

Г.Д. Фадеенко, д.м.н., професор, А.С. Попович, ГУ «Національний інститут терапії ім. Л.Т. Малої НАМН України», г. Харків

Достижения генетики и геномики в гастроэнтерологии

Научные достижения последних десятилетий в области молекулярной биологии существенно расширили и дополнили представления как о самой природе человека, так и о формировании его патологических состояний и болезнях. Появилась новая наука – многомерная биология (high dimensional biology), которая сегодня рассматривается как основа медицины XXI века. Многомерная биология включает ряд направлений: геномику, протеомику, транскриптомику, РНОмику, метаболомику, биоинформатику.

Геномика – идентификация всех генов (ДНК) человека и нарушений в них, приводящих к наследственным заболеваниям, определение предрасположенности к ним. Протеомика – идентификация и количественное определение всех индивидуальных белков, которые содержатся в образце (сыворотке крови, спинномозговой жидкости, моче, биопсии), и мониторинг изменения их концентраций (протеом – совокупность всех белков, содержащихся в данном образце; возможно проанализировать до 10 тыс. индивидуальных белков в одном образце и зафиксировать изменения их концентраций). Транскриптомика – идентификация всех матричных РНК (м-РНК), кодирующих белки, определение количества каждой индивидуальной м-РНК, закономерностей экспрессии всех генов, кодирующих белки, а также транскрипционного профиля болезней. РНОмика – идентификация всех некодирующих РНК (нк-РНК), определение количества каждой индивидуальной нк-РНК – исследование закономерностей экспрессии всех нк-РНК. Метаболомика – идентификация и определение количества всех метаболитов, синтезируемых (или находящихся) в данных клетках, тканях, органах и в биологических жидкостях; определение их направленности. Биоинформатика – использование вычислительной техники, математики и информационной теории для анализа и моделирования биологических процессов на клеточном и молекулярном уровнях; создание баз данных. Именно эти направления, для краткости называемые «-омиками» (omics – genomics, transcriptomics и т.д.), считаются основой медицины XXI века.

Гены – геном – болезни?

Известно, что в большинстве случаев развитие болезни реализуется посредством влияния так называемых триггерных, провоцирующих факторов окружающей среды. В связи с этим изучение генетических основ заболеваний открывает реальные возможности для новых стратегий оценки риска (выявление генов-кандидатов) и профилактики болезней.

Наибольшее продвижение получила пока геномика – наука о структуре, функции и заболеваниях, в большинстве случаев реализующихся при взаимодействии всех генов, составляющих геном человека. Впервые термин «геномика» был предложен генетиком Томасом Родериком в 1986 г. В Бетесде (штат Мэриленд) проводилась международная конференция, посвященная целесообразности расшифровки генома человека, после которой состоялась неофициальная встреча Т. Родерика и коллег. Ученые обсуждали выход нового журнала, в котором отражались бы результаты расшифровки геномов. Так появился термин «геномика» и одноименный журнал Genomics [1]. Через четыре года под эгидой Национальной организации здравоохранения США стартовал амбициозный международный проект – Human Genome Project. Цель проекта заключалась в выяснении последовательности нуклеотидных оснований (А, Т, G, C) во всех молекулах ДНК в клетках человека. Кроме того, ученым предстояло выяснить локализацию всех генов в хромосомах. Предполагалось, что данный подход позволит установить причины наследственных заболеваний и таким образом приблизит

