

ЧАСТОТА ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА CARD15/NOD2 ПРИ БОЛЕЗНИ КРОНА

Хохлов А.Л., Рыбачков В.В., Березняк Н.В.*

Кафедра госпитальной хирургии, Ярославский государственный медицинский университет, Ярославль

УДК: 616.348-002:575.174.015.3
DOI: 10.25881/BPNMSC.2019.57.42.011

Резюме. Изучена частота двух полиморфных вариантов гена CARD15/NOD2 (Gly908Arg, Leu3020insC) у 40 пациентов с болезнью Крона. Все больные поступили в хирургический стационар в экстренном порядке. Диагноз болезни Крона ставился на основании данных клиники, ультразвукового исследования, визуальной оценки патологических изменений во время операции и гистологического исследования операционного материала. Исследования проводились в сроки от 1 года до 10 лет с момента выписки из стационара. В исследуемой группе полиморфизм гена CARD15/NOD2 по гетерозиготному варианту встречался в 35%, полиморфный вариант Leu3020insC – у 30% больных, Gly908Arg – в 2,5% случаев. Оба полиморфных варианта наблюдались у 2,5% пациентов. Полиморфный вариант Leu3020insC ассоциирован с локализацией патологического очага и доминирует при воспалении в области илеоцекального угла.

Ключевые слова: болезнь Крона, клиника, полиморфные варианты гена CARD15/NOD2.

Введение

Согласно современным представлениям в возникновении болезни Крона играют роль внешние факторы среды на фоне генетической предрасположенности [13]. Остается открытым вопрос о влиянии генетических факторов на появление заболевания. Впервые ассоциация воспалительных заболеваний кишечника с наследственной предрасположенностью была прослежена в 1963 г. [8].

В дальнейшем было проведено немало исследований наследственной предрасположенности болезни Крона [1; 3]. По данным некоторых исследований у 10–20% пациентов в семьях есть родственники первой степени родства, так же страдающие болезнью Крона [9; 12].

В подтверждение генетической теории возникновения болезни Крона в 2001 г. была выявлена связь развития заболевания с вариациями гена NOD2, так же известного как CARD15 [6; 10].

Была доказана связь мутаций в гене NOD2/CARD15 с возникновением именно терминального илеита [2; 4; 5; 15]. По данным Sands В.Е и соавт. (2010), около 20–30% пациентов с болезнью Крона имеют мутацию гена CARD15/NOD2.

Три полиморфных варианта NOD2/CARD15: Gly908Arg, Leu3020insC и Arg702Trp изначально связывались с генетической предрасположенностью к болезни Крона [7]. По современным представлениям присутствие одного полиморфного аллеля увеличивает риск развития

THE FREQUENCY OF CARD15/NOD2 POLYMORPHISM IN CROHN'S DISEASE

Khokhlov A.L., Rybachkov V.V., Bereznyak N.V.*

Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl

Abstract. The frequency of two CARD15 / NOD2 polymorphic variants (Gly908Arg, Leu3020insC) was studied in 40 patients with Crohn's disease. All patients were admitted to the surgical department according to emergency indications. The diagnosis of Crohn's disease was based on clinical data, ultrasound, visual assessment of the pathological process during the operation and histological examination of the surgical material. Studies were conducted in periods from 1 to 10 years from the date of discharge from the hospital. In the studied group, polymorphisms of the CARD15 / NOD2 were encountered with a frequency of 35%. The polymorphic variant Leu3020insC was found in 30% of patients, Gly908Arg was identified in 2.5% of patients, both polymorphic variants were identified in 2.5% of patients. The polymorphic variant Leu3020insC is associated with the localization of the pathological focus and is dominant in inflammation in the area of the ileocecal zone.

Keywords: Crohn's disease, clinic, polymorphic variants of CARD15/NOD2.

болезни Крона в 1,5–4,3 раза, а наличие двух аллелей – в 20–40 раз [2; 11].

Изложенные моменты являлись отправными для проведения настоящего исследования.

Цель исследования – изучить частоту двух полиморфных вариантов гена CARD15/NOD2 (Gly908Arg, Leu3020insC) при болезни Крона.

Материалы и методы

Полиморфные варианты гена CARD15/NOD2 изучены у 40 пациентов с болезнью Крона. Вычисления проводились с использованием критерия χ^2 (хи-квадрат). Все больные поступили в хирургический стационар в экстренном порядке. Через 12 часов от начала заболевания поступили 27,5%, через 24 часа – 22,5%, через 36 часов – 27,5% больных, остальные пациенты госпитализированы в более поздние сроки. Диагноз болезни Крона ставился на основании данных клиники, ультразвукового исследования, визуальной оценки патологических изменений во время операции и гистологического исследования операционного материала. Среди клинических проявлений болезни Крона боль в животе наблюдалась в 92,5% случаев, тошнота и рвота – в 62,5%, температура тела выше 37°С – в 37,5%, дисфункция стула – в 27,5%, кровотечение из желудочно-кишечного тракта – в 2,5% наблюдений.

