 +
deMadaria ym., 2008	5	79	TNF- α – IL-1 – IL-6 – IL-10 –
Kume ym., 2009	174	378	PRSS2 –
O'Reilly ym., 2008	468	1117	SPINK1 –
Masamune ym., 2010	346	319	CD14 –
Miyasaka ym., 2005	52	328	CEL – ALDH2 –
Rahman ym., 2004	66	263	GST –
Smithies ym., 2000	36	300	IL-1 –
Takaqi ym., 2009	202	286	TLR2 + TLR4 –
Tukiainen ym., 2008	214	70 + 230	TNF – CD14 – HSPA1B –
Yang ym., 2001	19	46 + 155	CYP2E1 –
Zhang ym., 2005	23	116	IL-1 – IL-10 – CD14 –

1.4.1 Tunnetut perinnölliselle krooniselle haimatulehdukselle altistavat geenimutaatiot

Useiden geenimutaatioiden on todettu altistavan krooniselle haimatulehdukselle ja joidenkin merkitystä on tutkittu myös akuutissa alkoholin aiheuttamassa haimatulehduksessa. Kyseisten geenien vaikutusmekanismeja on koottu kuvaan 1.



Kuva 1. Geneettisten tekijöiden vaikutus trypsinogeenin aktivoitumiseen. Vihreät nuolet kuvaavat geenien ja kalsiumpitoisuuden nousun myönteistä vaikutusta toiseen geeniin tai tapahtumaan ja punaiset nuolet estävää vaikutusta. CASR = kalsiumia aistiva reseptori, CPA1 = karboksipeptidaasi 1, CTRC = kymotrypsiini C, PRSS1 = kationinen trypsinogeeni 1, SPINK1 = seriinipeptidaasi-inhibiittorigeeni Kazal tyyppi 1. (Mukaillen Whitcomb 2010)

Seriinipeptidaasi-inhibiittorigeeni Kazal tyyppi 1 (SPINK1) koodaa pankreaattista sekretorista trypsiini-inhibiittoria, joka estää trypsinogeenin liian aikaista aktivoitumista haimassa (Whitcomb 2012, Chowdhury ja Gupta 2006). SPINK1-geenin merkitys alkoholi-indusoidun kroonisen haimatulehduksen kehittymisessä on varsin pieni, mutta sen tiedetään altistavan hereditääriselle haimatulehdukselle (Whitcomb 2012, Hanck ym. 2003). Tukiainen ym. (2005) selvitti SPINK1-geenimutaatioiden yhteyttä akuuttiin haimatulehdukseen. SPINK1-geenin N34S-polymorfia oli yleisempi akuuttiin haimatulehdukseen sairastuneilla (n = 371) kuin terveillä verrokeilla (n = 459; p < 0,001). Mutaatio oli yleisempi alkoholin aiheuttamaan haimatulehdukseen (9,1 %) kuin sappikivihaimatulehdukseen sairastuneilla (4 %), mutta ero ei ollut tilastollisesti merkitsevä

($p = 0,22$). Tutkimuksessa ei kuitenkaan selvitetty, oliko N34S-polymorfia tilastollisesti merkitsevästi yleisempi alkoholihaimatulehdukseen sairastuneilla kuin verrokkiryhmässä. Sukupuolten välillä ei todettu eroja polymorfian yleisyydessä. SPINK1-geenin P55S-mutaatiolla ei todettu olevan yhteyttä akuutin haimatulehduksen kehittymiseen. O'Reillyn ym. (2008) julkaisemassa työssä N34S-polymorfian todettiin altistavan akuutille alkoholihaimatulehdukselle ($p < 0,001$). Tutkimukseen osallistui 110 akuutin alkoholihaimatulehduksen sairastanutta ja 1117 tervettä verrokkia.

Mutaatiot CFTR-geenissä (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) aiheuttavat tunnetusti kystistä fibroosia. CFTR-geenin koodaama proteiini on haiman epiteelisolujen apikaalipinnan kloridi- ja bikarbonaattikanava ja lisäksi se säätelee muiden ionikanavien toimintaa. Mutaatio CFTR-geenissä vähentää bikarbonaattieritystä, jolloin haimatiehyiden pH laskee ja trypsinogeenin autoaktivaatio lisääntyy. (Ooi ja Durie 2012) Lisäksi tsymogeenien huuhtoutuminen haimasta kohti ruoansulatuskanavaa vaikeutuu (Whitcomb 2012). Mutaatiot CFTR-geenissä altistavat perinnölliselle haimatulehdukselle ja niillä saattaa olla vaikutusta kroonisen alkoholihaimatulehduksen kehittymisessä (Hanck ym. 2003, Whitcomb 2012, Kondo ym. 2013). CFTR-geenin mutaatioiden merkitystä akuutin alkoholihaimatulehduksen kehittymisessä ei ole tutkittu.

R122H- ja N291-mutaatiot kationista trypsinogeeniä koodaavassa geenissä (PRSS1) voivat aiheuttaa tsymogeenien liian aikaista aktivoitumista haimassa. (Hanck ym. 2003, Pezzilli ja Morselli-Labate 2009). Tällä on merkitystä perinnöllisen kroonisen haimatulehduksen kehittymisessä mutta ei kroonisessa alkoholihaimatulehduksessa (Hanck ym. 2003). Ei tiedetä, altistavatko PRSS1-geenipolymorfiat akuutille alkoholihaimatulehdukselle. Anionista trypsinogeeniä koodaava PRSS2-geenin p.G191R-polymorfia suojaaa krooniselta haimatulehdukselta (Witt ym. 2006). Kume ym. (2009) totesi, että PRSS-2-geenin p.G191R-mutaatiolla ei ollut merkitystä akuutin alkoholihaimatulehduksen kehittymisessä, kun verrattiin 59 akuutin haimatulehduksen sairastanutta potilasta ja 378 tervettä verrokkia.