к поиску потенциальных терапевтических мишеней. Благодаря технологиям полимеразной цепной реакции (ПЦР) и секвенированию проект был завершен в 2003 г. Учеными было расшифровано 3 млрд пар оснований ДНК и составлена карта генов в геноме человека [2]. Результаты работы были представлены в виде баз данных последовательностей нуклеотидов ДНК (GenBank, EMBL, DDBJ) и последовательностей аминокислот в белках (PIR, SwissPot) [3–7]. Базы данных размещены в Интернете, следовательно, любой желающий может воспользоваться информацией. По итогам Human Genome Project, показано, что геномы двух людей идентичны на 99,9% (кроме гомозиготных близнецов, у них – на 100%), а оставшиеся 0,1% содержат вариации в последовательности нуклеотидов – полиморфизмы. Существует несколько типов полиморфизмов: tandemные повторы; делеции; вставки и однонуклеотидный. Однонуклеотидный полиморфизм генов (ОНП) – замена одного нуклеотида в последовательности ДНК на другой. ОНП является наиболее распространенной вариацией в последовательности ДНК и встречается с частотой 1 на 1000 пар оснований. Именно с ОНП связывали разнообразие фенотипов в популяции, генетическую предрасположенность к болезням и индивидуальную реакцию на препараты [8]. Для выяснения популяционных и этнических отличий в вариациях ДНК в 2002 г. был запущен проект HarMap, третья фаза которого завершилась в 2009 г. Задачами проекта являлись идентификация и составление каталога генетических сходств и отличий среди различных популяций мира. В работе использовались 269 образцов ДНК индивидуумов из Нигерии, Китая, Японии и США [9]. В рамках проекта HarMap был разработан новый подход – полногеномный поиск ассоциаций (GWAS). Под GWAS имеют в виду исследование ассоциаций вариаций в последовательности ДНК и фенотипическими признаками. Данный подход стал ключевым в поиске ОНП, ассоциированных с болезнями. Гены, в которых были обнаружены полиморфные участки, связанные с возникновением какого-либо заболевания, называются гены-кандидаты [10]. С помощью GWAS выявлены гены-кандидаты, вовлеченные в патогенез заболеваний органов пищеварения (табл. 1, 2). Из приведенных данных видно, что по сей день остаются неизученными такие нозологии, как функциональная диспепсия, дуоденит и т.д. В то же время для синдрома Жильбера обнаружен один ген-кандидат UGT1A1, а для болезни Крона – около 200. Дело в том, что с точки зрения генетики все болезни можно разделить на моногенные и полигенные.

Моногенные (менделевские) заболевания являются результатом модификаций одного конкретного гена во всех клетках организма. Моногенные болезни наследуются в соответствии с законами классической генетики Менделя по аутосомно-доминантному, аутосомно-рецессивному или X-сцепленному типу. По оценкам ученых, более 10 тыс. заболеваний человека являются моногенными и встречаются с частотой 10/1000 во всему миру [11]. Для менделевских заболеваний была создана база данных OMIM, где по состоянию на 22.01.2014 г. описано более 14 тыс. генов, вариации в которых вызывают моногенные заболевания, в частности такие

как болезнь Жильбера, синдром Линча и т.д. [12]. Моногенные болезни мало распространены, что затрудняет проведение исследований в различных популяциях и статистического анализа. Для изучения геномики моногенных болезней были созданы крупнейшие в мире центры: University of Washington Center for Mendelian Genomics, Yale Center for Mendelian Genomics, Baylor-Johns Hopkins Center for Mendelian Genomics. В указанных выше центрах обследуют пациентов со всего мира. В случае неустановленного диагноза большим предоставляются услуги бесплатного секвенирования генома и интерпретации результатов [13]. Массив данных, накопленный при изучении геномики моногенных болезней, будет использован для исследования полигенных патологий.

Полигенные (многофакторные) болезни обусловлены взаимодействием полиморфных участков более чем в одном гене [14]. Возможно, любой из полиморфизмов сам по себе не проявился бы, но в совокупности они могут привести к значительным фенотипическим различиям. Кроме того, полигенные болезни связаны не только с наследственными факторами, но и с факторами внешней среды, образом жизни. Большинство гастроэнтерологических нозологий являются многофакторными: ГЭРБ, эзофагит Барретта, синдром раздраженного кишечника и т.д. Изучение многофакторных болезней является вызовом для ученых. Оценить, какой из 200 генов-кандидатов при болезни Крона вносит наибольший вклад в развитие болезни, пока не представляется возможным. Сложно предсказать, как ген-гены взаимодействуют и влияют на фенотипические признаки заболевания, а тем более с учетом факторов внешней среды и образа жизни. Например, наблюдая за тремя людьми с одним и тем же набором полиморфизмов, можно обнаружить, что двое страдают одним и тем же заболеванием, но симптомы различны, а третий – абсолютно здоров. Среди генетиков существует поговорка: «Мы не можем изменить гены, но мы можем изменить образ жизни». Следует также отметить, что пока неизвестны законы наследования полигенных болезней. В некоторых случаях у больных с синдромом раздраженного кишечника, болезнью Крона, синдромом Линча 1 наблюдается семейная агрегация. Однако наследование полигенных болезней отклоняется от законов Менделя, и спрогнозировать, кого из родственников поразит недуг, невозможно.

Генетические тесты – правда или обман?

