

<https://doi.org/10.25208/vdv1403>

Профиль метилирования ДНК и экспрессия гена филаггрина в крови у пациентов с атопическим дерматитом: исследование «случай–контроль»

© Антонова С.Б.^{1,3*}, Уфимцева М.А.^{1,3}, Макеев О.Г.^{1,2}, Десятова М.А.¹, Мыльникова Е.С.^{1,3}, Николаева К.И.^{1,3}, Ефимова М.С.¹

¹Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург, Россия

²Институт медицинских клеточных технологий, Екатеринбург, Россия

³Свердловский областной кожно-венерологический диспансер, Екатеринбург, Россия

Обоснование. Атопический дерматит (АД) — одно из наиболее распространенных воспалительных заболеваний кожи, которое поражает до 20,0% детей и 2,0–8,0% взрослых по всему миру.

У пациентов с АД обычно наблюдаются сухость кожи и зуд, они подвержены более высокому риску развития астмы, а также аллергического ринита. Особенности клинического течения АД связаны как с взаимодействием генов, так и с влиянием факторов окружающей среды. Понять наиболее вероятные механизмы, с помощью которых факторы окружающей среды влияют на экспрессию генов и способствуют развитию АД, можно с помощью изучения эпигенетических механизмов.

Цель исследования — проведение комплексного молекулярно-генетического анализа (оценка уровня глобального метилирования ДНК и экспрессии гена филаггрина (*FLG*) у пациентов с АД среднетяжелого и тяжелого течения.

Методы. Исследование «случай–контроль», проведенное в период с января по июнь 2022 г., включало 32 пациента с АД и 6 здоровых добровольцев. Произведена оценка уровня глобального метилирования ДНК в крови пациентов с АД и здоровых лиц. Методом полимеразной цепной реакции в лейкоцитарной фракции крови был определен уровень экспрессии гена филаггрина (*FLG*). В ходе ПЦР применялся трехэтапный цикл. Для определения уровня экспрессии гена *FLG* выделяли тотальную РНК с последующей реакцией обратной транскрипции, амплификации и детекции.

Результаты. Установлено, что у пациентов с АД наблюдается гиперметилирование генома, в 2,3 раза превышающее метилирование пациентов группы контроля ($p = 0,003$), также установлено, что уровень экспрессии гена *FLG* (экзон 3, позиция 7–8, и экзон 1) в лейкоцитарной фракции крови у пациентов с АД статистически значимо не отличается от контрольной группы ($p = 0,41$).

Закключение. Установлено, что эпигеном больных АД отличается от эпигенома здоровых лиц. Изучение патогенетических механизмов является основой для разработки новых методов таргетной терапии данного социально значимого дерматоза.

Ключевые слова: атопический дерматит; эпигеном; метилирование ДНК; экспрессия гена

Конфликт интересов: авторы подтверждают отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

Источник финансирования: исследование проведено при финансовой поддержке (финансовом обеспечении) Минздрава России в рамках выполнения государственного задания 2021–2023 гг., регистрационный номер 121032400217-9 от 24.03.2021.

Для цитирования: Антонова С.Б., Уфимцева М.А., Макеев О.Г., Десятова М.А., Мыльникова Е.С., Николаева К.И., Ефимова М.С. Профиль метилирования ДНК и экспрессия гена филаггрина в крови у пациентов с атопическим дерматитом: исследование «случай–контроль». Вестник дерматологии и венерологии. 2024;100(2):XX–XX. doi: <https://doi.org/10.25208/vdv1403>



doi: <https://doi.org/10.25208/vdv1403>

DNA methylation profile and expression of the phyllagrin gene in patients with atopic dermatitis: case-control study

© Svetlana B. Antonova^{1,3*}, Marina A. Ufimtseva^{1,3}, Oleg G. Makeev^{1,2}, Maria A. Desyatova¹, Ekaterina S. Mylnikova^{1,3}, Kristina I. Nikolaeva^{1,3}, Maria S. Efimova¹

¹Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russia

²Institute of Medical Cell Technologies, Yekaterinburg, Russia

³Sverdlovsky Regional Skin and Venereological Dispensary, Yekaterinburg, Russia

Background. Atopic dermatitis (AD) is one of the most common inflammatory skin diseases, affecting up to 20.0% of children and 2.0–8.0% of adults worldwide. Patients with atopic dermatitis usually have dry skin and itching, they are at higher risk of developing asthma, as well as allergic rhinitis. Features of the clinical course of AD are associated with both interaction of genes and influence of environmental factors. Studying epigenetic mechanisms could provide understanding of the most likely mechanisms by which environmental factors influence gene expression and contribute to the development of AD. The aim of the study is to conduct a comprehensive molecular genetic analysis (assessment of the level of global DNA methylation and expression of the filaggrin gene (*FLG*) in patients with moderate to severe AD. Material and methods: The case-control study was conducted from January 2022, through June 2022. A total of 32 patients with AD and 6 healthy volunteers were recruited. The level of global DNA methylation in the blood of patients with AD and healthy individuals was assessed. The *FLG* expression was measured by polymerase chain reaction in the leukocyte fraction of blood. A three-stage cycle is used during PCR. To determine the expression level of the *FLG* gene, total RNA was isolated, followed by a reverse transcription, amplification, and detection reaction.

Results. A hypermethylation of the genome in patients with AD is 2.3 times higher than the methylation of genome in controls ($p = 0,003$), it was also found that the expression level of the *FLG* gene (exon 3, position 7–8, and exon 1) in the leukocyte fraction of blood in patients with AD did not significantly differ from the control group ($p = 0.41$).

Conclusion. The current study found that the epigenome of AD patients differs from healthy individuals. The study of pathogenetic mechanisms is the basis for the development of new methods of targeted therapy for this socially significant dermatosis.

Keywords: atopic dermatitis; epigenomics; DNA methylation; gene expression

Conflict of interest: authors confirm that there is no conflict of interest that needs to be reported.

Funding source: the study was conducted with the financial support (financial support) of the Ministry of Health of the Russian Federation as part of the implementation of the state task 2021–2023, registration number 121032400217-9 dated 03.24.2021.

For citation: Antonova SB, Ufimtseva MA, Makeev OG, Desyatova MA, Mylnikova ES, Nikolaeva KI, Efimova MS. DNA methylation profile and expression of the phyllagrin gene in patients with atopic dermatitis: case-control study. Vestnik Dermatologii i Venerologii. 2024;100(2):XX–XX. doi: <https://doi.org/10.25208/vdv1403>



Обоснование

Атопический дерматит (АД) — одно из наиболее распространенных воспалительных заболеваний кожи, которое поражает до 20,0% детей и 2,0–8,0% взрослых по всему миру. В промышленно развитых странах в течение последних трех десятилетий распространенность АД возросла в 3 раза [1–3].

Данный дерматоз обычно дебютирует на первом году жизни — в 50,0% случаев в течение первых 6 месяцев, у части пациентов проходит спонтанно, у некоторых сохраняется во взрослом возрасте и приобретает тяжелое течение. Спонтанная ремиссия наступает у 70% пациентов после года, у остальных ремиссия наблюдается в первые 5 лет жизни. У 40–70% детей, имевших АД в младенческом возрасте, спонтанная ремиссия наступает до 12 лет. У некоторых пациентов после многолетней длительной ремиссии наблюдаются рецидивы заболевания во взрослом периоде. Кроме того, растет число пациентов с поздним дебютом АД [4].

