

УДК 616.344-002-031.84-07

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ БОЛЕЗНИ КРОНА: ПЕРСПЕКТИВЫ ДИАГНОСТИКИ И ПРОГНОЗА ЗАБОЛЕВАНИЯ

© 2006 г. А.Ю. Барановский, Т.Э. Иващенко, О.Б. Щукина, Н.В. Семенов

До настоящего времени актуальным вопросом остается роль генетического фактора в генезе болезни Крона (БК). Ее распространенность варьирует в различных популяциях и в среднем составляет 34–146 больных на 100 тыс. населения [1]. Сегодня нет однозначных представлений о патогенезе БК и роли генетического фактора как одного из доказанных звеньев этой цепи, а следовательно, и четко выработанной стратегии в методах терапевтического воздействия.

В 2001 г. Hugot с соавторами и Ogura с соавторами независимо друг от друга доказали существование связи БК и гена NOD2, расположенного на длинном плече 16 хромосомы в пределах локуса IBD1 (inflammatory bowel disease), который затем Международной комиссией по номенклатуре был переименован в CARD15 [2, 3]. Ogura с соавторами определили, что CARD15 представляет собой внутриклеточный протеин, экспрессируемый в моноцитах и макрофагах, который связывает липополисахариды (LPS) – компоненты оболочки бактериальных клеток – своим LRR (leucine rich repeat)-доменом. Связывание LPS с CARD15 в обычных условиях сопровождается активацией ядерного фактора (NF)- κ B [2, 3]. Авторами была высказана гипотеза, что БК – генетически детерминированная патологическая реакция организма человека на собственную кишечную микрофлору, в частности на компоненты бактериальных клеток [2, 3].

В CARD15 обнаружены три независимые мутации, ассоциированные с БК. Одна из них представляет собой вставку цитозина в 3020 положении нуклеотидной последовательности гена (3020insC), приводящей к сдвигу рамки считывания. Две других мутации являются точечными заменами, вызывающими изменение аминокислотных остатков в последовательности белка. Одна из них Arg702Trp (R702W) была выявлена с частотой 0,06 среди пациентов с БК и 0,01 среди контроля, частота другой мутации Gly908Arg (G908R) была 0,11 среди пациентов с БК и 0,04 среди контроля [2, 3].

Данные мутации модифицируют структуру LRR белка домена или смежной области и вызывают измененный ответ на LPS. Идентификация локуса IBD1 является большим достижением генетики и дальнейшее его изучение может иметь ключевое значение в понимании этиопатогенеза БК.

Исследуя действия мутации (3020insC) в NOD2 гене, Ogura выявил, что ее наличие приводит к нарушению активации ядерного фактора κ B. Эти данные свидетельствуют о ее связи с врожденным иммунным ответом на бактериальные компоненты, что подтверждает участие NOD2 гена в формировании восприимчивости к БК. В том же году авторы установили, что мутация 3020insC приводила к недостаточному ответу на LPS, особенно на LPS Сальмонеллы, Шигеллы, Клебсиеллы, Кампилобактера и Нейссерии гоноррея [2, 3]. Исследованием связи между мутацией 3020insC и БК в немецких и британских популяциях была вы-

явлена повышенная восприимчивость к БК у ее носителей [4]. При изучении пациентов с БК в Голландии (со средней продолжительностью течения заболевания 9,2 года) были получены аналогичные результаты – 3020insC мутация в CARD15 увеличивала восприимчивость к БК [5].

Однако данные исследований мутаций в NOD2 гене довольно противоречивы. Так, изучая все три мутации в NOD2 гене (R702W, G908R и 3020insC) у японцев с БК, авторы не выявили ни одной из вышеперечисленных мутаций. На основании этих данных они пришли к выводу, что NOD2/CARD15 не главная причина в восприимчивости к БК в японской популяции [6].

Таким образом, данные литературы демонстрируют генетическую гетерогенность БК среди различных наций.

При проведении опытов на модельных животных было показано, что у мышей с NOD2-мутацией отсутствует протективный иммунитет, осуществляемый за счет распознавания NOD2-геном бактериального мирамил – дипептида (МДП) (компонента LPS мембраны бактерий). Мыши были восприимчивы только к пероральной бактериальной инфекции [7]. Авторы [7] пришли к выводу, что NOD2 белок является посредником в формировании резистентности к бактериальной инфекции в пределах кишечника.

При анализе ответа цитокина IL1 β на МДП бактериальной клетки было обнаружено, что NOD2 ген обеспечивает при этом сигнал раннего иммунного ответа на патогены. При наличии мутаций в NOD2 гене происходит нарушение этого ответа, что объясняет неправильные адаптивные иммунные реакции на микробные антигены у пациентов с БК [8].

Идентификация мутаций в NOD2 гене заставила ученых обратить внимание на корреляцию генотип-фенотип при БК. Некоторые исследования подтверждают гипотезу, что мутации в NOD2 гене связаны с определенным фенотипом БК: постановка диагноза в более молодом возрасте, вовлечение в патологический процесс подвздошной кишки, илеоцекальная резекция и высокий риск постоперационных рецидивов и повторной операции [9].

Обследование канадских пациентов с БК на наличие мутаций в NOD2 гене позволило установить, что у 45,0 % из них имел место, по крайней мере, один из вариантов мутаций по сравнению с 9,0 % в группе контроля. Анализ корреляции генотип-фенотип у пациентов с БК убедительно показал связь мутаций NOD2 гена с некоторыми характерными клиническими проявлениями (вовлечение в патологический процесс подвздошной кишки) [9].

Изучая ассоциацию мутаций NOD2 гена с фенотипом БК и внекишечными проявлениями у венгерских пациентов, обнаружили высокую частоту R702W и

3020insC мутаций. Присутствие мутации коррелировало с локализацией патологического процесса в подвздошной кишке, но не со стенозирующим течением БК. Внекишечные проявления у пациентов, имеющих мутации, отмечались реже [10].

При анализе мутаций NOD2 гена у итальянских пациентов с БК выявлены существенные ассоциации только для мутаций G908R и 3020insC. Анализ корреляций между фенотипом БК и мутациями показал их связь с увеличенным риском развития стриктур и фистул у больных. Исходя из полученных данных, был сделан вывод, что определенный генотип NOD2 гена может служить предиктором возможного наличия и прогрессирования БК [11].

Z. Zhou с соавторами в 2004 г. исследовали NOD2 ген в еврейской популяции Ашкенази. Авторы показали, что мутации в NOD2 гене связаны с восприимчивостью к БК в большей степени в семейных, чем в спорадических случаях, и ассоциированы с более ранним возрастом начала болезни [12].

Таким образом, сегодня данные о корреляции генотип-фенотип неоднородны. Полагают, что ассоциация мутаций NOD2 гена с поражением подвздошной кишки может отражать существенные различия в механизмах иммунной толерантности подвздошной и ободочной кишки.

Заключение. Безусловно, идентификация первого гена предрасположенности к БК представляет собой большое научное открытие. Дальнейшее изучение генетических маркеров БК остается важным и перспективным, в том числе – для прогноза заболевания.

В настоящее время нами проводится работа по исследованию NOD2 гена у лиц с подтвержденным диагнозом БК. Наша задача – определить значимость этих мутаций в популяции северо-запада, целесообразность обследования пациентов с БК и их родственников на наличие мутаций как предикторов возможного развития заболевания, особенно в сочетании с другими биомаркерами, например, антителами к *Saccharomyces C.* Учитывая, что NOD2 ген не предрасполагает к развитию язвенного колита, возможно внедрение в клиническую практику скринингового исследования с целью дифференциальной диагностики этих заболеваний.

Мы считаем, что дальнейшее изучение генетических маркеров позволит определить природу заболевания БК, терапевтические воздействия на уровне генетических поломок, путем экспрессии иммунологически подходящих белков с целью подавления патогенных или индукции защитных иммунных реакций.

Литература

1. Адлер Г. Болезнь Крона и язвенный колит. М., 2001.
2. Ogura Y. et. al. A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease // Nature. 2001. Vol. 411. P. 603–606.
3. Hugot J.-P. et. al. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease // Nature. 2001. Vol. 411. P. 599–603.
4. Hampe J. et. al. Association between insertion mutation in NOD2 gene and Crohn's disease in German and British populations // Lancet. 2002. Vol. 360. P. 806.
5. Murillo L. et. al. CARD15 gene and the classification of Crohn's disease // Immunogenetics. 2002. Vol. 54. P. 59–61.
6. Yamazaki K. et. al. Absence of mutation in the NOD2/CARD15 gene among 483 Japanese patients with Crohn's disease // J. Hum. Genet. 2002. Vol. 47. P. 469–472.
7. Kobayashi K.S. et. al. Nod2-dependent regulation of innate and adaptive immunity in the intestinal tract // Science. 2005. Vol. 307. P. 731–734.
8. Heel van D.A. et. al. Muramyl dipeptide and toll-like receptor sensitivity in NOD2-associated Crohn's disease // Lancet. 2005. Vol. 365. P. 1794–1796.
9. Vermeire S., Wild G., Kocher K. CARD15 genetic variation in a Quebec population: prevalence, genotype-phenotype relationship, and haplotype structure // Am. J. Hum. Genet. 2002. Vol. 71. P. 74–83.
10. Lakatos L. et. al. NOD2/CARD15 mutations in Hungarian patients with Crohn's disease. Association with disease phenotype and extraintestinal manifestations // Eur. J. Gastroenterol Hepatol. 2004. Vol. 16(1). P. 55–62.
11. Giachino D., Duist van M.M., Regazzoni S. Analysis of the CARD15 variants R702W, G908R and L1007fs in Italian IBD patients // Europ. J. Hum. Genet. 2004. Vol. 12. P. 206–212.
12. Zhou Z. et. al. Variation at NOD2/CARD15 in familial and sporadic cases of Crohn's disease in the Ashkenazi Jewish population // Am. J. Hum. Genet. 2004. Vol. 74(4). P. 623–636.