

Молекулярно-генетические исследования предрасположенности к развитию псориаза среди населения Российской Федерации: изучение полиморфизмов генов *TNFAIP3*, *TNIP1*, *TYK2* и *REL*

А.А. Кубанов, А.А. Минеева

ФГБУ «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Минздрава России
107076, Москва, ул. Короленко, д. 3, стр. 6

Цель. Изучить роль полиморфных вариантов генов, кодирующих белки сигнального пути ядерного транскрипционного фактора каппа-В — NF-κB [*TNFAIP3* (rs610604), *TNIP1* (rs17728338), *TYK2* (rs12720356) и *REL* (rs702873)], в предрасположенности к псориазу у населения Российской Федерации европеоидной расы.

Материал и методы. Изучены маркеры предрасположенности к развитию псориаза *TNFAIP3* (rs610604), *TNIP1* (rs17728338), *TYK2* (rs12720356) и *REL* (rs702873) с помощью методов Real-Time PCR (полимеразная цепная реакция в реальном времени) с использованием аллельспецифических олигонуклеотидных зондов и ПДРФ-анализа (анализ полиморфизма длины рестрикционных фрагментов) в образцах цельной крови, полученных от больных псориазом ($n = 301$). Для сравнения частоты встречаемости генотипов использовали данные, полученные в результате генотипирования ДНК здоровых добровольцев ($n = 109$).

Результаты. Проанализированы особенности распределения вариантов полиморфизмов генов *TNFAIP3* (rs610604), *TNIP1* (rs17728338), *TYK2* (rs12720356) и *REL* (rs702873) в выборке 301 больного псориазом и 109 здоровых добровольцев из Российской Федерации. Выявлены достоверные различия в частоте регистрации генотипов указанных генов. Определены генотипы, рассматриваемые в качестве факторов риска в отношении развития псориаза (*TNFAIP3-A/C*, *TNIP1-A/G*, *TNIP1-A/A* и *TYK2-T/T*), а также протекторные генотипы (*TNFAIP3-A/A*, *REL-A/A* и *TYK2-T/G*).

Ключевые слова: **псориаз, гены *TNFAIP3*, *TNIP1*, *TYK2*, *REL*, *SNP*, однонуклеотидные полиморфизмы, rs610604, rs17728338, rs12720356, rs702873, ПЦР в реальном времени, ПДРФ-анализ.**

Molecular and genetic studies of the predisposition to the development of psoriasis among the population of the Russian Federation: a study of polymorphisms of *TNFAIP3*, *TNIP1*, *TYK2* and *REL* genes

A.A. Kubanov, A.A. Mineyeva

State Research Center of Dermatovenereology and Cosmetology, Ministry of Healthcare of the Russian Federation
Korolenko str., 3, bldg 6, Moscow, 107076, Russia

Goal. To study the role of polymorphic variants of genes encoding proteins of the signaling pathway of the nuclear transcription factor kappa-B, NF- κ B (*TNFAIP3* (rs610604), *TNIP1* (rs17728338), *TYK2* (rs12720356) and *REL* (rs702873)) in the predisposition to psoriasis among the Caucasian population of the Russian Federation.

Materials and methods. The authors studied markers of the predisposition to the development of psoriasis such as *TNFAIP3* (rs610604), *TNIP1* (rs17728338), *TYK2* (rs12720356) and *REL* (rs702873) using Real-Time PCR methods and allele-specific oligonucleotide probes and PFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) assay in whole blood samples taken from psoriatic patients ($n = 301$). To compare the frequency of genotypes, the authors used data obtained as a result of the genotyping of DNAs taken from healthy volunteers ($n = 109$).

Results. The authors analyzed particular features of the distribution of polymorphic variants of *TNFAIP3* (rs610604), *TNIP1* (rs17728338), *TYK2* (rs12720356) и *REL* (rs702873) genes in a sample of 301 psoriatic patients and 109 healthy volunteers from the Russian Federation. They revealed reliable differences in the frequency of registration of genotypes of these genes. The authors also determined genotypes considered as risk factors with regard to the development of psoriasis (*TNFAIP3-A/C*, *TNIP1-A/G*, *TNIP1-A/A* and *TYK2-T/T*) as well as protector genotypes (*TNFAIP3-A/A*, *REL-A/A* and *TYK2-T/G*).