Kymotrypsiini C (CTRC) on proteiini, joka hajottaa trypsiiniä ja trypsinogeeniä ja suojaaa siten haimaa trypsiinin aiheuttamilta vaurioilta. CTCRC-geenin p.R254W-polymorfian on todettu altistavan krooniselle alkoholihaimatulehdukselle. (Rosendahl ym. 2008)

Karboksipeptidaasit ovat haiman erittämiä metalloproteaaseja, jotka hydrolysoivat ravinnon polypeptidejä C-terminaalipäästä alkaen. A-tyyppin karboksipeptidaasit 1 ja 2 (CPA1 ja CPA2) pilkkovat aromaattisia ja alifaattisia aminohappoja. Trypsiini ja CTRC katalysoivat proCPA1:n muuttumista CPA1:ksi. Mutaatioiden CPA1-geenissä on todettu altistavan krooniselle haimatulehdukselle, joka ei ole alkoholin aiheuttama. CPA1 ei vaikuta trypsinogeenin aktivoitumiseen tai hajottamiseen, mutta mutaatiot CPA1-geenissä aiheuttavat virheitä proteiinin laskostumisessa. (Masamune ym. 2014) CPA1-geenin mutaatioiden yhteyttä akuuttiin alkoholihaimatulehdukseen ei ole vielä tutkittu.

Kalsiumia aistiva reseptori (CASR) on G-proteiinikytkentäinen reseptori ja sitä esiintyy haimassa sekä asinus- että tiehytsoluissa. Ekstrasellulaarisen kalsiumpitoisuuden nousu aktivoi reseptorin, mikä saa aikaan haiman bikarbonaattierityksen aktivoitumisen. Lisääntynyt bikarbonaatin erityys voi puolestaan lisätä trypsinogeenin aktivoitumista trypsiiniksi. CASR:n arvellaan myös säätelevän CFTR-kanavan avautumista. CASR-geenin mutaatioiden on todettu altistavan krooniselle haimatulehdukselle. (LaRusch ja Whitcomb, 2012)

Whitcomb ym. (2012) selvitti julkaisussaan, että klaudiini-2-geenin mutaatiot ovat yhteydessä krooniseen haimatulehdukseen ja Derikx ym. (2015) havaitsi niiden altistavan myös alkoholin aiheuttamalle krooniselle haimatulehdukselle. Klaudiini-2 (CLDN2) on tiiviin liitoksen proteiini, joka muodostaa kationiselektiivisen ioni- ja vesikanavan endoteelisolujen välille, jolloin ionit ja vesi pääsevät kulkeutumaan tiehytsoluista haimatiehyen luumeniin. (LaRusch ja Whitcomb 2012)

1.4.2 Alkoholimetaboliaan osallistuvat entsyymit

Alkoholimetaboliaan osallistuvista entsyymeistä alkoholihydrogenaasi-2-geenin (ADH2) polymorfioilla saattaa olla merkitystä akuutin alkoholihaimatulehduksen kehittymisessä (Chao ym. (2000). Sen sijaan aldehydidehydrogenaasi-2- ja alkoholidehydrogenaasi-3-geenin (ALDH2, ADH3) polymorfioilla ei vaikuttaisi olevan yhteyttä sairastumisriskiin. Chaon ym. (2000) raportoimassa tutkimuksessa mukana oli 87 akuutin alkoholihaimatulehduksen sairastanutta, 175 alkoholista, joilla oli jokin alkoholiperäinen

sairaus, mutta jotka eivät olleet sairastaneet akuuttia haimatulehdusta, sekä 241 verrokkia. Chao ym. esitti samansuuntaisia tuloksia myös vuonna 1997 julkaisemassaan tutkimuksessa, jossa todettiin ADH2-2-polymorfian olevan yleisempi akuutin alkoholihaimatulehduksen sairastaneilla potilailla verrattuna alkoholimaksakirroosia sairastaviin potilaisiin ($p < 0,01$). Tilastollisesti merkitsevää eroa ei kuitenkaan todettu verrattaessa akuutin alkoholihaimatulehduksen sairastaneita potilaita alkoholisteihin, joilla ei ollut maksasairauksia tai haimatulehdusta. Tähän tutkimukseen osallistui 48 akuutin alkoholihaimatulehduksen sairastanutta, 75 maksakirroosipotilasta ja 19 alkoholista. Myöskään Miyasaka ym. (2005) ei todennut ALDH2-geenipolymorfioiden altistavan akuutille alkoholihaimatulehdukselle. Tutkimuksessa oli mukana 52 akuutin alkoholihaimatulehduksen sairastanutta ja 328 miesverrokkia, jotka eivät olleet alkoholisteja. Samassa tutkimuksessa todettiin, että karboksyyliesterilipaasigeenin polymorfioilla ei ole merkitystä akuutin alkoholihaimatulehduksen kehittymisessä.

Sytokromi P450IIE1 -entsyymi (CYP2E1) osallistuu etanolin oksidatiiviseen metaboliaan ja sitä esiintyy maksan lisäksi myös haimassa (Lieber 1997, Foster ym. 1993). Yangin ym. (2001) mukaan mutaatioilla CYP2E1-geenissä ei kuitenkaan ole merkitystä akuutin alkoholihaimatulehduksen kehittymisessä. Tähän tutkimukseen osallistui 19 akuutin alkoholihaimatulehduksen sairastanutta, 46 alkoholin suurkuluttajaa ja 155 tervettä verrokkia. Myös Chao ym. (1997, 2000) on raportoinut, että CYP2E1-geenipolymorfiat eivät altista akuutille alkoholihaimatulehdukselle.