Преобладали больные от 18 до 35 лет (72,5%). Частота болезни Крона у больных старше 36 лет составила

* e-mail: nvbereznyak@mail.ru

27,5%. Соотношение мужчин и женщин было равным. По локализации патологического процесса преобладали больные терминальным илеитом или илеоколитом (80%). Больные с изолированным поражением другого отдела тонкой (7,5%) или толстой кишки (12,5%) встречались реже. Колоноскопия за время госпитализации была выполнена больным с локализацией процесса в толстой кишке. Выявленные изменения подтверждали предварительный диагноз болезни Крона, больным с локализацией процесса в других отделах эндоскопическое исследование не проводилось.

Исследования проводились в сроки от 1 года до 10 лет с момента выписки из стационара. За этот период у 6 больных (15%) наблюдались рецидивы заболевания. 5 больным (12,5%) исследования проведены через 1 год после выписки, 8 (20%) – через 2 года, 4 (10%) – через 4 года, 7 (17,5%) – через 5 лет, 9 (22,5%) – через 7 лет, 7 пациентам (17,5%) – через 10 лет после выписки их хирургического стационара.

Анализ крови проводился после добровольного информированного согласия пациентов. Исследуемым образцом являлась венозная кровь, которую помещали в пробирки с антикоагулянтom ЭДТА. Биоматериал переносился в пробирку амплификатора для проведения полимеразной цепной реакции. Амплификатор обеспечивает циклический нагрев и охлаждение биоматериала, активизируя процесс расхождения цепей ДНК. При доведении содержимого до нужной температуры добавлялись праймеры, которые прикрепляются к определенным нуклеотидам, выделяя заданный участок генома. После этого вносился энзим ДНК-полимераза для активации процесса репликации и выделения полиморфизмов исследуемого гена.

В качестве контроля проведено аналогичное исследование у 40 больных с неосложненными грыжами передней брюшной стенки. Среди обследованных в этой группе паховые грыжи имели место у 22 (55%), пупочные грыжи – у 12 (30%), послеоперационные вентральные грыжи – у 6 больных (15%). Длительность грыженосительства в основном не превышала 2 лет. По возрасту больные в группе контроля не отличались от исследуемой группы. В основном преобладали пациенты от 26 до 55 лет (80%). Соотношение мужчин и женщин так же было равным. Все больные оперированы в плановом порядке. Послеоперационный период протекал без осложнений. Исследования проводились за сутки до операции.

Результаты

В исследуемой группе полиморфизм гена CARD15/NOD2 по гетерозиготному варианту встречался с частотой 35%. Полиморфный вариант Leu3020insC встречался у 12 больных (30%), Gly908Arg – у 1 больного (2,5%), у 1 больного (2,5%) были выявлены оба полиморфных варианта (табл. 1). Их распределение соответствует закону Харди-Вайберга

Табл. 1. Частота полиморфных вариантов гена CARD15/NOD2 при болезни Крона и при грыжах передней брюшной стенки

Патология	Варианты гена CARD15/NOD2	
	Leu3020insC	Gly908Arg
Болезнь Крона	13 (32,5%)	2 (5%)
Мужчины	8 (20%)	2 (5%)
Женщины	5 (12,5%)	–
До 25 лет	6 (15%)	–
От 26 до 35 лет	7 (17,5%)	1 (2,5%)
От 36 до 55 лет	–	1 (2,5%)
Вентральные грыжи	–	–

Табл. 2. Частота полиморфизма гена CARD15/NOD2 при болезни Крона в зависимости от объема операции

	Кол-во	Leu3020insC	Gly908Arg
Оперированные больные	16 (40%)	12 (75%)	1 (2,5%)
• Аппендэктомия	8 (50%)	5(62,5%)	–
• Резекция илеоцекального угла и терминального отдела тонкой кишки	5 (31%)	5 (100%)	1 (2,5%)
• Резекции участка подвздошной кишки	3 (19%)	2 (66,7%)	–
Неоперированные больные	24 (60%)	1 (4,17%)	1 (4,17%)
Всего	40 (100%)	13 (32,5%)	2 (5%)

Наиболее часто встречался полиморфный вариант Leu3020insC среди мужчин в возрасте от 18 до 35 лет (20%). Частота данного варианта у женщин в этом возрасте не превышает 12,5%. В группе от 36 до 55 лет полиморфных вариантов Leu3020insC не выявлено. Вариант Gly908Arg встретился у 2 больных (5%) мужского пола 26 и 43 лет. В контрольной группе полиморфизма гена не выявлено.