Key words: **psoriasis, *TNFAIP3*, *TNIP1*, *TYK2*, *REL*, SNP genes, single-nucleotide polymorphisms, rs610604, rs17728338, rs12720356, rs702873, real-time PCR, PFLP assay.**

Corresponding author: mineeva@cnikvi.ru. Vestnik Dermatologii i Venerologii 2014; 5: 73—80.

■ Работа выполнена в рамках НИР «Изучение генетических факторов предрасположенности к развитию псориаза». Государственное задание ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России на 2012—2014 гг.: Раздел I. Выполнение фундаментальных научных исследований. Наименование государственной работы: «Изучение генетических факторов предрасположенности к развитию псориаза» по Государственному контракту 114/БУ-2012-051 от 16.01.2012 г.

Развитие генетики и постгеномных технологий позволило изучить в геноме человека сотни однонуклеотидных полиморфизмов (single-nucleotide polymorphism — SNP), многие из которых являются генетическими факторами предрасположенности к развитию псориаза. Опубликованы данные об ассоциации и сцеплении по меньшей мере 20 геномных локусов с различными формами псориаза (как PSORS1 — PSORS9, так и других регионов), в том числе сигнальных путей, задействованных в реакциях адаптивного и врожденного иммунитета [1, 2].

Среди генетических факторов, которые потенциально могут играть роль в развитии предрасположенности к псориазу у лиц российской популяции европеоидной расы, можно выделить малоизученную к настоящему времени группу генов, кодирующих белки сигнального пути ядерного транскрипционного фактора каппа-B — NF-κB.

NFKB1 — ядерный фактор «каппа-би» (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, NF-κB), универсальный фактор транскрипции, контролирующий экспрессию генов иммунного ответа, апоптоза и клеточного цикла; представляет собой комплекс белков, входящих в семейство Rel/NF-κB [3]. NF-κB активируется рядом стимулов, включая цитокины (такие как туморнекротизирующий фактор (TNF) и интерлейкин (IL)-1), T- и B-клеточные митогены, бактериальные и вирусные продукты (все лиганды толл-подобных рецепторов, например липополисахарид или двухцепочечная вирусная РНК) и факторы стресса (такие как реактивные формы кислорода или ультрафиолет). В цитоплазме клетки NF-κB находится в неактивном состоянии в комплексе с ингибиторным белком IκB. Под влиянием стимулирующего агента белок IκB фосфорилируется под действием киназы IKK, что приводит к деградации IκB в результате действия 26S протеасомы. При этом NF-κB высвобождается от ингибирующего комплекса, транслоцируется в ядро и активирует транскрипцию контролируемых генов, кодирующих различные белки, в том числе сигнальные белки и белки иммунного ответа. В клетке NF-κB отвечает также за адгезию клеток, дифференцировку, пролиферацию, ангиогенез и апоптоз. Дисбаланс NF-κB и ингибирующих его факторов связан с развитием многих заболеваний, включая опухоли. Нарушения, ведущие к чрезмерной активации транскрипционного фактора NF-κB, способствуют развитию

иммунозависимых заболеваний, в частности ревматоидного артрита [4]. В зарубежной литературе описана ассоциация полиморфизмов генов, кодирующих отдельные белки сигнального пути ядерного фактора NF-κB, с псориазом [5, 6].

Выявлена ассоциация с развитием псориаза полиморфизмов генов, кодирующих белки сигнального пути ядерного фактора NF-κB, такие как A20 (кодирующий ген — *TNFAIP3*) и взаимодействующий с ним TNF-α-индуцированный ABIN-1 (кодирующий ген — *TNIP1*) [7].

Ген *TNFAIP3* кодирует белок A20. Своими фрагментами (ZF7) он связывается со специфическими NF-κB сигнальными белками через убиквитин, нарушая прохождение сигнала, который может привести к развитию воспалительных заболеваний, в том числе псориаза [8, 9]. Таким образом, белок A20 снижает активность транскрипционного фактора NF-κB.