1.4.3 Tulehduksen välittäjäaineet

CD14-reseptoria esiintyy monosyyttien pinnalla ja mikrobiaalisten rakenteiden kiinnittyminen siihen saa aikaan Tollin kaltaisten reseptoreiden (Toll-like receptor, TLR) välityksellä monosyyttien aktivoitumisen (Janeway ja Medzhitov 2002, Landmann ym. 2000). Tukiainen ym. (2008) mukaan TNF- α :n, CD14- ja lämpösokkiproteiini-1B- (HSPA1B) geenipolymorfiat eivät altista akuutille alkoholihaimatulehdukselle. Tutkimukseen osallistui 214 akuutin alkoholihaimatulehduksen ja 300 verrokkipotilaista, joista 70 oli alkoholin suurkuluttajaa, eikä tilastollisesti merkittävää eroa havaittu näiden ryhmien välillä. Japanilaisessa työssä (Masamune ym. 2010) ei todettu CD14-geenin polymorfioiden -260C/T ja -651C/T olevan yhteydessä sairastumisriskiin. Tutkimukseen

osallistui 143 akuutin alkoholihaimatulehduksen sairastanutta ja 319 tervettä verrokkia. Verrokkien alkoholinkäyttöä ei ollut tässä tutkimuksessa otettu huomioon. Sen sijaan Chaon ym. (2005) mukaan CD14-geenin CC-genotyyppi altistaa akuutille alkoholihaimatulehdukselle. Tutkimuksessa oli mukana 100 akuutin alkoholihaimatulehduksen sairastanutta ja 235 alkoholista, jotka eivät olleet sairastaneet akuuttia haimatulehdusta. Takagi ym. (2009) selvitti TLR2-geenin polymorfoiden vaikutusta akuutin haimatulehduksen kehittymiseen vertaamalla keskenään 64 akuutin alkoholihaimatulehduksen sairastanutta ja 286 tervettä verrokkia. SS-, SL- ja MM-genotyyppien todettiin olevan yleisempiä akuutin alkoholihaimatulehduksen sairastaneilla kuin terveillä verrokeilla ($p < 0,01$). TLR4-geenin polymorfioilla vastaavaa yhteyttä ei kuitenkaan todettu.

de-Madaria ym. (2008) ei todennut TNF- α -, IL-1-, IL-6- ja IL-10-geenien polymorfoiden altistavan akuutille alkoholihaimatulehdukselle. Tutkimukseen osallistui 5 akuutin alkoholihaimatulehduksen sairastanutta ja 79 akuutin haimatulehduksen sairastanutta, joilla ei ollut taustalla alkoholinkäyttöä. Myöskään Zhangin ym. (2005) mukaan IL-1-, IL-10- ja CD14-geenien polymorfiat eivät lisää vaikean akuutin alkoholihaimatulehduksen riskiä. Tutkimuksessa oli mukana 23 vaikean akuutin alkoholihaimatulehduksen sairastanutta ja 116 tervettä verrokkia. Smithiesin ym. (2000) tutkimuksessa IL-1-geenin polymorfioilla ei todettu olevan yhteyttä riskiin sairastua akuuttiin alkoholihaimatulehdukseen, kun 36 akuutin alkoholihaimatulehduksen sairastanutta verrattiin 300 terveeseen verrokkiin. Myös Yin ym. (2013) tutki meta-analyysissään interleukiinigeenien mutaatioiden merkitystä akuutin haimatulehduksen kehittymisessä. Tutkimuksessa todettiin, että IL-8-geenin 251 A-polymorfialla on yhteys korkeampaan riskiin sairastua akuuttiin haimatulehdukseen, mutta IL-1 β -, IL-6- ja IL-10-geenien polymorfioilla ei sen sijaan ollut.

Monosyyttien kemotaktinen proteiini 1 (MCP-1) -geenin alleelin -2518 G on todettu olevan yhteydessä akuutin haimatulehduksen vaikeusasteeseen siten, että potilailla, joilla on kyseinen alleeli, haimatulehduksen vaikeusaste on vakavampi. Papachristoun ym. (2005) tutkimuksessa ei kuitenkaan tarkasteltu erikseen akuutin haimatulehduksen etiologisia tekijöitä, eikä voida sanoa, lisääkö kyseinen geenipolymorfia sairastumisriskiä akuuttiin alkoholihaimatulehdukseen.

1.4.4 Glutathioni-S-transferaasi ja gammaglutamyylitransferaasi

Glutathioni-S-transferaasit (GST) konjugoivat alkoholimetaboliassa muodostuvia vapaita happiradikaaleja glutathioniin, mikä vähentää oksidatiivista stressiä (Vonlaufen ym. 2008, Wu ja Dong 2012). Rahmanin ym. (2004) mukaan GSTT-1-, GSTM-1- ja GSTP-1-polymorfioilla ei ole vaikutusta akuutin alkoholihaimatulehduksen kehittymiseen, kun verrattiin keskenään 66 akuutin alkoholihaimatulehduksen sairastanutta ja 263 tervettä verrokkia.

Gammaglutamyylitransferaasi 1-geenin (GGT1) mutaatioiden on todettu olevan yhteydessä haimasyöpään, mutta Brand ym. (2013) yhdistivät sen myös riskiin sairastua krooniseen haimatulehdukseen. Tutkimuksessa ei tosin todettu yhteyttä sairastua alkoholin aiheuttamaan krooniseen haimatulehdukseen. GGT ylläpitää intrasellulaarista glutathionipitoisuutta ja sen pitoisuus kertoo solujen oksidatiivisesta stressistä. GGT-pitoisuuden nousua tavataan alkoholin väärinkäytön yhteydessä. (Brand ym. 2013)

1.5 Tutkimuksen tarkoitus

Tutkimuksen tarkoituksena oli verrata toisiinsa kolmea potilasryhmää ja selvittää, oliko näiden ryhmien välillä eroa eri muuttujien suhteen. Työ on osa laajempaa tutkimusta, jossa selvitetään, mitkä geenit altistavat akuutille alkoholin aiheuttamalle haimatulehdukselle.