Несмотря на неоднозначность в понимании реализации генетической информации, обнаруженные полиморфизмы генов стали своеобразными маркерами заболеваний и легли в основу генетических тест-систем. Основными методиками обнаружения полиморфных участков стали ПЦР и секвенирование [10]. Полногеномное секвенирование по-прежнему остается дорогостоящей процедурой (около 10 тыс. долларов) и используется в основном для научных исследований. Перед разработчиками оборудования стоит серьезная задача – снизить стоимость полногеномного секвенирования до 1000 долларов. На сегодняшний день на рынке лабораторных технологий в качестве альтернативы полногеномному секвенированию



Г.Д. Фадеенко

предлагаются мультигенные панели исследований. Имеется в виду, что производится секвенирование не всех генов, а конкретных генов-кандидатов. Предпринимаются попытки по внедрению мультигенного секвенирования в клиническую практику. Успешно применяется секвенирование для диагностики моногенных заболеваний (табл. 1) и все большее значение приобретает скрининг полигенных заболеваний (табл. 2).

Благодаря доступности, информативности и точности ПЦР-методики уже сейчас во многих лабораториях стало возможным:

- выявление вирусных гепатитов;
- обнаружение возбудителей инфекций – Helicobacter pylori, Shigella, Salmonella, Yersinia, Campylobacter, Esheria, Rotavirus, Adenoviridae, Enterovirus, Cytomegalovirus, Norwalkvirus;
- подтверждение диагнозов «синдром Жильбера» и «муковисцидоз».

Является ли генетическое тестирование надежным диагностическим тестом? У пациентов с наследственными болезнями (прогрессирующий семейный внутрипеченочный холестаз) генетический тест усиливает окончательный диагноз. При диагностировании заболеваний, вызванных небольшим числом полиморфизмов (гемохроматоз), генетический тест может заменить инвазивные методы диагностики. В случае полигенных болезней (синдром раздраженного кишечника, ГЭРБ и т.д.) генетический тест не может быть диагностическим в силу сложности интерпретации. Наличие полиморфных участков может лишь говорить о предрасположенности к какому-либо заболеванию. Поэтому генетическое тестирование пока является дополнением к уже существующим инструментальным и лабораторным методам исследования [15].

Хотелось бы отметить, что наблюдается прирост работ, в которых исследуется эффективность лечения гастроэнтерологических патологий с учетом генетического профиля пациента [16]:

- ГЭРБ – полиморфизм CYP2C19*1 – эзомепразол, лансопрозол, омепразол, рабепразол;
- ГЭРБ – полиморфизм CYP2C19*2 – эзомепразол, лансопрозол, омепразол, рабепразол;
- ГЭРБ – полиморфизм CYP2C19*3 – лансопрозол, омепразол, рабепразол;
- ГЭРБ – полиморфизм rs1045642 гена ABCB1 – лансопрозол, такролимус;
- синдром раздраженного кишечника – полиморфизмы rs1799724, rs1799964, rs1800629, rs1800630, rs1800750, rs2736195, rs3093548, rs361525, rs4248158, rs4248159, rs4248160, rs4248163, rs4647198, rs4987086, rs55634887, rs55994001 гена TNF – инфликсимаб;
- муковисцидоз – полиморфизм rs113993960 гена CFTR – ивакафтор, лумакафтор;
- муковисцидоз – полиморфизм rs75527207 гена CFTR – ивакафтор;
- цирроз печени – полиморфизм rs11269124 гена ADRA2C – клонидин;
- цирроз печени – полиморфизм rs1799752 гена ACE – лосартан;
- цирроз печени – полиморфизм rs1799998 гена CYP11B2 – фуросемид, спиронолактон;

Таблиця 1. Результаты исследований моногенных гастроэнтерологических болезней

Нозология	Гены-кандидаты	Страна (количество лабораторий), где используются генетические тест-системы
Моногенные болезни		
Синдром Жильбера	UGT1A1	США (14), Австрия (2), Чехия (2), Германия (11), Греция (1), Италия (1), Индия (1)
Синдром Криглера-Найяра	UGT1A1	США (3), Австрия (2), Чехия (2), Германия (8), Швейцария (1), Испания (4), Индия (1), Словакия (1)
Синдром Дубина-Джонсона	ABCC2	США (1), Германия (3), Португалия (1)
Синдром Ротора	SLCO1B3, SLCO1B1	нет данных
Синдром Пейтца-Егерса	STK11	США (19), Австрия (3), Дания (1), Германия (10), Израиль (2), Нидерланды (1), Словакия (3)
Болезнь Вильсона-Коновалова	ATP7B	США (20), Австрия (2), Дания (1), Чехия (2), Эстония (1), Германия (12), Венгрия (1)
Гемохроматоз	HFE	США (44), Аргентина (2), Австрия (3), Бельгия (1), Бразилия (1), Канада (12), Чили (1)
Муковисцидоз	CFTR	США (85), Аргентина (1), Австрия (2), Колумбия (2), Эстония (1), Канада (6), Финляндия (1)
Синдром Алажиля	NOTCH2, JAG1	США (24), Германия (11), Австрия (4), Израиль (3), Португалия (3), Словакия (4), Южная Корея (1)
Дефицит альфа-1-антитрипсина	SERPINA1	США (17), Канада (1), Австрия (3), Чили (1), Чехия (1), Дания (1), Эстония (1)
Семейный аденоматоз, синдром Гарднера	APC	США (10), Аргентина (1), Австрия (1), Дания (2), Германия (10), Израиль (2)
Прогрессирующий семейный внутрипеченочный холестаз	ABCB11, ABCB4	США (23), Бельгия (2), Австрия (2), Дания (2), Германия (9), Израиль (3), Нидерланды (5), Португалия (3)