Ген *TNIP1* кодирует белок ABIN-1, связывающийся с белком A20, играет важную роль в аутоиммунном и тканевом гомеостазе путем регуляции ядерного фактора транскрипции NF-κB [10]. Повышенная экспрессия *TNIP1* ингибирует NF-κB посредством TNF [11]. ABIN-1, кроме того, обладает способностью ингибировать TNF-индуцированный апоптоз. Таким образом, ABIN-1 совместно с A20 регулирует активность NF-κB транскрипционного фактора, а также предотвращает развитие апоптоза, индуцированного фактором некроза опухоли α. В работах R. Nair и соавт. (2009) [5] и J. Elder и соавт. (2010) [12], изучавших ассоциации между полиморфизмами генов *TNFAIP3* и *TNIP1* и предрасположенностью к развитию псориаза, были выявлены значимые различия в частоте встречаемости полиморфизмов генов *TNFAIP3* (rs610604) и *TNIP1* (rs17728338) между группой больных псориазом и контрольной группой здоровых лиц. Таким образом, было выявлено, что полиморфизмы в данных генах могут быть ассоциированы с развитием псориаза [13, 14]. Изучение полиморфизмов генов *TNFAIP3* и *TNIP1* в российской популяции до настоящего времени не проводилось.

Одним из посредников в сигнальных путях, индуцированных различными цитокинами, в том числе IFNs I типа, IL-12 и IL-23, является тирозинкиназа-2 (*TYK2*), относящаяся к семейству Jak-киназ. *TYK2* является необходимым звеном для IFN γ/ Th1-сигнальных путей, а также участвует в активации транскрипционного фактора NF-κB [15]. Мутации гена *TYK2*, приводящие к потере функции *TYK2*, могут привести к нарушениям иммунологического фенотипа [10]. Показана роль полиморфизма гена *TYK2* в развитии аутоиммунных и воспалительных заболеваний [16], в частности болезни Крона в японской популяции [17] и красной волчанки [18], в частности в китайской популяции [19]. В экспериментальном исследовании M. Ishizaki и соавт. по-

казано, что молекулы *TYK2* могут ингибировать IL-23-индуцированное воспаление и продукцию цитокинов в коже при псориазе [20].

Ключевым модулятором NF-κB-пути является ген *REL*, кодирующий фактор c-Rel, который играет центральную роль в координации экспрессии генов, контролирующих иммунный ответ. В клетках белок регулирует транскрипцию генов цитокинов, хемокинов, интерлейкинов, цитокиновых и иммунорецепторов, молекул клеточной адгезии, белков острой фазы, стресс-респонсивных генов, вируса иммунодефицита человека 1 (ВИЧ-1). В качестве нового локуса риска генетической предрасположенности к развитию псориаза представляется перспективной идентификация полиморфизмов гена *REL* [21].

В Российской Федерации до настоящего времени крупных исследований по изучению роли фактора каппа-B, а также белков, относящихся к сигнальному пути данного фактора и полиморфизма кодирующих их генов, в развитии предрасположенности к псориазу не проводилось, что обуславливает актуальность настоящего исследования.

Целью настоящего исследования явилось изучение роли полиморфных вариантов генов, кодирующих белки сигнального пути NF-κB [*TNFAIP3* (rs610604), *TNIP1* (rs17728338), *TYK2* (rs12720356) и *REL* (rs702873)], в предрасположенности к псориазу среди населения Российской Федерации европеоидной расы.

Материал и методы

Характеристика исследуемой выборки

В исследовании было включено 410 лиц российской популяции европеоидной расы (207 мужчин, 203 женщины).

Под наблюдением находился 301 больной вульгарным псориазом (190 мужчин, 111 женщин) в возрасте от 18 до 77 лет (средний возраст 43,9 года). Минимальный возраст манифестации псориаза — 3 года, максимальный — 70 лет. Пациенты были жителями следующих регионов Российской Федерации: Нижегородской (95 человек), Московской (33 человека) и Новосибирской областей (40 человек), Москвы (29 человек); остальные пациенты (104) были представителями других субъектов РФ (Центральный регион: Воронежская, Калужская, Владимирская, Ярославская, Белгородская, Оренбургская, Ивановская области; Поволжье: Республика Татарстан; Северо-Западный регион: Калининградская область; Урал и Сибирь: Алтайский край, Свердловская, Иркутская области, Республика Тыва, Красноярский край; Юг России и Северный Кавказ: Ростовская область, республики Чечня и Дагестан).

Критерием включения являлось наличие у пациента диагноза псориаза по данным медицинского анамнеза (в течение не менее 12 мес.) с подтверждением

диагноза при физикальном осмотре, проведенном исследователем; европеоидная раса; возраст пациента не менее 18 лет. Критериями исключения являлись: возраст менее 18 лет; отсутствие у пациента диагноза псориаза (даже при наличии диагноза псориазического артрита).

Была собрана следующая информация о пациентах: пол, возраст, демографические данные, возраст дебюта заболевания, а также семейный анамнез о наличии псориаза у родственников больного.