2 AINEISTO JA MENETELMÄT

Tutkimukseen kerättiin kolme potilasryhmää. Ryhmän 1 muodostivat ensimmäisen alkoholihaimatulehduksen sairastaneet ja ryhmään 2 kuuluivat potilaat, joilla oli ollut vähintään kolme alkoholin aiheuttamaa haimatulehdusta. Ensimmäiseen ja toiseen ryhmään rekrytoidut potilaat olivat olleet hoidossa Tampereen Yliopistollisessa sairaalassa alkoholihaimatulehduksen vuoksi. Ryhmän 3 (vertailuryhmä) potilaat kerättiin Tampereen kuntoutumiskeskus Vipuselta, jossa järjestetään katkaisu- ja vieroitushoitoja tamperelaisille päihteidenkäyttäjille. Ryhmän potilaat olivat alkoholin suurkuluttajia, jotka eivät kuitenkaan olleet sairastuneet alkoholin aiheuttamaan akuuttiin haimatulehdukseen. Aineisto oli kerätty Tampereen haimaryhmän tutkijoiden toimesta aikavälillä 1.1.2004–30.11.2012.

Akuutti haimatulehdus diagnosoitiin tautiin sopivan kliinisen kuvan, kolminkertaiseksi nousseen amylaasiarvon, kuvantamislöydösten ja tulehdusarvojen nousun perusteella. Muut haimatulehduksen aiheuttajat poissuljettiin vatsan ultraäänitutkimuksella ja seerumin kalsium- ja lipidiarvojen perusteella, ellei niitä ollut mitattu viimeisen kolmen vuoden aikana. Haimatulehdus määriteltiin alkoholin aiheuttamaksi, kun muut etiologiset tekijät oli poissuljettu ja alkoholin suurkulutus varmistettu AUDIT-kyselyllä (Alcohol Use Disorders Identification Test). Tiedot selvitettiin ensisijaisesti potilaiden sairauskertomusteksteistä ja puuttuvat tiedot täydennettiin tutkimushetkellä.

Tutkitut muuttujat olivat potilaiden ikä, sukupuoli, painoindeksi, sappikivitaudin ja maksasairauksien esiintyminen, plasman triglyseridipitoisuuden paastoarvo ja seerumin ionisoituneen kalsiumin pitoisuus. Lisäksi selvitettiin tutkittavien tupakointi, huumausaineiden käyttö, AUDIT-pisteet, kerralla käytetty alkoholimäärä ja viikoittainen alkoholin kulutus. Yksi alkoholiannos vastasi 12 g puhdasta etanolia.

Pirkanmaan sairaanhoitopiirin eettinen toimikunta oli antanut tutkimuksesta puoltavan lausunnon (R02098). Tutkimukseen osallistuminen oli vapaaehtoista ja potilaiden oli mahdollista keskeyttää tutkimus missä vaiheessa tahansa.

Tilastolliset menetelmät. Aineisto analysoitiin SPSS-ohjelman versiolla 20 ja tilastollisesti merkitsevänä p-arvona pidettiin arvoa $\leq 0,05$. Numeerisille muuttujille käytettiin Mann-Whitney U-testiä ja kategorisille muuttujille Fisherin testiä.

3 TULOKSET

3.1 Ensimmäisen alkoholihaimatulehduksen sairastaneet (ryhmä 1)

Ensimmäisen akuutin alkoholihaimatulehduksen sairastaneiden ryhmään kuului 62 potilasta, joista 54 (87,1 %) oli miehiä ja 8 (12,9 %) naisia. Potilaiden ikä oli 57,0 vuotta ja painoindeksi (body mass index, BMI) 27,5 kg/m². Potilaista neljällä (6,5 %) oli sappikivitauti, joka oli todennettu ultraäänitutkimuksella. 50 % (n = 31) ryhmän potilaista tupakoi tutkimushetkellä tai oli tupakoinut viimeisen kolmen vuoden aikana. Potilaiden AUDIT-pisteiden mediaani oli 20,5 ja he käyttivät kerralla 10,0 annosta alkoholia. Ryhmän potilaat käyttivät viikossa keskimäärin 312 g alkoholia ja tutkimushetkellä kaksi (3,2 %) ryhmän potilaista käytti huumausaineita. Yhdelläkään potilaista ei ollut diagnosoitua maksasairautta. Ryhmän potilaiden seerumin triglyseridipitoisuus oli 1,38 mmol/l ja ionisoituneen kalsiumin pitoisuus 1,21 mmol/l.

3.2 Vähintään kolme alkoholihaimatulehdusta sairastaneet (ryhmä 2)

Ryhmään, jonka muodostivat vähintään kolme alkoholihaimatulehdusta sairastaneet, kuului 43 potilasta. Heistä 42 (97,7 %) oli miehiä ja yksi (2,3 %) oli nainen. Potilaat olivat keskimäärin 55,0 vuoden ikäisiä ja heidän BMI:nsä oli 26,3. Kolme potilaista sairasti sappikivitautia (7,0 %) ja 31 (72,1 %) tupakoi tutkimushetkellä tai kuluneen kolmen vuoden aikana. Kahdella (4,7 %) potilaista oli jokin maksasairaus. Toistuvia alkoholihaimatulehduksia sairastaneet käyttivät viikossa 397 g alkoholia ja heidän AUDIT-pisteensä olivat 16,0. He käyttivät kerralla alkoholia keskimäärin 8,0 annosta. Kolme (7,0 %) käytti tutkimushetkellä huumausaineita ja potilaiden seerumin triglyseridipitoisuuden mediaani oli 1,24 mmol/l ja ionisoituneen kalsiumin pitoisuus 1,21 mmol/l.