Выделяют следующие типы АД: экзогенный (extrinsic) и эндогенный (intrinsic) [5]. Экзогенный, или аллергический, АД характеризуется высокими уровнями общего IgE в сыворотке и наличием специфических IgE к аллергенам окружающей среды и пищевым аллергенам, тогда как эндогенный, или неаллергический, АД демонстрирует нормальные значения общего IgE и отсутствие специфических IgE. Экзогенный АД является классическим типом с высокой распространенностью, частота эндогенного АД составляет примерно 20,0% с преобладанием у лиц женского пола [5]. Однако, согласно исследованию С. Flohret и соавт. (2011), частота атопии у пациентов с АД варьирует от 47,0 до 75,0% [6].

Для пациентов с диагнозом АД характерными симптомами являются сухая кожа, избыточная трансэпидермальная потеря воды, дисфункция эпидермального барьера с повышенной проницаемостью [7–9]. Кожа большинства пациентов с АД преимущественно колонизована золотистым стафилококком, что способствует развитию дерматоза [10]. АД — мультифакторное заболевание с генетической составляющей [8, 9, 11]. Развитие воспалительной реакции в коже при АД происходит при участии Т-лимфоцитов с преобладанием Th2-иммунного ответа. Кроме Th2-клеток в воспалении с инфильтрацией в очагах поражения участвуют Th1-лимфоциты, а также другие линии Т-клеток, такие как Th17 и Th22, в отличие от псориаза, при котором преобладают Th1- и Th17-лимфоциты [12–15].

Существенную роль в патогенезе АД играет изменение в системе Т-регуляторных (Treg) клеток, для которых характерен фенотип CD4+CD25+. Данный фенотип контролируется фактором транскрипции FoxP3 [16].

При стимуляции Treg-клетки секретируют IL-10 с трансформирующим ростковым фактором роста β (TGF β) или без него. Treg-клетки способны оказывать существенное действие на наивные Th0-клетки и на Th1- и Th2-лимфоциты, а также на тучные клетки, базофилы и эозинофилы, также через влияние на В-лимфоциты они могут подавлять продукцию IgE [17].

Особенности клинического течения АД связаны с взаимодействием неаллельных генов и факторов окружающей среды. Известно более 70 генов, ассоциированных с развитием АД [18], которые можно разделить на следующие группы:

- влияющие на функцию эпидермального барьера (например, ген филаггрина (*FLG*));

- влияющие на врожденные иммунные механизмы (гены Th2-ответа: IL-4, IL-5, IL-13);
- влияющие на адаптивный иммунитет (ген тимусного стромального лимфопоэтина TSLPR);
- кодирующие алармины, продуцируемые кератиноцитами (IL-25 и IL-33);
- регулирующие метилирование ДНК (ген KIF3A);
- регулирующие пути поступления витамина D (гены CYP27A1, CYP2R1, VDR) [18, 19].

Заслуживает внимания ген OVOL1 (овоподобный репрессор транскрипции) — фактор транскрипции, который регулирует экспрессию филаггрина (*FLG*). Интересно, что *FLG*, OVOL1 и IL-13 являются наиболее значимыми генами в возникновении АД среди 31 восприимчивого локуса генов, о которых сообщалось в метаанализе полногеномных исследований [20].

Однако описанные выше генетические ассоциации характерны лишь для некоторых пациентов с АД, а также наблюдаются у здоровых лиц. Кроме того, существуют пациенты с мутацией в других генах, связанных с АД, с неидентифицируемой мутацией. Данная особенность заболевания только у части носителей мутации и возникновения у пациентов без мутации обусловлена эпигенетической регуляцией экспрессии генов и является одним факторов патогенеза АД, наряду с патогенными мутациями [18].

Эпидемиологические исследования демонстрируют, что несколько факторов окружающей среды приводит к увеличению частоты развития АД. Наиболее распространенным примером является отсутствие контакта с бактериальными антигенами в детстве, известная гипотеза в этом направлении — «гигиеническая теория» [21, 22].

В наших клетках, помимо наследуемой информации в виде генома — генетического кода, зашифрованного последовательностью ДНК, существует нехромосомная наследственность, отвечающая за хранение, кодирование и передачу части наследственной информации. Нехромосомная наследственность реализуется с помощью особого класса наследственных единиц — эпигенов. Эпигеном — это «второй код», высший механизм, контролирующий экспрессию «первого кода». В ядре ДНК обернута вокруг нуклеосом, построенных из щелочных белков, гистонов (H1, H2A, H2B, H3, H4), которые вместе формируют структуру хроматина [7, 8, 11].

Термин «эпигеном» объединяет модификации хроматина, такие как ковалентные модификации гистоновых белков или метилирование ДНК, а также некодирующую РНК-зависимую регуляцию. Эпигеном может влиять на ДНК и гистоновые белки и, следовательно, регулировать экспрессию генов в геноме. Следует подчеркнуть, что эпигенетические изменения не модифицируют сам генетический код, т.е. последовательность ДНК. Однако модификации структуры хроматина могут приводить к активации или ингибированию процесса транскрипции определенных генов и, следовательно, процесс трансляции новой мРНК в полипептидную цепь [18].

Завершение расшифровки генома человека в конце XX в. позволило понять зашифрованный код, начаты исследования эпигенома человека [23].

Идентифицировано большое количество механизмов, с помощью которых эпигенетические изменения могут регулировать экспрессию генов, в частности:

1) посттрансляционные изменения гистоновых белков, такие как ацетилирование, фосфорилирование, метилирование, убиквитинирование, сумоилирование, влияющие на архитектуру хроматина, а также на его плотность и доступность для ферментных комплексов. Ацетилирование гистонов приводит к тому, что хроматин становится более плотно упакованным, что блокирует транскрипцию, тогда как деацетилирование ослабляет структуру хроматина, активируя транскрипцию гена в этом регионе [9, 11, 21, 24];

2) метилирование, гидроксиметилирование или деметилирование цитозина в последовательностях регуляторных генов (промотор или энхансер) изменяют транскрипцию гена. Основания ДНК цитозин и гуанин при нахождении рядом друг с другом могут осуществлять сайленсинг отдельных генов в результате добавления метильной группы к молекуле ДНК, что приводит к их инактивации и предотвращению транскрипции. Напротив, деметилирование промотора запускает процесс транскрипции и индуцирует экспрессию определенного гена [9, 11, 21, 24];

3) некодирующие РНК, включая микро-РНК, малые интерферирующие РНК (ми-РНК), круговые РНК (цирк-РНК), длинные некодирующие РНК (днк-РНК) и Рив-взаимодействующие РНК (пи-РНК) также представляют собой важный сигнальный и регуляторный инструмент. Это влияет на процесс транскрипции, а также может изменять экспрессию генов на посттранскрипционных уровнях [9, 11, 21, 24].

Исследованиями было продемонстрировано, что метилирование ДНК играет важную роль в регуляции экспрессии генов. Гипо- и гиперметилирование через геном способствуют изменению в экспрессии генов [25, 26]. Таким образом, определение статуса метилирования ДНК является важным инструментом в эпигенетических исследованиях. Предположительно у пациентов с АД наблюдается изменение уровня метилирования участков промоторов генов [27].

Цель исследования — комплексный молекулярно-генетический анализ, включающий оценку уровня глобального метилирования ДНК и экспрессии гена филаггрина (*FLG*) у пациентов с АД среднетяжелого и тяжелого течения.