Тяжесть заболевания оценивалась по площади поражения кожи: легкая степень заболевания (< 10%) была диагностирована у 56 (18,6%) пациентов, средняя и тяжелая (> 10%) — у 201 (66,8%) пациента. Данные относительно 44 пациентов оценить не удалось — часть биообразцов крови, полученных из регионов, не сопровождалась требуемыми данными.

Вульгарный псориаз был диагностирован у 244 пациентов, псориазический артрит — у 123; псориазическая эритродермия наблюдалась у 21 человека, пустулезный псориаз — у 14, ладонно-подошвенный псориаз — у 18, эксудативный псориаз — у 10, псориазическое поражение ногтей — у 110 пациентов.

У 235 (78%) больных заболевание началось до 40 лет (I тип псориаза), у 46 (15%) — в возрасте 40 лет или позже (II тип псориаза), по 20 пациентам данные отсутствуют.

Отягощенный по псориазу семейный анамнез был установлен у 97 (32%) пациентов.

Группу контроля составили 109 здоровых лиц (17 мужчин и 92 женщины). Средний возраст — 29,5 года.

Все пациенты и здоровые добровольцы подписали форму информированного согласия для участия в исследовании.

Генотипирование

Для генотипирования были выбраны следующие SNP: rs610604, rs17728338, rs12720356 и rs702873 (табл. 1).

Исследования проводились на образцах цельной крови, полученных от больных псориазом ($n = 301$) и здоровых добровольцев ($n = 109$); в качестве источника ДНК использовались лейкоциты периферической крови.

Из образцов крови при помощи коммерческого набора реагентов Diatom™ DNA Prep 100 (Biokom, Россия) в соответствии с инструкциями производителя выделялась геномная ДНК; проводилась оценка ее качества. Раствор ДНК объемом 100 мкл хранили в микропробирках типа Eppendorf при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Для изучения генов *TNFAIP3*, *TNIP1* и *REL* был выбран метод ПЦР (полимеразная цепная реакция) в реальном времени, для *TYK2* — метод ПДРФ (анализ полиморфизма длины рестрикционных фрагментов).

Таблица 1 Гены, ассоциированные с псориазом, согласно GWAS (Программа полногеномного скрининга ассоциаций)

Ген	Хромосомный регион	Генетический маркер	Показатель отношения шансов Odds Ratio
<i>TNFAIP3</i>	6q23	rs610604	1,19
<i>TNIP1</i>	5q32-33	rs17728338	1,59
<i>TYK2</i>	19p13	rs12720356	1,40
<i>REL</i>	2p16	rs702873	1,12

ПЦР в реальном времени

В ходе постановки ПЦР в реальном времени был выполнен подбор праймеров, включающих выбранные полиморфизмы, при помощи программы Oligo6 для амплификации фрагментов генов *TNFAIP3*, *TNIP1* и *REL*, а также специфичных зондов, позволяющих идентифицировать соответствующие аллели генов *TNFAIP3*, *TNIP1* и *REL* (табл. 2).

Амплификация каждого из фрагментов генов проводилась с использованием набора с HS Taq ДНК-полимеразой (Евроген, Россия) в соответствии с инструкцией производителя. Идентификация полиморфизмов генов проводилась путем аллельспецифической гибридизации амплифицированных фрагментов генов с соответствующими зондами. Считывание сигнала флуоресценции с каналов детекции FAM и Cy5 проводили на стадии отжига праймеров (54—62 °C); при этом программное обеспечение прибора представляло первичные данные в виде диаграммы распределения аллелей (табл. 3).

ПДРФ-анализ

Для изучения полиморфизма rs12720356 в гене *TYK2* был использован метод анализа полиморфизма длины рестриционных фрагментов (ПДРФ-анализ).

Протокол ПДРФ-анализа включал описанные выше этапы выделения ДНК из биообразцов крови, полученных от больных псориазом и здоровых добровольцев, и проведение методом ПЦР амплификации фрагментов гена *TYK2* с использованием ранее подобранных праймеров и условий проведения реакции (табл. 4, 5).

Далее осуществляли электрофоретическое разделение продуктов ПЦР-реакции. Результаты прохождения реакций амплификации оценивали с помощью трансиллюминатора с фотокамерой для фотографирования гелей в УФ-свете с длиной волны 310 нм (Biorad, Германия).

Рестрикция продуктов амплификации ДНК проводилась с использованием рестриктазы EcoRV (Сибэнзим, Россия) в амплификаторе Dyad (Biorad, Германия).