3.3 Kontrolliryhmä (ryhmä 3)

Alkoholin suurkuluttajien muodostamaan vertailuryhmään kuului 98 potilasta, joista 67 (68,4 %) oli miehiä ja 31 (31,6 %) naisia. Heidän BMI:nsä oli keskimäärin 24,9 ja ikä 55,0 vuotta. Potilaiden AUDIT-pisteet olivat 33,0 ja he käyttivät viikossa 1176 g alkoholia.

Kerralla he käyttivät 20,0 annosta alkoholia. Kuusi (6,12 %) potilaista sairasti sappikivitautia ja 9 (9,2 %) maksasairautta. Tutkimushetkellä 81 (82,7 %) potilasta tupakoi ja 14 (14,3 %) käytti huumaavia aineita. Potilaiden veren triglyseridipitoisuus oli keskimäärin 1,30 mmol/l ja ionisoituneen kalsiumin pitoisuus 1,25 mmol/l.

3.4 Ensimmäisen alkoholihaimatulehduksen sairastaneet verrattuna kontrolliryhmään

Ensimmäisen alkoholihaimatulehduksen sairastaneiden ryhmässä oli tilastollisesti merkitsevästi vähemmän naisia kuin alkoholin suurkuluttajien muodostamassa kontrolliryhmässä ($p = 0,008$). Myös potilaiden BMI oli tässä ryhmässä suurempi ($p = 0,002$), mutta he tupakoivat kontrolliryhmää vähemmän ($p = 0,000$). Vertailuryhmän potilaat käyttivät viikossa enemmän alkoholia kuin ensimmäisen haimatulehduksen sairastaneet ($p = 0,000$) ja heillä oli enemmän maksasairauksia ($p = 0,007$). Huumausaineiden käyttö oli vähäisempää ensimmäisen alkoholihaimatulehduksen sairastaneilla ($p = 0,030$). Ryhmien välillä ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa iän, sappikivitaudin esiintyvyyden ja seerumin triglyseridipitoisuuden suhteen. Sen sijaan vertailuryhmän potilaiden seerumin ionisoituneen kalsiumin pitoisuus oli korkeampi kuin ensimmäisen alkoholin aiheuttaman haimatulehduksen sairastaneilla ($p = 0,000$). Tulokset on koottu taulukkoon 2.

Taulukko 2. Ensimmäisen alkoholihaimatulehduksen sairastaneet verrattuna kontrolliryhmään.

	Ensimmäisen alkoholihaimatulehduksen sairastaneet, n = 62	Kontrolliryhmä, n = 98	p-arvo
Sukupuoli, miehiä (%)	54 (87,1 %)	67 (68,4 %)	0,008
Ikä, v	57,0 ± 13,1	55,0 ± 9,1	0,973
BMI, kg/m ²	27,5 ± 4,7	24,9 ± 4,3	0,002
Sappikivitauti (%)	4 (6,5 %)	6 (6,1 %)	1,000
Maksasairaus (%)	0	9 (9,2 %)	0,007
fP-Trigly, mmol/l	1,38 ± 2,45	1,30 ± 1,13	0,324
S-Ca-Ion, mmol/l	1,21 ± 0,13	1,25 ± 0,04	0,000
Tupakoi tutkimushetkellä tai viimeisen kolmen vuoden aikana (%)	31 (50,0 %)	81 (82,7 %)	0,000
AUDIT, pisteet	20,5 ± 10,4	33,0 ± 6,3	0,000
Kerralla käytetyt alkoholiannokset	10,0 ± 6,9	20,0 ± 9,5	0,000
Alkoholimäärä, g/vko	312 ± SD 460	1176 ± SD 801	0,000
Huumausaineiden käyttö tutkimushetkellä (%)	2 (3,2 %)	14 (14,3 %)	0,030

Tulokset on kuvattu muodossa mediaani ± keskihajonta tai lukumäärä (prosenttiosuus). AUDIT = Alcohol Use Disorders Identification Test, BMI = painoindeksi, fP-Trigly = plasman triglyseridipitoisuuden paastoarvo, S-Ca-Ion = seerumin ionisoituneen kalsiumin pitoisuus.

3.5 Toistuvia alkoholihaimatulehduksia sairastaneet verrattuna kontrolliryhmään

Toistuvia alkoholin aiheuttamia haimatulehduksia sairastaneiden ryhmässä oli enemmän miehiä kuin vertailuryhmässä ($p = 0,000$), mutta potilaiden iällä ja painoindeksillä ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa ($p = 0,937$; $p = 0,214$). Kontrolliryhmän potilaat käyttivät viikoittain enemmän alkoholia kuin toistuvia haimatulehduksia sairastaneet ($p = 0,000$) ja lisäksi heidän AUDIT-pisteensä ja kerralla käyttämä alkoholimäärä olivat korkeampia ($p = 0,000$; $p = 0,000$). Sappikivitaudin tai maksasairauksien esiintyvyydessä ei ollut eroa ryhmien välillä, kuten ei myöskään tupakoinnin tai huumausaineiden käytön yleisyydessä. Seerumin ionisoituneen kalsiumin pitoisuus oli korkeampi vertailuryhmän potilailla ($p =$

0,000), mutta triglyseridipitoisuudessa ei ollut eroa ryhmien välillä (p = 0,544). Tutkimustulokset on kuvattu taulukossa 3.

Taulukko 3. Toistuvia alkoholihaimitulehduksia sairastaneet verrattuna kontrolliryhmään.