Примечания: данные по генам и соответствующим нозологиям взяты из международной базы OMIM [12]; информация по лабораторным генетическим тестам предоставлена базой GTR [17]; в GTR зарегистрированы лаборатории, сертифицированные по версии CLIA или аналогам.

Таблиця 2. Результаты исследований полигенных гастроэнтерологических болезней

Нозология	Гены-кандидаты	Страна (количество лабораторий), где используются генетические тест-системы
Полигенные болезни		
Эзофагит	STAT6, TSLP, EOE2, EOE1, DSG1, WDR36, SHROOM3, SNTB1, C8orf47	нет данных
Эзофагит Барретта	HLA-E, MSR1, FOXF1, CTHRC1, AGBL1, ASCC1, LINC00917, AGBL1-AS1	США (1)
Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь	STAT3, TNF, ADIPOQ, IL4, EGF, JUP, CTSW	нет данных
Ахалазия кардии	PLN, ATP2A2	нет данных
Функциональная диспепсия	нет данных	нет данных
Гастрит	IL1B, IL1RN, PSCA, MSH2, OGG1, ACE, IL8, XRCC1, ERCC2, MLH1, IL6, CYP2E1 (всего 86 генов)	нет данных
Дуоденит	нет данных	нет данных
Пептические язвы	IL10, IL12B	нет данных
Синдром холестаза	нет данных	нет данных
Синдром печеночной энцефалопатии	FADD, MECP2	нет данных
Синдром печеночно-клеточной недостаточности	нет данных	нет данных
Синдром портальной гипертензии	нет данных	нет данных
Аутоиммунный гепатит	HLA-DPB1, HLA-DRB1, HLA-DQB1, HLA-DPA1, HLA-DQA1, HLA-DQB2, CCR5, STAT4, PTPRC, DNASE2B, C2	нет данных
Неалкогольная жировая болезнь печени	PNPLA3, NGF, GC, LCP1, PALLD, ST8SIA1, DCLK1, FDF1, PARVB, CACNA2D1, PZP, COL13A1, PTPRU, LTBP3, ZP4, MACROD2, SLC9A9, FARP1, SAMM50, LPPR4, EFCAB4B, SEL1L3, EHP1L1, SLC46A3, DDX60L, SLC38A8, IGV2D-23, TMEM56-RWDD3, RP11-486A14.2, RNU6-53P	Испания (1), Португалия (1)
Цирроз печени	BTNL2, C6orf10	нет данных
Первичный билиарный цирроз	IL12A, NFKB1, IL12RB2, TNPO3, ORMDL3, IKZF3, IL7R, IRF5, STAT4, CD80, HLA-DQB1, SPIB, GSDMB (всего 32 гена)	США (1)
Вторичный билиарный цирроз (цирроз Ано)	CD80, HLA-DQB1, TNFRSF1A, HLA-E	нет данных
Желчнокаменная болезнь (холелитиаз)	ABCG8, ABCG5	Германия (1)
Холангит	BCL2L11, TCF4, CLDN1, PSC, MST1, GPR35	Германия (1)
Хронический панкреатит	PRSS1, SPINK1, CFTR, PRSS2, CTSC, CLDN2	США (45), Австрия (2), Канада (4), Чехия (4), Дания (1), Германия (31), Индия (1)
Целиакия	CTLA4, IL2, HLA-DQA1, IL21, ATXN2, HLA-DQB1, SH2B3, KIAA1109, IL12A, TAGAP, CD247, CCR3, IL1RL1, UBE2L3, CCR1, PTPN2, CCR5, IL18R1, LPP, ELMO1 (около 91 гена)	США (6), Чехия (1), Германия (1), Чили (1), Италия (1), Норвегия (1), Португалия (1)
Болезнь Крона	NOD2, IL23R, ATG16L1, IL12B, STAT3, JAK2, PTGER4, TNFSF15, NKX2-3, ZNF365, CCR6, PTPN2 (около 200 генов)	США (4), Франция (1), Израиль (2), Чехия (1), Италия (1), Германия (4), Португалия (1)
Язвенный колит	IL10, HLA-DRB1, IL23R, HLA-E, HLA-DRA, IFNG, JAK2, HLA-DQA1 (около 113 генов)	нет данных
Синдром Линча 1	MLH1, MSH2, EPCAM, PMS1	США (172), Аргентина (3), Австрия (5), Канада (13), Чехия (3), Дания (6), Эстония (5)
Болезнь Уиппла	нет данных	нет данных
Синдром раздраженного кишечника	IL10, IL6, TNFSF15, MMP9, IL8, FOS	США (2)