Методы

Дизайн исследования

В исследовании «случай–контроль» в период с января по июнь 2022 г. приняли участие 32 больных с АД обоих полов. Все пациенты были разделены на две группы по возрастному критерию: 10 пациентов — в возрасте от 7 до 17 лет, 22 больных — в возрасте от 18 до 57 лет. Для определения степени тяжести для каждого пациента высчитывался индекс SCORAD (<http://www.atopic.ru/phase/index.htm>). Индекс тяжести SCORAD соответствовал среднетяжелой (SCORAD 25–50) и тяжелой (SCORAD ≥ 50) степени у 24 и 8 пациентов соответственно. В группу контроля было включено 6 здоровых добровольцев, соответствующих больным основной группы по возрасту и полу.

Критерии соответствия

Критерии включения пациентов:

- возраст от 7 до 60 лет;
- подтвержденный диагноз АД в соответствии с общепринятыми международными критериями;

- информированное согласие пациента или законного представителя (в отношении несовершеннолетнего, не достигшего возраста, установленного ч. 2 ст. 54 Федерального закона от 21.11.2011 № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации») на проведение исследования, диагностических мероприятий;

- отсутствие системной и наружной терапии АД за 10 дней до взятия биообразцов крови.

Критерии исключения:

- возраст пациента менее 7 или более 60 лет;
- наличие ВИЧ-инфекции, гепатита В, С, сифилиса, онкологических заболеваний (в том числе в анамнезе);
- беременность, обострение хронической соматической патологии;
- отсутствие согласия пациента на участие в исследовании.

Условия проведения

Исследование проведено на базе государственного бюджетного учреждения здравоохранения Свердловской области «Свердловский областной кожно-венерологический диспансер» (ГБУЗ СО СОКВД), г. Екатеринбург.

Продолжительность исследования

В статье представлены результаты первого этапа исследования, полученные за первое полугодие 2022 г.

Описание медицинского вмешательства

От пациентов был произведено взятие биоматериала в виде образцов цельной крови (собраны в пробирки с этилендиаминтетрауксусной кислотой). Далее полученный материал использовали для проведения исследований. Комплекс исследований проведен на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории (ЦНИЛ) Уральского государственного медицинского университета.

Определение общего IgE

Количественное определение общего IgE в сыворотке крови проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием тест-систем LabodiaХема (Швейцария–Россия).

Анализ уровня метилирования

В исследовании применяли лейкоцитарную фракцию крови. Выделение лейкоцитарной фракции из крови у пациентов с АД и здоровых добровольцев проводили с помощью метода седиментации в градиенте плотности фиколл-урографина. В центрифужную пробирку на 2 мл раствора фиколл-урографина ($\rho = 1,077$ г/мл) наслаивали 2 мл разведенной в физиологическом растворе крови без плазмы. Центрифугировали в течение 15 мин при 5000 об/мин. Слой лейкоцитов осторожно собирали по всей площади сечения пробирки, переносили в чистую, сухую центрифужную пробирку и разводили физиологическим раствором. Содержимое пробирки центрифугировали 10 мин при 4500 об/мин. Концентрированный осадок собирали и переносили в чистую пробирку типа Эппендорф и замораживали при -85°C .

Геномную ДНК выделяли при помощи набора QIAamp DNA BloodKit (Qiagen, UK) из лейкоцитарной

фракции крови пациентов в соответствии с инструкцией производителя. Клетки лизировали в растворе, содержащем хаотропную соль, для обеспечения денатурации, а этанол использовали для осаждения ДНК, когда лизат пропускали через кварцевую мембрану. Затем ДНК элюировали раствором Трис-ЭДТА (10 мМ-Трис-НСl, 0,5 мМ ЭДТА, pH 9,0) и определяли концентрацию ДНК спектрометрически (260 нм) при помощи Ultraspec 1100 pro, Amersham Biosciences. Уравнение ($OD_{260} \times 100$ (коэффициент разбавления) $\times 50$ мкг/мл) использовали для определения концентрации ДНК. Гель-электрофорез проводили на 1% агарозном геле для подтверждения целостности элюированной ДНК.

Метилированную ДНК количественно определяли из геномной ДНК с использованием набора Imprint® Methylated DNA Quantification Kit (MDQ1, Sigma, Ирландия) по протоколу, рекомендованному производителем. Геномную ДНК связывали с лунками, с последующим использованием антител к 5-метилцитозину для связывания метилированной ДНК, а антитела для вторичной детекции применяли для формирования колориметрического изменения, которое количественно определяет уровень метилированной ДНК. Каждый эксперимент проводили трехкратно. Результаты представлены в табл. 1 как среднее значение оптической плотности при поглощении 450 нм $\pm$ стандартное отклонение.

Анализ экспрессии гена FLG

Для определения уровня экспрессии гена *FLG* выделяли тотальную РНК при помощи Tri-Reagent (Sigma Aldrich, Германия) в соотношении 1:4, согласно инструкции производителя. Полученные сухие осадки РНК растворяли в 10 мкл Rnase free water (Quiagen, США), после чего проводили реакцию обратной транскрипции при 37 °C в течение 60 мин с использованием Random гексамеров в 10 мкл смеси, состоящей из 4 мкл 5х буфера для обратной транскрипции (Promega, США), 2,5 мкл 10 мМ dNTP, 1 мкл 100 пМ/мкл рандомизированного праймера, 1 мкл MMLV обратной транскриптазы (Promega), 0,5 мкл Rnasin (Promega) и 1 мкл ddH₂O. Для проведения реакций ПЦР–РВ использовали 2,5 мкл кДНК в расчете на одну реакцию.

Реакции по определению экспрессии гена *FLG* проводили в моноплексном формате на приборе Roche LightCycler 96 (Roche Diagnostics, Германия) с параметрами термоциклирования: 95 °C 2 мин и далее 30 циклов: 95 °C 15 с, 54 °C 15 с с использованием мастер-микса (Promega), состоящего из 5х буфера 5 мкл, dNTP (10мМ) 2 мкл, Mg²⁺ (50 мМ) 1,75 мкл, каждого праймера (2,5 пМ/мкл) 3 мкл, зонда (5 пМ/мкл) 1 мкл, 7,75 мкл ddH₂O и Taq полимеразы 0,5 мкл и 1 мкл кДНК. Для определения экспрессии использовались праймеры к 3 экзону (прямой) Forward Sequence: GCTGAAGGAACCTCTGGAAAAGG, (обратный) Reverse Sequence: GTTGTGGTCTATATCCAAGTGATC с добавлением интеркалирующего зонда FAM при длине волны возбуждения 470 нм и эмиссией с длиной волны 514 нм. В качестве единиц измерения экспрессии генов применена копияность (число копий гена).

Для визуализации образцы амплифицировали на программируемом термостате «Терцик» с точным алгоритмом в объеме реакционной смеси, равном 50 μ l, с использованием M-Mul-V Taq полимеразы. В ходе ПЦР применялся трехэтапный цикл. Детекцию продук-

Таблица 1. Показатели уровня метилирования группы пациентов с атопическим дерматитом и группы контроля
Table 1. Indicators of the methylation level of the group of patients with atopic dermatitis and the control group

Номер	Оптическая плотность	Уровень глобального метилирования
Группа пациентов с атопическим дерматитом		
1	1,175	97,5657254
2	1,169	96,9814995
3	1,097	89,9707887
4	1,47	126,290166
5	1,303	110,029211
6	1,262	106,037001
7	1,671	145,861733
8	1,56	135,053554
9	1,385	118,013632
10	1,1	90,2629017
11	1,083	88,6075949
12	0,965	77,1178189
13	1,186	68,6368062
14	0,97	77,6046738
15	1,136	93,7682571
16	0,994	79,9415774
17	1,129	93,0866602
18	1,147	94,8393379
19	1,151	95,2288218
20	0,985	79,0652386
21	0,884	69,2307692
22	1,184	98,4420643
23	1,102	90,4576436
24	0,965	77,1178189
25	0,769	58,0331061
26	0,821	63,0963973
27	1,078	88,12074
28	0,943	74,9756573
29	1,114	91,6260954
30	0,853	66,2122687
31	0,746	55,7935735
32	0,963	76,9230769
Группа контроля		
1(Н)	0,641	45,5696203
2(Н)	0,85	65,9201558
3(Н)	0,478	29,69815
4(Н)	0,571	38,7536514
5(Н)	0,674	48,7828627
6(Н)	0,878	68,6465433

тов амплификации производили методом вертикального агарозного гель-электрофореза в 1,5% геле. В лунки полученного геля помещали 10 µl амплификата. Электрофорез проводили в течение 180 мин при 60 В.

Этическая экспертиза

Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России (протокол заседания № 6 от 18 июня 2021 г.). При проведении исследования соблюдались этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации. Лица, участвующие в исследовании, заполняли информированное согласие пациента или законного представителя в отношении несовершеннолетнего, не достигшего возраста, установленного ч. 2 ст. 54 Федерального закона от 21.11.2011 № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» на проведение исследования, диагностических и лечебных мероприятий. Каждый участник исследования получал информационный листок для пациентов, содержащий цель и структуру исследования.

Статистический анализ

Статистический анализ данных проведен в программе RStudio (Version 1.1.419-2018 RStudio, Inc.). Нормальность распределения значений в группе определяли тестом Шапиро–Уилка. Гомогенность дисперсий оценивалась с помощью теста Бартлетта. Для определения статистически значимых различий количественных параметров двух групп использовался Т-критерий Стьюдента. Для попарного сравнения был использован ранговый критерий Манна–Уитни.

Результаты

В анализируемой выборке экзогенный (аллергический) тип АД установлен у 71,9% пациентов, эндогенный тип АД был определен у 28,1% исследуемых.

На рис. 1 представлены данные исследования уровня метилирования в виде диаграммы размаха (boxplot). В нашем исследовании у пациентов с АД наблюдается гиперметилирование генома, в 2,3 раза превышающее метилирование пациентов группы контроля ($p < 0,05$). Различия по U -критерию Манна–Уитни статистически значимы ($w = 7$; $p\text{-value} = 0,00039$).

Уровни экспрессии гена *FLG* у пациентов с АД и здоровых добровольцев представлены в табл. 2 и на рис. 2 в виде диаграммы размаха (box-plots). Как видно из представленных графиков, отмечается тенденция к снижению уровня экспрессии гена *FLG* (экзон 3, позиция 7–8, и экзон 1) в лейкоцитарной фракции крови в опытной группе (АД) по сравнению с контрольной. Однако различия по U -критерию Манна–Уитни статистически не значимы ($w = 75$; $p\text{-value} = 0,4076$). В нашем исследовании не удалось установить значимую степень корреляции между величиной экспрессии гена *FLG* и степенью тяжести заболевания.

Обсуждение

Известно, что эпигенетические механизмы могут регулировать экспрессию генов, одним из таких механизмов является метилирование. Любые отклонения от нормальных глобальных уровней метилирования ДНК наблюдаются при развитии опухолей, неврологических расстройствах, аутоиммунных (дискоидной красной волчанки), сердечно-сосудистых заболеваниях и старении [28, 29].

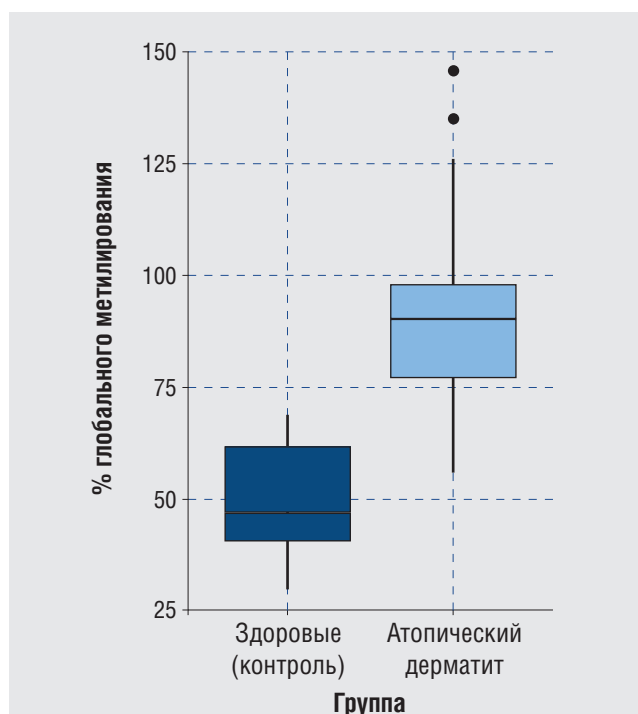


Рис. 1. Уровень метилирования в лейкоцитарной фракции крови у пациентов с атопическим дерматитом по отношению к группе контроля
Fig. 1. The level of methylation in the in the leukocyte fraction of blood of patients with atopic dermatitis in relation to the control group

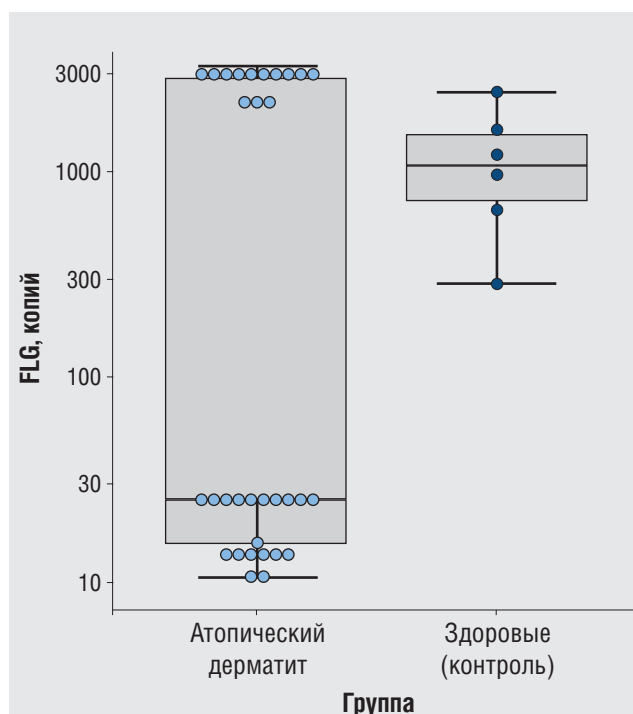


Рис. 2. Уровень экспрессии гена *FLG* в лейкоцитарной фракции крови у пациентов с атопическим дерматитом по отношению к группе контроля
Fig. 2. The level of expression of the *FLG* gene in the leukocyte fraction of blood in patients with atopic dermatitis in relation to the control group

Таблица 2. Значения экспрессии гена филаггрина у группы пациентов с атопическим дерматитом и группы контроля
Table 2. Values of the expression of the filaggrin gene in the group of patients with atopic dermatitis and the control group

Номер	Экспрессия гена FLG (копийность)
Группа пациентов с атопическим дерматитом	
1	12,8
2	25,3
3	13
4	25,3
5	25,3
6	25,3
7	25,3
8	2049,1
9	2806,45
10	11,2
11	15,6
12	14,3
13	2970,3
14	2300
15	3100,1
16	25,3
17	25,3
18	25,3
19	2760,5
20	13,9
21	14,8
22	3008,2
23	25,3
24	3111,4
25	25,3
26	14,5
27	3000,5
28	2985,5
29	2307,9
30	10,5
31	2890,9
32	3205,8
Группа контроля	
1(Н)	1600,5
2(Н)	2440,2
3(Н)	970
4(Н)	1209,3
5(Н)	654,5
6(Н)	285,3