Таблица 2 Праймеры и зонды для амплификации фрагментов генов *TNFAIP3*, *TNIP1*, *REL* и постановки ПЦР в реальном времени

Ген	Однонуклеотидные полиморфизмы (rs)	Праймеры (для амплификации фрагмента гена)	Зонды (для идентификации полиморфизма гена)
<i>TNFAIP3</i>	rs610604	610604for GGATGGACCAAGATTGATTA 610604rev CATCATTAGCTCATAGAACA	610604G FAM-GAAAAGTGTGAGCTTTCATC-BHQ1 610604T Cy5-GAAAAGTGTAGCTTTCATC-BHQ2
<i>TNIP1</i>	rs17728338	17728338for TCATTAAGTGAAAAGTGCAT 17728338rev CTATGCTCTGAGGACAAAT	17728338 FAM-TTAGTAGGACCGTTGCAAAAAG-BHQ1 17728338 Cy5-TTAGTAGGACCGTTGCAAAAAG-BHQ2
<i>REL</i>	rs702873	702873for ATTAGGAAGATTAGTGGTGT 702873rev CTAATAAGTCAAGGACCTA	702873FAM-TAGATGATGCGTACGCTTACC-BHQ1 702873 Cy5-TAGATGATGCGTACGCTTACC-BHQ2

Таблица 3 Амплификация фрагментов генов *TNFAIP3*, *TNIP1* и *REL*

Ген	Полиморфизм	T, °C	FAM	Cy5
<i>TNFAIP3</i>	rs610604	58	C	A
<i>TNIP1</i>	rs17728338	58	G	A
<i>REL</i>	rs702873	60	G	A

Таблица 4

Праймеры и зонды для амплификации фрагментов гена *TYK2* и постановки ПЦР в реальном времени

Ген	Однонуклеотидные полиморфизмы (rs)	Праймеры (для амплификации фрагмента гена)	Зонды (для идентификации полиморфизма гена)
<i>TYK2</i>	rs12720356	12720356for TTTCAACCCAGACCAAACCT 12720356rev CACCATCTTCCAAGCCAT	12720356 FAM-TTACAGATATCATGGTGACAGA-BHQ1 12720356 Cy5-TTACAGATAGCATGGTGACAGA-BHQ2

Таблица 5

Амплификация фрагментов гена *TYK2*

Ген	Полиморфизм	T, °C	FAM	Cy5
<i>TYK2</i>	rs12720356	58	T	G

Результаты ПДРФ определялись визуально при анализе агарозного геля путем определения количества полученных фрагментов ДНК.

Статистическая обработка данных

Результаты проведенных исследований оценивались путем статистической обработки: частота встречаемости аллелей генов *TNFAIP3*, *TNIP1*, *TYK2* и *REL* определялась путем прямого расчета. Парное сравнение частот генотипов в группах больных и здоровых лиц осуществляли с использованием двустороннего критерия χ^2 для таблиц сопряженности 2×2 . Различия считали статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$. Силу ассоциаций оценивали в значениях показателя отношения шансов Odds Ratio (OR), рассчитываемого при помощи калькулятора, находящегося в открытом доступе на сайте библиотеки Meta Numerics (<http://www.meta-numerics.net/Samples/ContingencyCalculator.aspx>).

Результаты и обсуждение

Результаты изучения полиморфизмов генов *TNFAIP3* (rs610604), *TNIP1* (rs17728338), *TYK2* (rs12720356) и *REL* (rs702873)

В результате молекулярно-генетических исследований, проведенных на биоматериалах, полученных от 301 больного псориазом и 109 здоровых добровольцев, были установлены генотипы изучавшихся маркеров предрасположенности к псориазу: генотипы A/A, C/C и A/C гена *TNFAIP3* (rs610604); генотипы A/G, G/G и A/A гена *TNIP1* (rs17728338); генотипы T/T и T/G гена *TYK2* (rs12720356); генотипы AA, AG и GG гена *REL* (rs702873).

Установлена частота встречаемости полученных генотипов в группах больных псориазом и здоровых лиц в соответствующих позициях изучаемых генов (табл. 6).