	Toistuvia alkoholihaimitulehduksia sairastaneet, n = 43	Kontrolliryhmä, n = 98	p-arvo
Sukupuoli, miehiä (%)	42 (97,7 %)	67 (68,4 %)	0,000
Ikä, v	55,0 ± 11,8	55,0 ± 9,1	0,937
BMI, kg/m ²	26,3 ± 2,8	24,9 ± 4,3	0,214
Sappikivitauti (%)	3 (7,0 %)	6 (6,1 %)	1,000
Maksasairaus (%)	2 (4,7 %)	9 (9,2 %)	0,504
fP-Trigly, mmol/l	1,24 ± 1,43	1,30 ± 1,13	0,544
S-Ca-Ion, mmol/l	1,21 ± 0,08	1,25 ± 0,04	0,000
Tupakoi tutkimushetkellä tai viimeisen kolmen vuoden aikana (%)	31 (72,1 %)	81 (82,7 %)	0,177
AUDIT, pisteet	16,0 ± 11,2	33,0 ± 6,3	0,000
Kerralla käytetyt alkoholiannokset	8,0 ± 6,9	20,0 ± 9,5	0,000
Alkoholimäärä, g/vko	397 ± 645	1176 ± 801	0,000
Huumausaineiden käyttö tutkimushetkellä (%)	3 (7,0 %)	14 (14,3 %)	0,173

Tulokset on kuvattu muodossa mediaani ± keskihajonta tai lukumäärä (prosenttiosuus). AUDIT = Alcohol Use Disorders Identification Test, BMI = painoindeksi, fP-Trigly = plasman triglyseridipitoisuuden paastoarvo, S-Ca-Ion = seerumin ionisoituneen kalsiumin pitoisuus.

4 POHDINTA

Tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää mahdollisia eroavaisuuksia ensimmäisen alkoholihaimatulehduksen sairastaneiden, toistuvia alkoholihaimatulehduksia sairastaneiden ja alkoholin suurkuluttajien välillä. Tutkimuksessa todettiin, että ryhmät eivät olleet keskenään täysin samanlaisia. Eroja löytyi ryhmien sukupuolijakaumassa, tupakoinnin yleisyydessä, huumausaineiden käytössä, seerumin kalsiumpitoisuudessa ja maksasairauksien esiintymisessä. Plasman triglyseridipitoisuuden paastoarvon viitearvo on alle 2,0 mmol/l ja kaikissa ryhmissä triglyseridipitoisuus oli alle tämän rajan. Myös seerumin ionisoituneen kalsiumin pitoisuus oli kaikissa ryhmissä viitealueella 1,20–1,35 mmol/l.

Käytetyn alkoholin määrässä oli oletetusti eroja ryhmien välillä. Vaikka alkoholin suurkuluttajat käyttivät tilastollisesti merkitsevästi enemmän alkoholia kuin haimatulehduksen sairastaneet, alkoholin käytön riskirajat ylittyivät myös näissä ryhmissä. Korkean riskin raja on miehille 23–24 alkoholiannosta viikossa, kun ensimmäisen haimatulehduksen sairastaneet voivat alkoholia keskimäärin 26 ja toistuvia haimatulehduksia sairastaneet 33 annosta viikossa (Alkoholiongelman hoito. Käypä hoito -suositus. www.kaypahoito.fi). Alkoholin suurkuluttajat käyttivät alkoholia sen sijaan 98 annosta viikossa eli huomattavasti enemmän kuin kahden muun ryhmien potilaat. Tämä tukee sitä tietoa, että alkoholihaimatulehduksen kehittyminen ei riipu pelkästään juodun alkoholin määrästä, vaan siihen vaikuttaa myös muita tekijöitä. Myös ryhmien AUDIT-pisteet ylittivät alkoholin kohtuullisen käytön rajat. Alkoholin ongelmakäytön rajana pidetään miehillä 8 pistettä, mutta ensimmäisen haimatulehduksen sairastaneet saivat AUDIT-kyselystä 20,5 pistettä, toistuvia haimatulehduksia sairastaneet 16,0 pistettä ja alkoholin suurkuluttajat 33,0 pistettä (Alkoholiongelman hoito. Käypä hoito -suositus. www.kaypahoito.fi).

Sappikivitaudin esiintyvyydessä ei havaittu eroa ryhmien välillä. Tiedetään, että sappitietiehytkivet altistavat akuutille haimatulehdukselle, mutta muun muassa Walcher ym. (2010) osoitti tutkimuksessaan, että alkoholin käyttö suojaa sappikivitaudilta (OR 0,67; 95

% luottamusväli 0,46–0,99). Eri ryhmissä sappikivitaudin prevalenssi vaihteli 6,12–6,98 %:n välillä, kun esiintyvyys eurooppalaisessa väestössä on keskimäärin 10–20 % (Yoo ja Lee, 2009). Tulosta selittää se, että ryhmän 1 ja 2 potilailta oli ultraäänitutkimuksella osoitettu mahdollisen sappikivitaudin olevan niin lieväasteinen, ettei se yksinään aiheuttanut haimatulehdusta.

Useimmissa töissä, joissa tutkittiin akuutille haimatulehdukselle altistavia geenejä, tutkimuspotilaiden demografisia tietoja ei esitetty haimatulehduksen etiologian mukaan. Kumen ym. 2009 tutkimuksessa akuutin alkoholi-haimatulehduksen sairastaneiden iän keskiarvo oli $43,2 \pm 10,9$ vuotta ja 49 (83,1 %) heistä oli miehiä ja 10 naisia. He olivat siis nuorempia ja heistä hieman suurempi osa oli naisia kuin tämän tutkimuksen ensimmäisen alkoholi-haimatulehduksen sairastaneista. Myös Chaon ym. (1997) tutkimuksessa alkoholin aiheuttamaan haimatulehdukseen sairastuneiden ikä oli nuorempi ($41,6 \pm 10,8$ v), mutta sukupuolijakauma oli samanlainen (42 miestä (87,5 %), 6 naista (12,5 %)) kuin tässä työssä. Potilaat käyttivät alkoholia 133 ± 66 g päivässä eli $11,1 \pm 5,5$ annosta, mikä oli enemmän kuin tämän tutkimuksen yhden alkoholi-haimatulehduksen sairastaneilla. Tutkimuksessa oli verrokkeina alkoholin suurkuluttajia, joiden ikä oli $49,9 \pm 10,6$ v, kaikki 19 (100 %) olivat miehiä ja heidän päivittäinen alkoholin käyttönsä oli 203 ± 90 g. Alkoholi-haimatulehduksen sairastaneet olivat tilastollisesti merkitsevästi nuorempia ja he käyttivät vähemmän alkoholia kuin alkoholin suurkuluttajat ($p < 0,02$; $p < 0,002$). Alkoholi-haimatulehdukseen sairastuneiden ikä oli nuorempi myös Chaon ym. tutkimuksissa vuosilta 2005 ja 2000 ($40,2 \pm 11,7$ v; $40,8 \pm 11,0$ v). Vuoden 2005 tutkimuksessa suurin osa potilaista oli miehiä (95 miestä, 5 naista) ja heidän päivittäinen alkoholin käyttönsä oli runsaampaa (143 ± 93 g) kuin vuoden 2000 tutkimuksessa (78 miestä ja 9 naista, 137 ± 76 g).

Tämä työ tulee olemaan osa laajempaa tutkimusta, jossa selvitetään akuutille alkoholi-haimatulehdukselle altistavia geenejä. Tutkimuksen kannalta ideaali tilanne olisi, että tutkimusryhmät olisivat keskenään mahdollisimman samanlaisia, jolloin sekoittavien tekijöiden aiheuttama systemaattinen harha pystyttäisiin minimoimaan. Tässä työssä kuitenkin todettiin, että ryhmien välillä on eroja tiettyjen muuttujien suhteen, joten nämä muuttujat tulee ottaa huomioon geenitutkimuksen tilastoanalyysia tehdessä.

LÄHDELUETTELO

Alkoholiongelman hoito [verkkodokumentti]. Käypä hoito -suositus. Suomalaisen Lääkäriseuran Duodecimin ja Suomen Päihdelääketieteen yhdistyksen asettama työryhmä. Helsinki: Suomalainen Lääkäriseura Duodecim 2015 [päivitetty 4.11.2015]. www.kaypahoito.fi.

Apte MV, Pirola RC, Wilson JS. Mechanisms of alcoholic pancreatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2010;25:1816-26.

Apte MV, Pirola RC, Wilson JS. Molecular mechanisms of alcoholic pancreatitis. *Dig Dis* 2005;23:232-40.

Brand H, Diergaarde B, O'Connell MR, et al. Variation in the gamma-glutamyltransferase 1 gene and risk of chronic pancreatitis. *Pancreas* 2013;42:836-40.

Cappell MS. Acute pancreatitis: etiology, clinical presentation, diagnosis, and therapy. *Med Clin North Am* 2008;92:889-923.

Chao YC, Chu HC, Chang WK, et al. CD14 promoter polymorphism in Chinese alcoholic patients with cirrhosis of liver and acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2005;11:6043-8.

Chao YC, Wang LS, Hsieh TY, et al. Chinese alcoholic patients with esophageal cancer are genetically different from alcoholics with acute pancreatitis and liver cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 2000;95:2958-64.

Chao YC, Young TH, Tang HS, et al. Alcoholism and alcoholic organ damage and genetic polymorphisms of alcohol metabolizing enzymes in Chinese patients. *Hepatology* 1997;25:112-7.

Chowdhury P, Gupta P. Pathophysiology of alcoholic pancreatitis: an overview. *World J Gastroenterol* 2006;12:7421-7.

de-Madaria E, Martinez J, Sempere L, et al. Cytokine genotypes in acute pancreatitis: association with etiology, severity, and cytokine levels in blood. *Pancreas* 2008;37:295-301.

Derikx MH, Kovacs P, Scholz M, et al. Polymorphisms at PRSS1-PRSS2 and CLDN2-MORC4 loci associate with alcoholic and non-alcoholic chronic pancreatitis in a European replication study. *Gut* 2011;64:1426-33.

Foster JR, Idle JR, Hardwick JP, et al. Induction of drug-metabolizing enzymes in human pancreatic cancer and chronic pancreatitis. *J Pathol* 1993;169:457-63.

Gukovskaya AS, Mareninova OA, Odinkova IV, et al. Cell death in pancreatitis: effects of alcohol. *J Gastroenterol Hepatol* 2006;21:10-3.

Gullo L, Migliori M, Brunetti MA, et al. Alcoholic pancreatitis: new insights into an old disease. *Curr Gastroenterol Rep* 2005;7:96-100.

Hanck C, Schneider A, Whitcomb DC. Genetic polymorphisms in alcoholic pancreatitis. *Baillieres Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2003;17:613-23.

Jaakkola M, Nordback I. Pancreatitis in Finland between 1970 and 1989. *Gut* 1993;34:1255-60.

Janeway CA Jr, Medzhitov R. Innate immune recognition. *Annu Rev Immunol* 2002;20:197-216.

Kondo S, Fujiki K, Nakakuki M, et al. Polymorphisms of cftr gene in Japanese patients with chronic pancreatitis. *Pancreatol* 2013;13:45.

Kume K, Masamune A, Takagi Y, et al. A loss-of-function p.G191R variant in the anionic trypsinogen (PRSS2) gene in Japanese patients with pancreatic disorders. *Gut* 2009;58:820-4.

Landmann R, Muller B, Zimmerli W. CD14, new aspects of ligand and signal diversity. *Microbes Infect* 2000;2:295-304.

Lankisch PG, Apte M, Banks PA. Acute pancreatitis. *Lancet* 2015;386:85-96.

Larusch J, Whitcomb DC. Genetics of pancreatitis with a focus on the pancreatic ducts. *Minerva Gastroenterol Dietol* 2012;58:299-308.

Lieber CS. Cytochrome P-450E1: its physiological and pathological role. *Physiol Rev* 1997;77:517-44.

Masamune A, Kume K, Kikuta K, et al. -651C/T promoter polymorphism in the CD14 gene is associated with severity of acute pancreatitis in Japan. *J Gastroenterol* 2010;45:225-33.

Masamune A. Genetics of pancreatitis: the 2014 update. *Tohoku J Exp Med* 2014;232:69-77.

Miyasaka K, Ohta M, Takano S, et al. Carboxylester lipase gene polymorphism as a risk of alcohol-induced pancreatitis. *Pancreas* 2005;30:87-91.

Nordback I, Sand J. Vaikean haimatulehduksen hoito. *Suomen Lääkärilehti* 2006;61:4461-7.

Ooi CY, Durie PR. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene mutations in pancreatitis. *J Cyst Fibros* 2012;11:355-62.

O'Reilly DA, Witt H, Rahman SH, et al. The SPINK1 N34S variant is associated with acute pancreatitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2008;20:726-31.

Pandol SJ, Lugea A, Mareninova OA, et al. Investigating the pathobiology of alcoholic pancreatitis. *Alcohol Clin Exp Res* 2011;35:830-7.

Papachristou GI, Sass DA, Avula H, et al. Is the monocyte chemotactic protein-1 -2518 G allele a risk factor for severe acute pancreatitis?. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2005;3:475-81.

Pezzilli R, Morselli-Labate AM. Alcoholic pancreatitis: pathogenesis, incidence and treatment with special reference to the associated pain. *Int J Environ Res Public Health* 2009;6:2763-82.

Rahman SH, Ibrahim K, Larvin M, et al. Association of antioxidant enzyme gene polymorphisms and glutathione status with severe acute pancreatitis. *Gastroenterology* 2004;126:1312-22.

Rosendahl J, Witt H, Szmola R, et al. Chymotrypsin C (CTRC) variants that diminish activity or secretion are associated with chronic pancreatitis. *Nat Genet* 2008;40:78-82.

Sand J, Valikoski A, Nordback I. Alcohol consumption in the country and hospitalizations for acute alcohol pancreatitis and liver cirrhosis during a 20-year period. *Alcohol Alcohol* 2009;44:321-5.

Smithies AM, Sargen K, Demaine AG, et al. Investigation of the interleukin 1 gene cluster and its association with acute pancreatitis. *Pancreas* 2000;20:234-40.

Takagi Y, Masamune A, Kume K, et al. Microsatellite polymorphism in intron 2 of human Toll-like receptor 2 gene is associated with susceptibility to acute pancreatitis in Japan. *Hum Immunol* 2009;70:200-4.

Thrower E, Husain S, Gorelick F. Molecular basis for pancreatitis. *Curr Opin Gastroenterol* 2008;24:580-5.

Tukiainen E, Kyilanpaa ML, Kemppainen E, et al. Pancreatic secretory trypsin inhibitor (SPINK1) gene mutations in patients with acute pancreatitis. *Pancreas* 2005;30:239-42.

Tukiainen E, Kyilanpaa ML, Puolakkainen P, et al. Polymorphisms of the TNF, CD14, and HSPA1B genes in patients with acute alcohol-induced pancreatitis. *Pancreas* 2008;37:56-61.

Vonlaufen A, Wilson JS, Apte MV. Molecular mechanisms of pancreatitis: current opinion. *J Gastroenterol Hepatol* 2008;23:1339-48.

Whitcomb DC, LaRusch J, Krasinskas AM, et al. Common genetic variants in the CLDN2 and PRSS1-PRSS2 loci alter risk for alcohol-related and sporadic pancreatitis. *Nat Genet* 2012;44:1349-54.

Whitcomb DC. Genetic aspects of pancreatitis. *Annu Rev Med* 2010;61:413-24.

Whitcomb DC. Genetics of alcoholic and nonalcoholic pancreatitis. *Curr Opin Gastroenterol* 2012;28:501-6.

Wilson JS, Apte MV. Role of alcohol metabolism in alcoholic pancreatitis. *Pancreas* 2003;27:311-5.

Witt H, Sahin-Toth M, Landt O, et al. A degradation-sensitive anionic trypsinogen (PRSS2) variant protects against chronic pancreatitis. *Nat Genet* 2006;38:668-73.

Wu B, Dong D. Human cytosolic glutathione transferases: structure, function, and drug discovery. *Trends Pharmacol Sci* 2012;33:656-68.

Yang B, O'Reilly DA, Demaine AG, et al. Study of polymorphisms in the CYP2E1 gene in patients with alcoholic pancreatitis. *Alcohol* 2001;23:91-7.

Yin YW, Sun QQ, Feng JQ, et al. Influence of interleukin gene polymorphisms on development of acute pancreatitis: a systematic review and meta-analysis. *Mol Biol Rep* 2013;40:5931-41.

Yoo EH, Lee SY. The prevalence and risk factors for gallstone disease. *Clin Chem Lab Med* 2009;47:795-807.

Zhang DL, Zheng HM, Yu BJ, et al. Association of polymorphisms of IL and CD14 genes with acute severe pancreatitis and septic shock. *World J Gastroenterol* 2005;11:4409-13.