В недавних исследованиях была подчеркнута потенциальная роль эпигенетических изменений и в развитии аллергических заболеваний [21]. Анализ литературы показал небольшое количество публикаций по метилированию при АД. J. Нап и соавт. (2012) изучили уровень метилирования ДНК по всему геному наивных CD4+ Т-клеток у пациентов с псориазом, больных АД и у здоровых людей, используя метод ChIP-seq. Исследование подтвердило гиперметилирование при псориазе, неизменный уровень метилирования при АД по сравнению со здоровым контролем [25]. Однако позднее группа шведских ученых (N. Acevedo et al., 2020) сравнили уровни метилирования ДНК по всему геному и экспрессию микро-РНК в четырех популяциях лимфоцитов крови (CD4+, CD4+ CD45RA+ наивные, CD4+, CLA+ и CD8+) и выявили изменения метилирования ДНК. Десять гипометилированных и 25 гиперметилированных генов было обнаружено у пациентов с АД в CD4+ CLA+ Т-клетках по сравнению с группой контроля [30].

Е. Rodríguez и соавт. (2014) исследовали ДНК из цельной крови, Т-клеток, В-клеток, а также пораженного и неповрежденного эпидермиса у пациентов с АД и здоровых людей. В ходе исследования не были выявлены изменения уровня метилирования ДНК в цельной крови, Т- и В-лимфоцитах, но установлены различия в метилировании между эпидермисом очагов поражения у пациентов с АД и здоровым эпидермисом контрольной группы, что частично коррелировало с измененными уровнями транскриптов генов, преимущественно имеющих отношение к дифференцировке эпидермиса и врожденному иммунному ответу [27].

В другом зарубежном исследовании изучались различия в метилировании ДНК в цельной крови олигомеризации связывания нуклеотидов и генов рецепторов, содержащих пириновый домен (NLRP), которые по-разному экспрессировались при АД с ранним началом по сравнению с контрольной группой. Известно, что NLRP модулируют врожденный иммунный ответ, активируя активность транскрипционного фактора NF-κB. В этом исследовании авторы выявили снижение экспрессии NLRP2 у годовалых детей с АД по сравнению со здоровыми сверстниками. Полногеномное бисульфитное секвенирование образцов пуповинной крови, полученных от подгруппы этих пациентов при рождении, было проведено для определения изменений метилирования ДНК. NLRP2-гиперметилирование промотора было идентифицировано и коррелировало со сниженными уровнями экспрессии NLRP2 [31].

Группа российских исследователей под руководством проф. О.Ю. Олисовой (2020) провела исследование по изучению полногеномных профилей метилирования кожи пациентов с АД и здоровых людей. Это исследование «случай–контроль» включало 12 пациентов с АД и 6 здоровых добровольцев. Уровни метилирования ДНК в образцах кожи анализировали с использованием чипа Illumina Infinium HumanMethylation450 BeadChip. В ходе исследования было обнаружено, что профиль метилирования кожи пациентов с АД значительно отличался от такового у здоровых людей. Дифференциальное метилирование ДНК наблюдалось для генов, участвующих в ряде связанных с АД процессов, включая регуляцию иммунного ответа, активацию лимфоцитов, пролиферацию клеток, апоптоз и дифференцировку эпидермиса [32].

Другой группой российских ученых (Е.П. Быстрицкая и др.) в 2022 г. проведено полногеномное исследование метилирования ДНК в образцах кожи. С использованием технологии секвенирования нового поколения и с помощью полимеразной цепной реакции в образцах кожи и мононуклеарных клетках крови был определен уровень экспрессии генов TLR2, TLR9, IL-4, IL-13 у пациентов с АД. Было установлено повышение уровней экспрессии исследуемых генов в крови у пациентов с АД по отношению к группе сравнения, а также выявлены дифференциально метилированные участки, различающиеся у пациентов с АД и здоровых доноров [33].

Эпигенетические изменения играют важную роль в процессах дифференцировки субпопуляций Т-лимфоцитов, значимых в патогенезе АД. Эпигенетическая активация Th2-лимфоцитов, продуцирующих цитокины IL-4, IL-5 и IL-13, в результате активации фактора транскрипции GATA3 происходит за счет деметилирования промоторов генов IL-13, IL-4 и метилирования гистона H3 в этой области, а также увеличения уровня метилирования промотора гена IFG и снижения уровня ацетилирования гистона H3 в этой области гена.

Напротив, активация Th1-лимфоцитов требует метилирования CpG-островков в промоторах генов IL-4, IL-13, IL-17A и гена RORC, кодирующего фактора транскрипции, а также деметилирования IFG и TBX21, увеличения уровня ацетилирования и снижения уровня метилирования соответствующих гистонов H3 [33–35].

Деметилирование области в промоторном гене FOXP3, ацетилирование остатка H3 и метилирование, сопровождающееся гиперметилированием гена RORC и метилированием остатка H3, способствуют дифференцировке клеток Th0 в направлении регуляторного Т (Treg) фенотипа. Напротив, метилирование в промоторном гене FOXP3, а также деметилирование RORC гена приводят к дефициту Treg-клеток, одной из составляющей патогенеза АД [21, 35–38].

Представленные данные нашего исследования являются первым этапом обработки результатов, полученных при сравнении лейкоцитарной фракции крови от пациентов с АД и здоровых контролей. Было установлено, что у пациентов с АД наблюдается гиперметилирование генома, превышающее метилирование пациентов группы контроля. При сравнении полученных результатов с данными литературы наблюдается расхождение в объектах метилирования: так, в работах N. Acevedo и соавт. (2020), L. Thürmann и соавт. (2018) проведена оценка локус-специфического метилирования генов, потенциально вовлеченных в патогенез АД, но не оценка тотального метилирования генома при АД [30, 31]. Применяемая нами лейкоцитарная фракция включает в свой состав лимфоидные клетки и может в значительной степени достоверно отражать иммунную составляющую течения АД.

Метилирование ДНК имеет важное значение для жизни клетки, несмотря на подверженность мутациям. Помимо белок-кодирующих участков генов, ЦГ-динуклеотиды часто расположены в регуляторных областях генов, например в промоторах. Метилирование входящих в них дезоксицитидинов приводит снижению транскрипции соответствующих генов и, напротив, удаление метильных групп приводит к активации транскрипции.

Таким образом, изменение уровня метилирования оказывает влияние на экспрессию генов.

Мутации в гене филаггрина (*FLG*), который кодирует эпидермальный белок, имеющий решающее значение для полноценного функционирования эпидермального барьера, ранее были идентифицированы как основной предрасполагающий фактор в этиопатогенезе АД.

Две распространенные мутации потери функции (LOF) (p.R501X и c.2282del4) гена филаггрина (*FLG*) были идентифицированы в европейских популяциях у пациентов с вульгарным ихтиозом и АД [39, 40].

Однако часть исследований свидетельствуют об относительно низкой частоте нулевых мутаций *FLG* среди больных АД определенных этнических групп, таких как азиатские популяции, включая японцев, китайцев, корейцев. Связь между генотипом *FLG* и количеством филаггрина в эпидермисе при АД не является прямой. M.D. Howell и соавт. (2007) в своем исследовании показали, что уровни мРНК и белка филаггрина снижаются как в видимо здоровой коже, так и в коже очагов поражения независимо от генотипа *FLG*, однако гетерозиготность *FLG* дополнительно снижает количество мРНК и белка филаггрина при острой стадии АД [41]. Кроме того, примерно у 40% пациентов с нулевыми аллелями (нефункциональная копия гена, вызванная генетической мутацией с нулевой экспрессией *FLG*) нет клинических проявлений АД, что потребовало анализа эпигенетической регуляции, которая может контролировать экспрессию *FLG* без изменения последовательности его ДНК [42–45].

Исследование A.H. Ziyab и соавт. (2013), в котором авторы сообщают о метилировании ДНК в одном сайте CpG гена *FLG*, показало значительное взаимодействие с вариантами LOF *FLG* в отношении риска развития АД [46].

Исследования J. Lee и соавт. (2020) *in vitro* продемонстрировали, что метилирование ДНК в *FLG* с островковым промотором, отличным от CpG, отвечает за регуляцию транскрипции *FLG* в недифференцированных клетках эпидермальных кератиноцитов. Частота метилирования в одном CpG-сайте промотора *FLG* была значительно выше в поврежденном эпидермисе, чем в совпадающем неповрежденном эпидермисе пациентов с тяжелым течением АД [26].

Z. Rasheed и соавт. (2018) исследовали маркеры атопии (уровень филаггрина, главный основной белок эозинофилов (MBP), общий IgE) в сыворотке крови у детей с различными atopическими заболеваниями (АД, аллергический ринит, бронхиальная астма). По результатам исследования уровни белка филаггрина были выше у детей с atopическим дерматитом по сравнению с группой контроля без атопии. Уровень MBP в сыворотке пациентов с atopией были значительно выше по сравнению со здоровыми сверстниками, самые высокие показатели зафиксированы у пациентов с аллергическим ринитом, за которыми следовали пациенты с АД и бронхиальной астмой. Значения общего IgE в сыворотке пациентов с atopическим дерматитом были значительно выше по сравнению с группой пациентов с AP и бронхиальной астмой [47].

В нашем исследовании в анализируемой выборке пациентов с АД повышенный уровень общего IgE (более 100 МЕ/мл) был зафиксирован у 71,9% пациентов, что коррелирует с данными зарубежных исследователей [5, 6, 47] и подтверждает роль общего IgE в патогенезе АД.

В отличие от результатов Z. Rasheed и соавт. (2018), в нашем исследовании не удалось установить значимую степень корреляции между величиной экспрессии гена *FLG* в крови, степенью тяжести заболевания, семейным анамнезом, а также зависимости от возраста, наличия сопутствующей патологии или клинической формы. Возможно, это связано с небольшой выборкой пациентов, а также неоднозначностью роли мутации и экспрессии гена *FLG* в возникновении и развитии АД, что подтверждается, в частности, в популяционной распространенности мутаций этого гена в литературных источниках [42–45].

Таким образом, хотя внутренняя дисфункция эпителиального барьера является центральной в патофизиологии АД, существуют другие важные факторы (генетические или факторы окружающей среды), которые необходимы для развития аллергического воспаления кожи и прогрессирования течения атопии.

Создание патогенетически обоснованных подходов терапии АД на смену симптоматическим является перспективной задачей будущего. На сегодняшний день представлены единичные исследования о терапии препаратами, влияющими на эпигенетические процессы при атопическом дерматите. С.-J. Wue и соавт. (2013) в животной модели АД продемонстрировали, что ингибитор метилирования ДНК 5-азацидин может избирательно снизить экспрессию

цитокинов Th2-типа, приводя к регрессу симптомов АД [48]. Для разработки эффективной терапии АД и аллергии, действующей посредством преднамеренной модификации генов, ответственных за смещение Th2-типа иммунного ответа на эпигенетическом уровне, требуется дальнейшее тщательное изучение сложных механизмов патогенеза, биомоделирования заболевания.

Заключение

АД представляет собой гетерогенное заболевание, при котором взаимодействие между геномными изменениями, связанными с мутациями в ключевых генах, ответственных за нарушение эпидермального барьера, иммунную дисфункцию, и рядом факторов окружающей среды играет фундаментальную роль в патогенезе. Исследования указывают на важность эпигенетических изменений, а именно метилирования ДНК, ацетилирования гистоновых белков, и действия некодирующих РНК в развитии данного заболевания. При АД изменения уровня метилирования в крови могут быть информативны и вносить определенный вклад в экспрессию гена филаггрина. Установлено, что эпигеном больных АД отличается от эпигенома здоровых лиц. Глубокое понимание патогенетических механизмов является основой для разработки новых методов таргетной терапии социально значимого дерматоза. ■

Литература/References

- Weidinger S, Beck LA, Bieber T, Kabashima K, Irvine AD. Atopic dermatitis. *Nat Rev Dis Primers*. 2018;4(1):1–20. doi: 10.1038/s41572-018-0001-z
- Wollenberg A, Szepletowski J, Taieb A, Ring J. Corrigendum: Consensus-based European guidelines for treatment of atopic eczema (atopic dermatitis) in adults and children: part I. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2019;33(7):1436. doi: 10.1111/jdv.15719
- Silverberg JL. Atopic Dermatitis in Adults. *Med Clin North Am*. 2020;104(1):157–176. doi: 10.1016/j.mcna.2019.08.009
- Kim YJ, Yun SJ, Lee JB, Kim SJ, Won YH, Lee SC. Four Years Prospective Study of Natural History of Atopic Dermatitis Aged 7–8 Years at an Individual Level: A Community-Based Survey by Dermatologists' Skin Examination in Childhood. *Ann Dermatol*. 2016;28(6):684–689. doi: 10.5021/ad.2016.28.6.684
- Tokura Y. Extrinsic and intrinsic types of atopic dermatitis. *J Dermatol Sci*. 2010;58(1):1–7. doi: 10.1016/j.jdermsci.2010.02.008
- Flohr C, Yeo L. Atopic dermatitis and the hygiene hypothesis revisited. *Curr Probl Dermatol*. 2011;41:1–34. doi: 10.1159/000323290
- Løset M, Brown SJ, Saunes M, Hveem K. Genetics of Atopic Dermatitis: From DNA Sequence to Clinical Relevance. *Dermatology*. 2019;235(5):355–364. doi: 10.1159/000500402
- Bonamonte D, Filoni A, Vestita M, Romita P, Foti C, Angelini G. The Role of the Environmental Risk Factors in the Pathogenesis and Clinical Outcome of Atopic Dermatitis. *Biomed Res Int*. 2019;2019:2450605. doi: 10.1155/2019/2450605
- Mu Z, Zhang J. The Role of Genetics, the Environment, and Epigenetics in Atopic Dermatitis. *Adv Exp Med Biol*. 2020;1253:107–140. doi: 10.1007/978-981-15-3449-2_4
- Totté JE, van der Feltz WT, Hennekam M, van Belkum A, van Zuuren EJ, Pasmans SG. Prevalence and odds of *Staphylococcus aureus* carriage in atopic dermatitis: a systematic review and meta-analysis. *Br J Dermatol*. 2016;175(4):687–695. doi: 10.1111/bjd.14566
- Martin MJ, Estravís M, García-Sánchez A, Dávila I, Isidoro-García M, Sanz C. Genetics and Epigenetics of Atopic Dermatitis: An Updated Systematic Review. *Genes (Basel)*. 2020;11(4):442. doi: 10.3390/genes11040442
- Rebane A, Akdis CA. MicroRNAs: Essential players in the regulation of inflammation. *J Allergy Clin Immunol*. 2013;132(1):15–26. doi: 10.1016/j.jaci.2013.04.011
- Nedoszytko B, Sokotowska-Wojdyło M, Ruckemann-Dziurdzińska K, Roszkiewicz J, Nowicki RJ. Chemokines and cytokines network in the pathogenesis of the inflammatory skin diseases: atopic dermatitis, psoriasis and skin mastocytosis. *Postepy Dermatol Alergol*. 2014;31(2):84–91. doi: 10.5114/pdia.2014.40920
- Weidinger S, Novak N. Atopic dermatitis. *Lancet*. 2016;387(10023):1109–1122. doi: 10.1016/S0140-6736(15)00149-X
- Samotij D, Nedoszytko B, Bartosińska J, Batorycka-Baran A, Czajkowski R, Dobrucki IT, et al. Pathogenesis of psoriasis in the "omic" era. Part I. Epidemiology, clinical manifestation, immunological and neuroendocrine disturbances. *Postepy Dermatol Alergol*. 2020;37(2):135–153. doi: 10.5114/ada.2020.94832
- Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science*. 2003;299(5609):1057–1061. doi: 10.1126/science.1079490
- Балаболкин И.И., Булгакова В.А., Елисеева Т.И. Атопический дерматит у детей: иммунологические аспекты патогенеза и терапии. *Педиатрия им. Г.Н. Сперанского*. 2017;96(2):128–135. [Balabolkin II, Bulgakova VA, Eliseeva TI. Atopic dermatitis in children: immunologic aspects of pathogenesis and therapy. *Pediatria n.a. G.N. Speransky*. 2017;96(2):128–135. (In Russ.)]
- Nedoszytko B, Reszka E, Gutowska-Owsiak D, Trzeciak M, Lange M, Jarczak J, et al. Genetic and Epigenetic Aspects of Atopic Dermatitis. *Int J Mol Sci*. 2020;21(18):6484. doi: 10.3390/ijms21186484