Таблица 6

Частота встречаемости различных генотипов SNP генов *TNFAIP3*, *TNIP1*, *TYK2* и *REL* у больных псориазом и здоровых добровольцев, абс. (%)

Группа обследованных	Частота встречаемости генотипа										
	<i>TNFAIP3</i> (rs610604)			<i>TNIP1</i> (rs17728338)		<i>TYK2</i> (rs12720356)			<i>REL</i> (rs702873)		
	AA	CC	AC	GG	AG	AA	TT	TG	AA	AG	GG
Больные (n = 301)	124 (41,2)	30 (10,0)	147 (48,8)	231 (76,8)	66 (21,9)	4 (1,3)	282 (93,7)	19 (6,3)	31 (10,3)	147 (48,8)	123 (40,9)
Здоровые (n = 109)	60 (55,0)	10 (9,2)	39 (35,8)	98 (89,9)	11 (10,1)	0 (0)	95 (87,2)	14 (12,8)	21 (19,3)	44 (40,35)	44 (40,35)
<i>p</i>	< 0,05	> 0,05	< 0,05	> 0,05	< 0,05		< 0,05		< 0,05		> 0,05
OR	0,6		1,7		2,7		2,2		0,5		
χ^2	6,2		5,5		8,7		4,6		5,8		

Ген TNFAIP3 (rs610604)

При изучении полиморфизма rs610604 гена *TNFAIP3* у больных псориазом были определены следующие генотипы: *A/A*, *C/C* и *A/C*.

Анализ распределения генотипов и аллелей полиморфизма rs610604 показал, что частота встречаемости гомозиготного генотипа *TNFAIP3-A/A* у больных псориазом составила 41,2% и была ниже в сравнении со здоровыми (55,0%). Различия в частоте выявления данного генотипа между группами больных псориазом и здоровыми можно считать статистически достоверными ($OR = 0,6$; $\chi^2 = 6,2$; $p < 0,05$), что указывает на меньший риск развития псориаза у носителей генотипа *A/A* и протективную роль данного генотипа.

Статистически достоверными ($OR = 1,7$; $\chi^2 = 5,5$; $p < 0,05$) оказались различия в частоте выявления гетерозиготного генотипа *TNFAIP3-A/C*: у больных псориазом частота встречаемости была выше (48,8%) в сравнении с группой здоровых лиц (35,8%). Вероятность развития псориаза у лиц, гетерозиготных по *TNFAIP3-A/C* генотипу, выше, чем у носителей гомозиготных генотипов, что позволяет рассматривать генотип *A/C* как предиктор развития псориаза в российской популяции.

Гомозиготный генотип *TNFAIP3-C/C* был наиболее редким в обследованной выборке пациентов и встречался с близкой частотой как у больных псориазом (10,0%), так и у здоровых лиц (9,2%). Достоверных различий в частоте данного генотипа между группами обследуемых не установлено.

Ген TNIP1 (rs17728338)

Полиморфизм rs17728338 гена *TNIP1* характеризуется наличием трех генотипов: *A/G*, *G/G* и *A/A*.

В результате анализа характера распределения генотипов и аллелей полиморфизма rs17728338 была установлена близкая частота встречаемости гомозиготного генотипа *G/G* как у больных псориазом (76,8%), так и у здоровых лиц (89,9%). Достоверных различий в частоте встречаемости данного генотипа между группами обследуемых не установлено.

В исследовании была показана более высокая встречаемость гетерозиготного генотипа *TNIP1-A/G* среди больных псориазом (21,9%), чем в группе здоровых лиц (10,1%). Различия в частоте выявления данного генотипа между группой больных псориазом и группой здоровых добровольцев оказались статистически достоверными ($OR = 2,5$; $\chi^2 = 7,3$; $p < 0,05$), что позволяет рассматривать носителей данного генотипа как лиц с повышенной предрасположенностью к развитию псориаза, а сам генотип *TNIP1-A/G* как предиктор развития псориаза в российской популяции.

Гомозиготный генотип *TNIP1-A/A* наиболее редко встречался в популяции и регистрировался только у больных псориазом с частотой 1,3%. При сопоставлении частоты регистрации редкого аллеля *A* генотипов

TNIP1-A/G и *TNIP1-A/A* у больных псориазом и здоровых добровольцев были показаны статистически достоверные различия ($OR = 2,7$; $\chi^2 = 8,7$; $p < 0,05$), что позволяет рассматривать носителей генотипов, несущих мутантный аллель *A* (*TNIP1-A/G* и *TNIP1-A/A*), как лиц с предрасположенностью к развитию псориаза, а генотипы *TNIP1-A/G* и *TNIP1-A/A* как предикторы развития псориаза в российской популяции.