Дальнейшие исследования показали, что частота полиморфизма гена CARD15/NOD2 в 9 раз выше в группе оперированных больных (75%), по сравнению с частотой полиморфизма в группе больных, которым проводилась консервативная терапия (8,3%). После резекции илеоцекального угла частота полиморфизма – 100%, после резекции участка подвздошной кишки – 66,7%, после аппендэктомии – 62,5% (табл. 2).

У всех больных с выявленным полиморфизмом гена CARD15/NOD2 патологический процесс локализовался в илеоцекальной зоне. При локализации процесса в других отделах тонкой или толстой кишки полиморфизма не выявлено.

Выводы

При болезни Крона частота полиморфизма гена достигает 35%. Полиморфный вариант Leu3020insC ассоциирован с локализацией патологического очага и доминирует при воспалении в области илеоцекального угла. Появление полиморфного варианта Gly908Arg в определенной степени может свидетельствовать о возможном рецидиве заболевания.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Дорофеев, А.Э., Звягинцева, Т.Д., Харченко, Н.В. Заболевания кишечника. // Горловка: Ліхтар – 2010. – 532. [Dorofeev, A.E., Zvyaginceva, T.D., Harchenko, N.V. Zabolevaniyakishechnika. // Gorlovka: Lihtar – 2010. – 532].
2. Ahmad, T., Armuzzi, A., Bunce, M., Mulcahy Hawes, K., Marshall, S.E., Orchard, T.R., Crawshaw, J., Large, O., de Silva, A., Cook, J.T., Barnardo, M., Cullen, S., Welsh, K.I., Jewell, D.P. The molecular classification of the clinical manifestations of Crohn's disease // *Gastroenterology*. – 2002. – 122. – 854–866.
3. Bengtson, M.B., Solberg, I.C., Aamodt, G., Jahnsen, J., Moum, B., Vatn, M.H. Relationships between inflammatory bowel disease and perinatal factors: both maternal and paternal disease are related to preterm birth of offspring // *Inflamm. Bowel. Dis.* – 2010. – 16 (5). – 847–855.
4. Cuthbert, A.P., Fisher, S.A., Mirza, M.M., King, K., Hampe, J. The contribution of NOD2 gene mutations to the risk and site of disease in inflammatory bowel disease. // *Gastroenterology*. – 2002. – 122. – 867–874.
5. Hampe, J., Grebe, J., Nikolaus, S., Solberg, C., Croucher, P.J. Association of NOD2 (CARD 15) genotype with clinical course of Crohn's disease: a cohort study. // *Lancet*. – 2002. – 359. – 1661–1665.
6. Hugot, J-P., Chamaillard, M., Zouali, H. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. // *Nature*. – 2001. – 411. – 599–603.
7. Inohara, N., Ogura, Y., Fontalba, A., et al. Host recognition of bacterial muramyl dipeptide mediated through NOD2. Implications for Crohn's disease // *J. Biol. Chem.* – 2003. – 278. – 5509–5512.
8. Kirsner, J.B., Spencer, J.A. Family occurrences of ulcerative colitis, regional enteritis, and ileocolitis. // *Ann. Intern. Med.* – 1963. – 59. – 133–144.
9. Mc Govern, D.P.B., Heel, D.V., Ahmad, T., Jewell, D.P. NOD2 (CARD 15) the first susceptibility gene for Crohn's disease. // *Gut*. – 2001. – 49. – 752–754.
10. Ogura, Y., Bonen, D.K., Inohara, N. A frameshift mutation in Nod2 associated with susceptibility to Crohn's disease. // *Nature*. – 2001. – 411. – 603–606.
11. Ogura, Y., Lala, S., Xin, W., Smith, E., Dowds, T.A., Chen, F.F., Zimmermann, E.M., Tretiakova, M., Cho, J.H., Hart, J. Expression of NOD2 in Paneth cells: a possible link to Crohn's ileitis // *Gut*. – 2003. – 52. – 1591–1597.
12. Peeters, M., Vermeire, S., Rutgeerts, P. Genetics and IBD: What to tell our patients today? // *Falk Symp.* – 1998. – 106–111.
13. Satsangi, J., Jewell, D.P. The genetics of inflammatory bowel disease (Leading article). // *Gut*. – 1997. – 40 (5). – 572–574.
14. Sands, B.E., Siegel, C.A. Crohn's disease. In: Feldman M, Friedman LS, Brandt LJ, eds. *Sleisenger & Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease*. 9th ed. Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier; 2010: chap 111.
15. Vermeire, S., Wild, G., Kocher, K., Cousineau, J., Dufresne, L. CARD15 genetic variation in a Quebec population: prevalence, genotype-phenotype relationship, and haplotype structure. // *Am J Hum Genet* – 2002. – 71. – 74–83.