19. Makeev O.G., Antonova S.B., Ufimtseva M.A., Efimova M.S., Mylnikova E.S., Korotkov A.V., et al. Современные представления о патогенезе, клинико-иммунологических особенностях и новых методах лечения atopического дерматита. Казанский медицинский журнал. 2022;103(1):100–109. [Makeev OG, Antonova SB, Ufimtseva MA, Efimova MS, Mylnikova ES, Korotkov AV, et al. Modern vision of pathogenesis, clinical and immunological features and new methods of atopical dermatitis treatment. Kazan Medical Journal. 2022;103(1):100–109. (In Russ.)] doi: 10.17816/KMJ2022-100
20. Tsuji G, Hashimoto-Hachiya A, Kiyomatsu-Oda M, Takemura M, Ohno F, Ito T, et al. Aryl hydrocarbon receptor activation restores filaggrin expression via OVOL1 in atopical dermatitis. Cell Death Dis. 2017;8(7):e2931. doi: 10.1038/cddis.2017.322
21. Harb H, Renz H. Update on epigenetics in allergic disease. J Allergy Clin Immunol. 2015;135(1):15–24. doi: 10.1016/j.jaci.2014.11.009
22. Kantor R, Silverberg JI. Environmental risk factors and their role in the management of atopical dermatitis. Expert Rev Clin Immunol. 2017;13(1):15–26. doi: 10.1080/1744666X.2016.1212660
23. Bernstein BE, Meissner A, Lander ES. The mammalian epigenome. Cell. 2007;128(4):669–681. doi: 10.1016/j.cell.2007.01.033
24. Liang Y, Chang C, Lu Q. The Genetics and Epigenetics of Atopic Dermatitis-Filaggrin and Other Polymorphisms. Clin Rev Allergy Immunol. 2016;51(3):315–328. doi: 10.1007/s12016-015-8508-5
25. Han J, Park SG, Bae JB, Choi J, Lyu JM, Park SH, et al. The characteristics of genome-wide DNA methylation in naïve CD4+ T cells of patients with psoriasis or atopical dermatitis. Biochem Biophys Res Commun. 2012;422(1):157–163. doi: 10.1016/j.bbrc.2012.04.128
26. Lee J, Jang A, Seo SJ, Myung SC. Epigenetic Regulation of Filaggrin Gene Expression in Human Epidermal Keratinocytes. Ann Dermatol. 2020;32(2):122–129. doi: 10.5021/ad.2020.32.2.122
27. Rodríguez E, Baurecht H, Wahn AF, Kretschmer A, Hotze M, Zeilinger S, et al. An integrated epigenetic and transcriptomic analysis reveals distinct tissue-specific patterns of DNA methylation associated with atopical dermatitis. J Invest Dermatol. 2014;134(7):1873–1883. doi: 10.1038/jid.2014.87
28. Аскандирова А.Б., Омарбаева Н.А., Абдрахманова А.Ж., Гончарова Т.Г., Оразгалиева М.Г., ~~Ділбай~~ Д.Г., и др. Роль эпигенетических исследований в диагностике и лечении рака молочной железы. Онкология и радиология Казахстана. 2019;52(2):39–44. [Askandirova AB, Omarbayeva NA, Abdrakhmanova AZ, Goncharova TG, Orazgalieva MG, Adylbai DG, et al. The role of epigenetic research in diagnostics and treatment of breast cancer. Oncology and radiology of Kazakhstan. 2019;52(2):39–44. (In Russ.)]
29. Козлов В.А. Метилирование ДНК клетки и патология организма. Медицинская иммунология. 2008;10(4–5):307–318. [Kozlov VA. Methylation of cellular DNA and pathology of the organism. Medical Immunology (Russia). 2008;10(4–5):307–318. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2008-4-5-307-318
30. Acevedo N, Benfeitas R, Katayama S, Bruhn S, Andersson A, Wikberg G, et al. Epigenetic alterations in skin homing CD4+CLA+T cells of atopical dermatitis patients. Sci Rep. 2020;10(1):18020. doi: 10.1038/s41598-020-74798-z
31. Thürmann L, Grützmann K, Klös M, Bieg M, Winter M, Polte T, et al. Early-onset childhood atopical dermatitis is related to NLRP2 repression. J Allergy Clin Immunol. 2018;141(4):1482–1485.e16. doi: 10.1016/j.jaci.2017.11.018
32. Olisova OY, Kochergin NG, Kayumova LN, Zavarykina TM, Dmitriev AA, Asanov AY. Skin DNA methylation profile in atopical dermatitis patients: A case-control study. Exp Dermatol. 2020;29(2):184–189. doi: 10.1111/exd.14064
33. Быстрицкая Е.П., Мурашкин Н.Н., Материкин А.И., Наумова Е.А., Свитич О.А. Полногеномный профиль метилирования ДНК и экспрессия генов TLR2, TLR9, IL4, IL13 при atopическом дерматите у детей и подростков. Иммунология. 2022;43(3):255–265. [Bystritskaya EP, Murashkin NN, Materikin AI, Naumova EA, Svitich OA. Genome-wide DNA methylation profile and expression of TLR2, TLR9, IL4, IL13 genes in pediatric patients with atopical dermatitis. Immunologiya. 2022;43(3):255–265. (In Russ.)] doi: 10.33029/0206-4952-2022-43-3-255-265
34. Lee DU, Agarwal S, Rao A. Th2 lineage commitment and efficient IL-4 production involves extended demethylation of the IL-4 gene. Immunity. 2002;16(5):649–660. doi: 10.1016/s1074-7613(02)00314-x
35. Jones B, Chen J. Inhibition of IFN-gamma transcription by site-specific methylation during T helper cell development. EMBO J. 2006;25(11):2443–2452. doi: 10.1038/sj.emboj.7601148
36. Potaczek DP, Harb H, Michel S, Alhamwe BA, Renz H, Tost J. Epigenetics and allergy: from basic mechanisms to clinical applications. Epigenomics. 2017;9(4):539–571. doi: 10.2217/epi-2016-0162
37. Botchkarev VA, Gdula MR, Mardaryev AN, Sharov AA, Fessing MY. Epigenetic regulation of gene expression in keratinocytes. J Invest Dermatol. 2012;132(11):2505–2521. doi: 10.1038/jid.2012.182
38. Nedoszytko B, Sokołowska-Wojdyło M, Renke J, Lange M, Trzonkowski P, Sobjanek M, et al. The role of regulatory T cells and genes involved in their differentiation in pathogenesis of selected inflammatory and neoplastic skin diseases. Part III: Polymorphisms of genes involved in Tregs' activation and function. Postepy Dermatol Alergol. 2017;34(6):517–525. doi: 10.5114/pdia.2017.67053
39. Smith FJ, Irvine AD, Terron-Kwiatkowski A, Sandilands A, Campbell LE, Zhao Y, et al. Loss-of-function mutations in the gene encoding filaggrin cause ichthyosis vulgaris. Nat Genet. 2006;38(3):337–342. doi: 10.1038/ng1743
40. Palmer CN, Irvine AD, Terron-Kwiatkowski A, Zhao Y, Liao H, Lee SP, et al. Common loss-of-function variants of the epidermal barrier protein filaggrin are a major predisposing factor for atopical dermatitis. Nat Genet. 2006;38(4):441–446. doi: 10.1038/ng1767
41. Howell MD, Kim BE, Gao P, Grant AV, Boguniewicz M, De Benedetto A, et al. Cytokine modulation of atopical dermatitis filaggrin skin expression. J Allergy Clin Immunol. 2007;120(1):150–155. doi: 10.1016/j.jaci.2007.04.031
42. Hamada T, Sandilands A, Fukuda S, Sakaguchi S, Ohya Y, Yasumoto S, et al. De novo occurrence of the filaggrin mutation p.R501X with prevalent mutation c.3321delA in a Japanese family with ichthyosis vulgaris complicated by atopical dermatitis. J Invest Dermatol. 2008;128(5):1323–1325. doi: 10.1038/sj.jid.5701164
43. O'Regan GM, Sandilands A, McLean WHI, Irvine AD. Filaggrin in atopical dermatitis. J Allergy Clin Immunol. 2008;122(4):689–693. doi: 10.1016/j.jaci.2008.08.002
44. Park J, Jekarl DW, Kim Y, Kim J, Kim M, Park YM. Novel FLG null mutations in Korean patients with atopical dermatitis and comparison of the mutational spectra in Asian populations. J Dermatol. 2015;42(9):867–873. doi: 10.1111/1346-8138.12935
45. Cheng J, Wu JJ, Han G. Epidemiology and Characterization of Atopic Dermatitis in East Asian Populations: A Systematic Review. Dermatol Ther (Heidelb). 2021;11(3):707–717. doi: 10.1007/s13555-021-00516-w
46. Ziyab AH, Karmaus W, Holloway JW, Zhang H, Ewart S, Arshad SH. DNA methylation of the filaggrin gene adds to the risk of eczema associated with loss-of-function variants. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2013;27(3):e420–e423. doi: 10.1111/jdv.12000
47. Rasheed Z, Zedan K, Saif GB, Salama RH, Salem T, Ahmed AA, et al. Markers of atopical dermatitis, allergic rhinitis and bronchial asthma in pediatric patients: correlation with filaggrin, eosinophil major basic protein and immunoglobulin E. Clin Mol Allergy. 2018;16:23. doi: 10.1186/s12948-018-0102-y
48. Wu CJ, Yang CY, Chen YH, Chen CM, Chen LC, Kuo ML. The DNA methylation inhibitor 5-azacytidine increases regulatory T cells and alleviates airway inflammation in ovalbumin-sensitized mice. Int Arch Allergy Immunol. 2013;160(4):356–364. doi: 10.1159/000343030

Участие авторов: все авторы несут ответственность за содержание и целостность всей статьи. Концепция и дизайн исследования — С.Б. Антонова, О.Г. Макеев, М.А. Уфимцева; сбор и обработка материала — К.И. Николаева, М.А. Десятова, Е.С. Мыльникова, М.С. Ефимова; написание текста — С.Б. Антонова, М.А. Уфимцева, О.Г. Макеев; редактирование — М.А. Уфимцева, О.Г. Макеев.

Authors' participation: all authors: approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article. Contribution: concept and design of the study — Svetlana B. Antonova, Oleg G. Makeev, Marina A. Ufimtseva; collection and processing of material — Kristina I. Nikolaeva, Maria A. Desyatova, Ekaterina S. Mylnikova, Maria S. Efimova; text writing — Svetlana B. Antonova, Marina A. Ufimtseva, Oleg G. Makeev; editing — Marina A. Ufimtseva, Oleg G. Makeev.

Информация об авторах

***Антонова Светлана Борисовна** — к.м.н.; адрес: Россия, 620028, Екатеринбург, ул. Репина, д. 3; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5989-1333>; eLibrary SPIN: 1042-8973; e-mail: ant-sveta13@rambler.ru

Уфимцева Марина Анатольевна — д.м.н., профессор; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4335-9334>; eLibrary SPIN: 4753-7210; e-mail: mail-m@mail.ru

Макеев Олег Германович — д.м.н., профессор; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6819-3185>; eLibrary SPIN: 9604-8746; e-mail: larim@mail.ru

Десятова Мария Анатольевна — м.н.с.; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0640-5319>; eLibrary SPIN: 4741-2630; e-mail: mardesyatova@yandex.ru

Мыльникова Екатерина Сергеевна — м.н.с.; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8620-4044>; eLibrary SPIN: 5101-0075; e-mail: e.s.mylnikova@mail.ru

Николаева Кристина Игоревна — к.м.н.; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5879-2018>; eLibrary SPIN: 5428-7774; e-mail: kris-nikol@yandex.ru

Ефимова Мария Сергеевна — м.н.с.; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3295-6686>; eLibrary SPIN: 1576-3776; e-mail: msergeevna24@gmail.com

Information about the authors

***Svetlana B. Antonova** — MD, Cand. Sci. (Med.); address: 3 Repina street, 620028 Yekaterinburg, Russia; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5989-1333>; eLibrary SPIN: 1042-8973; e-mail: ant-sveta13@rambler.ru

Marina A. Ufimtseva — MD Dr. Sci. (Med.), Professor; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4335-9334>; eLibrary SPIN: 4753-7210; e-mail: mail-m@mail.ru

Oleg G. Makeev — MD, Dr. Sci. (Med.), Professor; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6819-3185>; eLibrary SPIN: 9604-8746; e-mail: larim@mail.ru

Maria A. Desyatova — Research Assistant; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0640-5319>; eLibrary SPIN: 4741-2630; e-mail: mardesyatova@yandex.ru

Ekaterina S. Mylnikova — Research Assistant; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8620-4044>; eLibrary SPIN: 5101-0075; e-mail: e.s.mylnikova@mail.ru

Kristina I. Nikolaeva — MD, Cand. Sci. (Med.); ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5879-2018>; eLibrary SPIN: 5428-7774; e-mail: kris-nikol@yandex.ru

Maria S. Efimova — Research Assistant; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3295-6686>; eLibrary SPIN: 1576-3776; e-mail: msergeevna24@gmail.com

Статья поступила в редакцию: 05.11.2022

Принята к публикации: 24.01.2024

Опубликована онлайн: XX.XX.2024

Submitted: 05.11.2022

Accepted: 24.01.2024

Published online: XX.XX.2024