Ген TYK2 (rs8016947)

В результате изучения полиморфизма rs1272035 в гене *TYK2* были идентифицированы два генотипа: *T/T* и *T/G*.

При оценке характера распределения полиморфных вариантов гена *TYK2* установлено, что гомозиготный генотип *T/T* значительно чаще встречался у больных псориазом (93,7%) в сравнении со здоровыми лицами (87,2%) ($OR = 2,2$; $\chi^2 = 4,6$; $p < 0,05$), что позволяет рассматривать носителей данного генотипа как лиц с повышенной предрасположенностью к развитию псориаза, а генотип *TYK2-T/T* как фактор риска в отношении развития псориаза.

Напротив, гетерозиготный генотип *TYK2-T/G* значительно чаще встречался у здоровых (12,8%) в сравнении с больными псориазом (6,3%) ($OR = 2,2$; $\chi^2 = 4,6$; $p < 0,05$), что позволяет рассматривать данный генотип в качестве протекторного относительно развития псориаза.

Ген REL (rs702873)

Полиморфизм rs702873 гена *REL* был представлен тремя генотипами: *A/A*, *A/G* и *G/G*.

В изучаемой выборке были выявлены статистически достоверные различия в распределении аллелей полиморфизма rs702873. Частота встречаемости генотипов *REL-A/G* и *REL-G/G* была близка у больных псориазом (48,8 и 40,9% соответственно) и здоровых лиц (40,35 и 40,35% соответственно). Статистически достоверных различий в частоте данных генотипов между группами обследуемых установлено не было.

Генотип *REL-A/A* был наиболее редким в популяции и встречался у 10,3% больных псориазом и 19,3% здоровых добровольцев. Различия в частоте встречаемости данного генотипа оказались достоверными ($OR = 0,5$; $\chi^2 = 5,8$; $p < 0,05$), что позволяет рассматривать носителей данного генотипа как лиц с отсутствием предрасположенности к развитию псориаза.

Заключение

В результате исследования роли полиморфных вариантов генов, кодирующих белки сигнального пути ядерного транскрипционного фактора каппа-В, NF-κB [*TNFAIP3* (rs610604), *TNIP1* (rs17728338), *TYK2* (rs12720356) и *REL* (rs702873)], в предрасположенности к псориазу среди населения Российской Федерации европеоидной расы был проведен анализ распре-

деления частот генотипов и аллелей указанных генов в выборке больных псориазом и здоровых лиц из Российской Федерации.

Установлено достоверное преобладание частоты регистрации гетерозиготного генотипа *TNFAIP3-A/C* гена *TNFAIP3*, генотипов, несущих мутантный аллель А гена *TNIP1* (*TNIP1-A/G* и *TNIP1-A/A*), гомозиготного генотипа *TYK2-T/T* гена *TYK2*, что позволяет рассматривать носителей данных генотипов как лиц с предрасположенностью к развитию псориаза, а генотипы *TNFAIP3-A/C*, *TNIP1-A/G*, *TNIP1-A/A* и *TYK2-T/T* как факторы риска развития псориаза в российской популяции.

Частота встречаемости гомозиготных генотипов *TNFAIP3-A/A* гена *TNFAIP3* и *REL-A/A* гена *REL*, а также гетерозиготного генотипа *TYK2-T/G* гена *TYK2* у больных псориазом была ниже, чем в контрольной

группе. Достоверные различия в частоте выявления данных генотипов между группами больных псориазом и здоровых позволяют рассматривать носителей этих генотипов как лиц с отсутствием предрасположенности к развитию псориаза, а генотипы *TNFAIP3-A/A*, *REL-A/A* и *TYK2-T/G* — в качестве протекторов в отношении развития псориаза в российской популяции.

Таким образом, при генотипировании ДНК больных псориазом и здоровых лиц обнаружены ассоциации между полиморфизмами генов *TNFAIP3* (rs610604), *TNIP1* (rs17728338), *TYK2* (rs12720356) и *REL* (rs702873) и предрасположенностью к развитию псориаза в российской популяции. Полученные данные позволяют разработать диагностический алгоритм прогнозирования риска развития псориаза среди населения Российской Федерации. ■