Примечания: данные по генам и соответствующим нозологиям и информация по лабораторным генетическим тестам взяты из базы GTR [17]; в GTR зарегистрированы лаборатории, которые сертифицированы по версии CLIA или аналогам.

– цирроз печени – полиморфизм rs1800544 гена ADRA2A – клонидин;
– цирроз печени – полиморфизм rs1800544 гена ADRA2A – клонидин;
– цирроз печени – полиморфизм rs29000568 гена ADRA2B – клонидин;
– цирроз печени – полиморфизм rs29000568 гена ACE – фуросемид, спиронолактон;
– цирроз печени – полиморфизм rs4762 гена AGT – лосартан;
– цирроз печени – полиморфизм rs4961 гена ADD1 – фуросемид, спиронолактон;
– цирроз печени – полиморфизм rs15186 гена AGTR1 – лосартан;
– цирроз печени – полиморфизм rs5443 гена GNB3 – клонидин;
– цирроз печени – полиморфизм rs4762 гена AGT – лосартан;

– цирроз печени – полиморфизм rs699 гена AGT – лосартан.

Важно отметить, что масштабные клинические исследования по терапии конкретными препаратами с учетом генетического профиля пациентов продолжаются. Однако по состоянию на сегодняшний день нет готовых рекомендаций по лечению каких-либо заболеваний органов пищеварения с учетом генетической предрасположенности больного.

За последние 13 лет геномика человека расширила понимание генетической архитектуры болезней, способствовала развитию технологий их диагностики. Геномика стала основой современной персонализированной медицины. Однако ее интеграция в практическое здравоохранение займет определенное время. Требуются более эффективные методы исследования

моногенных болезней. Существует необходимость в новых подходах в изучении полигенных болезней. Методы скрининга должны стать более доступными, а интерпретация результатов корректной. В то же время лечение больных должно осуществляться с учетом индивидуальной чувствительности к препаратам. Возможно, уже очень скоро внедрение достижений геномики в практическую медицину позволит не только более эффективно лечить, но и своевременно прогнозировать и предупреждать целый ряд заболеваний гастроэнтерологического профиля.

Литература

1. Yadav S.P. The wholeness in suffix -omics, -omes, and the word om / S.P. Yadav // J. Biomol. Tech. – 2007. – Vol. 18, № 5. – P. 277.
2. <http://www.genome.gov/12011238>
3. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>

4. <http://www.ebi.ac.uk/>
5. <http://www.ddbj.nig.ac.jp/>
6. <http://pir.georgetown.edu/>
7. http://web.expasy.org/docs/swiss-prot_guideline.html
8. Ralston Amy Gene Interaction and Disease / A. Ralston // Nature Education. – 2008. – Vol. 1, № 1. – P. 16.
9. <http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/thehapmap.html>
10. Lobo Ingrid Same Genetic Mutation, Different Genetic Disease Phenotype / I. Lobo // Nature Education. – 2008. – Vol. 1, № 1. – P. 64.
11. Chial Heidi Mendelian Genetics: Patterns of Inheritance and Single-Gene Disorders / H. Chial // Nature Education. – 2008. – Vol. 1, № 1. – P. 63.
12. <http://www.omim.org/>
13. <http://www.mendelian.org/?q=whoware>
14. Lobo Ingrid Multifactorial Inheritance and Genetic Disease / I. Lobo // Nature Education. – 2008. – Vol. 1, № 1. – P. 5.
15. Janssens A.C. Genome-based prediction of common diseases: advances and prospects [Электронный ресурс] / A.C. Janssens, C.M. van Duijn // Hum Mol Genet. – 2008. – Vol. 17 (R2). – P. R166-73. – Режим доступа: doi: 10.1093/hmg/ddn250.
16. <https://www.pharmgkb.org/>
17. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gtr/>