Литература

- Capon F., Burden D., Trembath R. et al. Psoriasis and Other Complex Trait Dermatoses: From Loci to Functional Pathways. *J Invest Dermatol* 2012; 132: 915—922.
- Chen H., Poon A., Yeung C. et al. A Genetic Risk Score Combining Ten Psoriasis Risk Loci Improves Disease Prediction. *www.plosone.org* 2011 April; 6: 4: e19454.
- Caamano J., Hunter C.A. NF-κB family of transcription factors: central regulators of innate and adaptive immune functions. *Clin Microbiol Rev* 2002; 15: 414—429.
- Van Loo G., Beyaert R. Negative regulation of NF-κB and its involvement in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2011; 13 (3): 221.
- Nair R.P., Duffin K.C., Helms C. et al. Genome-wide scan reveals association of psoriasis with IL-23 and NF-κappaB pathways. *Nat Genet* 2009; 41: 199—204.
- Westergaard M., Henningsen J., Johansen C. et al. Expression and localization of peroxisome proliferator-activated receptors and nuclear factor kappaB in normal and lesional psoriatic skin. *J Invest Dermatol* 2003; Nov; 121: 1104—1117.
- Tejasvi T., Stuart P.E., Chandran V. et al. *TNFAIP3* gene polymorphisms are associated with response to TNF blockade in psoriasis. *J Invest Dermatol* 2012; 132: 593—600.
- Gervin K., Vigeland M.D., Mattingsdal M. et al. DNA methylation and gene expression changes in monozygotic twins discordant for psoriasis: identification of epigenetically dysregulated genes. *PLoS Genetics* 2012 Jan; 8 (1): e1002454.
- Bataille V., Lens M., Spector T.D. The use of the twin model to investigate the genetics and epigenetics of skin diseases with genomic, transcriptomic and methylation data. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2012 Jan 14.
- Chandran V. The Genetics of Psoriasis and Psoriatic Arthritis. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2012, Jan; 25.
- Mallbris L., Wolk K., Sánchez F. et al. HLA-Cw*0602 associates with a twofold higher prevalence of positive streptococcal throat swab at the onset of psoriasis: a case control study. *BMC Dermatol* 2009 May 29; 9: 5.
- Elder J.T., Bruce A.T., Gudjonsson J.E. et al. Molecular dissection of psoriasis: integrating genetics and biology. *J Invest Dermatol* 2010; 130: 1213—1226.
- Li W., Han J., Choi H.K. et al. Smoking and risk of incident psoriasis among women and men in the United States: a combined analysis. *Am J Epidemiol* 2012 Mar 1; 175 (5): 402—13.
- Wilson P.B., Bohjanen K.A., Ingraham S.J. et al. Psoriasis and physical activity: a review. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2012 Mar 5.
- Yang C.H., Murti A., Valentine W.J. et al. Interferon alpha activates NF-κappaB in JAK1-deficient cells through a *TYK2*-dependent pathway. *J Biol Chem* 2005 Jul 8; 280 (27): 25849—53.
- Tao J.H., Zou Y.F., Feng X.L. et al. Meta-analysis of *TYK2* gene polymorphisms association with susceptibility to autoimmune and inflammatory diseases. *Mol Biol Rep* 2011 Oct; 38 (7): 4663—72.
- Sato K., Shiota M., Fukuda S. et al. Strong evidence of a combination polymorphism of the tyrosine kinase 2 gene and the signal transducer and activator of transcription 3 gene as a DNA-based biomarker for susceptibility to Crohn's disease in the Japanese population. *J Clin Immunol* 2009 Nov; 29 (6): 815—25.
- Jarvinen T.M., Hellquist A., Koskenmies S. et al. Tyrosine kinase 2 and interferon regulatory factor 5 polymorphisms are associated with discoid and subacute cutaneous lupus erythematosus. *Exp Dermatol* 2010 Feb; 19 (2): 123—31.
- Li P., Chang Y.K., Shek K.W. et al. Lack of association of *TYK2* gene polymorphisms in Chinese patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol*. 2011 Jan; 38 (1): 177—8.
- Ishizaki M., Muromoto R., Akimoto T. et al. *TYK2* is a therapeutic target for psoriasis-like skin inflammation. *Int Immunol* 2013; Dec 17.
- Yang C.H., Murti A., Valentine W.J. et al. Interferon alpha activates NF-κappaB in JAK1-deficient cells through a *TYK2*-dependent pathway. *J Biol Chem* 2005 Jul 8; 280 (27): 25849—53.

об авторах:

А.А. Кубанов — д.м.н., профессор, зам. директора по научной работе ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России, Москва
А.А. Минеева — младший научный сотрудник отдела дерматологии ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России, Москва

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье