

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ЭТИОЛОГИИ И ПАТОГЕНЕЗА ПСОРИАЗА

Н.В. КУНГУРОВ, Н.Н. ФИЛИМОНКОВА, В.И. ГОЛУБЦОВ, С.А. КОРХМАЗОВА

The genetic factors in aetiology and pathogenesis of psoriasis

N.V. KUNGUROV, N.N. FILIMONKOVA, V.I. GOLUBTSOV, S.A. KORKHMAZOVA

Об авторах:

Н.В. Кунгуров — директор ФГУ «Уральский НИИ дерматовенерологии и иммунопатологии Росмедтехнологий», г. Екатеринбург, д.м.н., профессор

Н.Н. Филимонова — ведущий научный сотрудник ФГУ «Уральский НИИ дерматовенерологии и иммунопатологии Росмедтехнологий», г. Екатеринбург, д.м.н.

В.И. Голубцов — ГУВПО «Кубанский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», д.м.н., профессор

С.А. Корхмазова — ГУВПО «Кубанский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», к.м.н.

Приведены результаты генеалогического, молекулярно-генетического обследования 250 больных псориазом. Определены маркеры повышенного и пониженного риска развития псориаза, подтвержден мультифакторный характер заболевания.

Ключевые слова: псориаз, генеалогический метод, маркеры риска развития псориаза.

The results of genealogical and molecular-genetic assays of 250 patients with psoriasis are represented. The markers of increased and decreased risk of developing psoriasis have been detected; a multifactorial nature of the disease has been documented.

Key words: psoriasis, genealogical method, markers of risk of psoriasis development.

Ежегодное увеличение числа больных псориазом, в том числе тяжелыми формами дерматоза, нередко приводящими к инвалидизации (псориатический артрит, псориатическая эритродермия, экссудативный и пустулезный псориаз), особенности клинического полиморфизма, трудности терапии относят псориаз к одной из значимых медико-социальных проблем здравоохранения [1–6]. По данным ряда авторов [2, 7, 8], псориазом страдают до 2–3% населения земного шара, при этом его распространенность меняется в зависимости от этнической принадлежности и географического размещения популяции. Несмотря на многочисленные исследования отечественных и зарубежных ученых, многие аспекты этиологии и патогенеза псориаза до сих пор остаются невыясненными. Исследователями доказан мультифакторный характер псориаза с преимущественно генетическим детерминированием, при этом доля генетической компоненты составляет 60–70%, а средовой — 30–40% [3, 6–9].

Для псориаза характерно наличие двух пиков заболеваемости и в соответствии с этим двух типов дерматоза: для первого типа характерна наслед-

ственная предрасположенность и раннее начало заболевания (чаще в 15–25 лет), для второго типа — позднее начало заболевания (после 40 лет) и отсутствие генетической предрасположенности [2, 3, 5, 8, 11]. Накоплено большое количество данных о наличии ассоциации псориаза первого типа с HLA антигенами I и II классов [4, 10, 12, 13, 15].

К настоящему времени выявлено 8 локусов предрасположенности к псориазу, которые картированы на 8 хромосомах и обозначаются PSORS1–PSORS8. Установлено, что локус PSORS1, расположенный на коротком плече 6-й хромосомы (6p21.3), является из них главным, поскольку содержит несколько сцепленных генов, активно экспрессирующихся в кератиноцитах кожи. Данный локус представляет собой область, в которой расположены пять генов [HLA-C, TCF19(SC1), OTF3 (POUF5F1), HCR(Pg8), CDSN], из которых два (HCR и CDSN) имеют ассоциацию с псориазом [6, 11–15]. Однако с каким типом псориаза ассоциируются эти гены не выяснено, что и определило необходимость проведения данного исследования.

Материал и методы

В результате анализа 250 историй болезни пациентов с псориазом — жителей Краснодарского края — была оформлена программно-

статистическая документация. Клинико-анамнестические данные об исследуемых пациентах вносили в разработанные нами регистрационные карты больного псориазом, на основании которых была создана электронная база данных в виде таблиц программы Microsoft Excel 2007. При сборе анамнеза заболевания использовали методы опроса и анкетирования, с помощью которых определяли спектр и значение пусковых факторов дебюта и обострений псориаза. Оценивали также выраженность клинических симптомов заболевания — распространенность, степень тяжести, характер течения и активности псориазического процесса, наличие осложненных вариантов заболевания.

Для оценки кожного процесса использовали стандартизованный и воспроизводимый метод оценки — определение индекса PASI (Psoriasis area and severity index), интегрального индекса площади и тяжести псориазических поражений. Значения PASI до 9,9 балла включительно рассматривали как легкую степень тяжести клинических проявлений псориаза, 10—15,9 балла — как среднюю степень тяжести, 16 баллов и более — как тяжелую степень псориазического процесса.

Молекулярно-генетические исследования проведены у 107 больных преимущественно русской этнической принадлежности. Контрольную выборку составили здоровые добровольцы ($n = 93$) с отсутствием клинических проявлений псориаза. Часть исследований была выполнена в лаборатории молекулярной генетики Уральского научного центра Российской академии наук. Выделение ДНК проводили методом последовательной фенолхлороформной экстракции по Мэтью из цельной венозной крови [Mathew, 1984]. В работе изучены полиморфизмы *C325T*, *G1723T*, *C2327G* гена *HCR*, *HLA-Cw* гена *HLA-C*, *C1243T* гена *CDSN*, а также четыре микросателлитных маркера локуса *PSORS1* (*M6S145*, *M6S190*, *M6S172*, *TNF β*), последовательности которых взяты из компьютерной базы данных GDB (Genome Database <http://gdb.org>). Анализ полиморфных генов локуса *PSORS1* проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) на амплификаторе «Терцик» производства компании «ДНК-технология» с использованием ДНК-полимеразы *Thermus aquaticus* производства фирмы «Силекс». После ПЦР синтеза ДНК для выявления полиморфизмов генов *HCR*, *HLA-C*, *CDSN* был проведен рестрикционный анализ, результаты которого оценивали методом электрофореза в 7% полиакриламидном геле с последующим окрашиванием бромидом этидием и визуализацией под УФ-лучами. Число нуклеотидных повторов микросателлитных маркеров локуса *PSORS1* определяли методом секвенирования на автоматическом секвенаторе ABI Prism модель 310 (Applied Biosystems) с использованием набора для флуоресцентного мечения DYEnamicT-MET согласно протоколу фирмы производителя [Amersham

Pharmacia Biotech DYEnamic ET Terminator Cycle Sequencing Kit]. Результаты амплификации оценивали путем проведения вертикального электрофореза в 8% полиакриламидном геле (исходное соотношение акриламида и метиленисакриламида — 29:1,3 при напряжении 300В).

Математическую обработку результатов исследования проводили с помощью пакетов программ статистического анализа Rows x Columns (Roff, Bencen, 1989), оценивающих значимость сравнений методом Монте-Карло (Sham, Curtis, 1995), SPSS ver. 13.0 for Windows, Statistica ver. 6.0 (StatSoft, Inc., 2003) с использованием непараметрического метода ранговой корреляции по Спирмену, критерия χ^2 , метода простого линейного регрессионного анализа, а также вычислением показателей отношения шансов (Odds Ratio), относительного риска (Relative Risk) и их доверительных интервалов (с поправкой Ийтса на непрерывность).

Результаты и их обсуждение

Все наблюдавшиеся пациенты ($n = 250$) в зависимости от наличия или отсутствия родственников, страдающих псориазом, были разделены на две группы: 1-ю группу ($n = 84$) составили больные, у которых имелись такие родственники (группа с генетической предрасположенностью, или группа с семейным накоплением; 33,6% от объема выборки); во 2-ю группу ($n = 166$) были включены больные, у которых отсутствовали родственники, страдавшие данным дерматозом (группа со спорадическими случаями; 66,4% от объема выборки). В 1-й и 2-й группах русские составляли 84,53 и 88,55% соответственно, украинцы — 7,14 и 3,03%, больные другой национальности — 8,33 и 8,44% соответственно.

Генеалогический анализ семей пробандов 1-й группы выявил, что у преобладающего числа больных (53,13%) псориаз встречается среди родственников I степени родства (родители, сибсы, дети), реже — среди родственников II степени родства (дяди, тети, племянники, полусибсы, внуки) — в 30,20% случаев и III степени родства (двоюродные сибсы, прадедушки, прабабушки, правнуки) — в 16,67% случаев. Эти сведения согласуются с данными литературы о преобладании больных псориазом среди родственников I степени родства [7, 11]. По материнской линии псориаз встречался у 41,7% больных с семейным накоплением дерматоза, по отцовской линии — у 39,3%, по материнской и отцовской линии — у 2,3%, у сибсов и племянников — у 16,7%. Установлено, что в семьях,отягощенных данной патологией, в эндогамном браке состояли 41,67% родителей, а в семьях со спорадическими случаями заболевания — 60,24%.

При изучении вероятных триггерных факторов появления первых псориазических высыпаний большинство больных 2-й группы указали на пси-

хоэмоциональное напряжение (56,63%), что статистически значимо ($p < 0,05$, метод оценки разности между долями при условии $25\% < p < 75\%$) отличалось от аналогичного показателя в 1-й группе больных с семейным накоплением (40,48%). Полученные результаты соответствуют данным других исследований [5, 7, 12]. По остальным триггерным факторам статистически достоверных различий не установлено.

При анализе возраста манифестации первых проявлений псориаза установлено, что у мужчин 1-й группы он был статистически значимо ниже ($23,94 \pm 11,86$ года), чем у мужчин 2-й группы ($30,30 \pm 14,48$ года; $p < 0,05$). Аналогичные различия в группах выявлены и у женщин: $23,21 \pm 11,38$ и $32,68 \pm 16,04$ года соответственно; $p < 0,05$. Это свидетельствует о том, что у генетически предрасположенных к псориазу мужчин и женщин первые высыпания наблюдаются в более раннем возрасте, чем у больных, не имеющих предрасположенности, что подтверждается исследованиями других авторов [7, 12, 14].

При анализе структуры сопутствующих и перенесенных заболеваний в 1-й и 2-й группах больных выявлено, что наиболее часто встречались заболевания желудочно-кишечного тракта (у 40,23 и 35,50% соответственно), реже — ЛОР-заболевания (у 28,74 и 26,63% соответственно) и сердечно-сосудистая патология (у 13,79 и 15,38% соответственно). Достоверное различие в сравниваемых группах выявлено только по частоте встречаемости заболеваний дыхательных путей у 1,15% в 1-й группе и 8,88% больных во 2-й группе.

При оценке степени тяжести поражения кожи у 41 больного установлена легкая степень тяжести (PASI — до 9,9 балла), у 141 больного — средняя степень тяжести (PASI — 10,0—15,9 балла), у 68 больных — тяжелая степень тяжести (PASI > 16,0 баллов). Среднее значение индекса PASI у больных 1-й группы составило $14,97 \pm 4,58$ балла, у больных 2-й группы — $13,51 \pm 4,26$ балла. Статистически достоверного различия данного показателя не установлено. При изучении особенностей клинической картины псориаза выявлено, что для больных 1-й группы было характерно более раннее появление псориаза. Пациенты этой группы указывали на меньшее количество факторов, способствующих возникновению или обострению заболевания.

В ряде исследований показано, что потенциальными генами-кандидатами, ответственными за наличие чувствительности к псориазу, являются гены *CDSN* и *HCR* в локусе PSORS1 [5, 10, 12, 14]. В нашей работе в выборке больных красной дерматологической популяции изучены три полиморфных микросателлитных маркера (*M6S172*, *M6S190*, *M6S142*), а также варианты генотипического полиморфизма четырех генов *HCR*, *HLA-C*, *CDSN*, *TNF β* для локуса PSORS1. Проведенный анализ полиморфизма *C1243T* гена

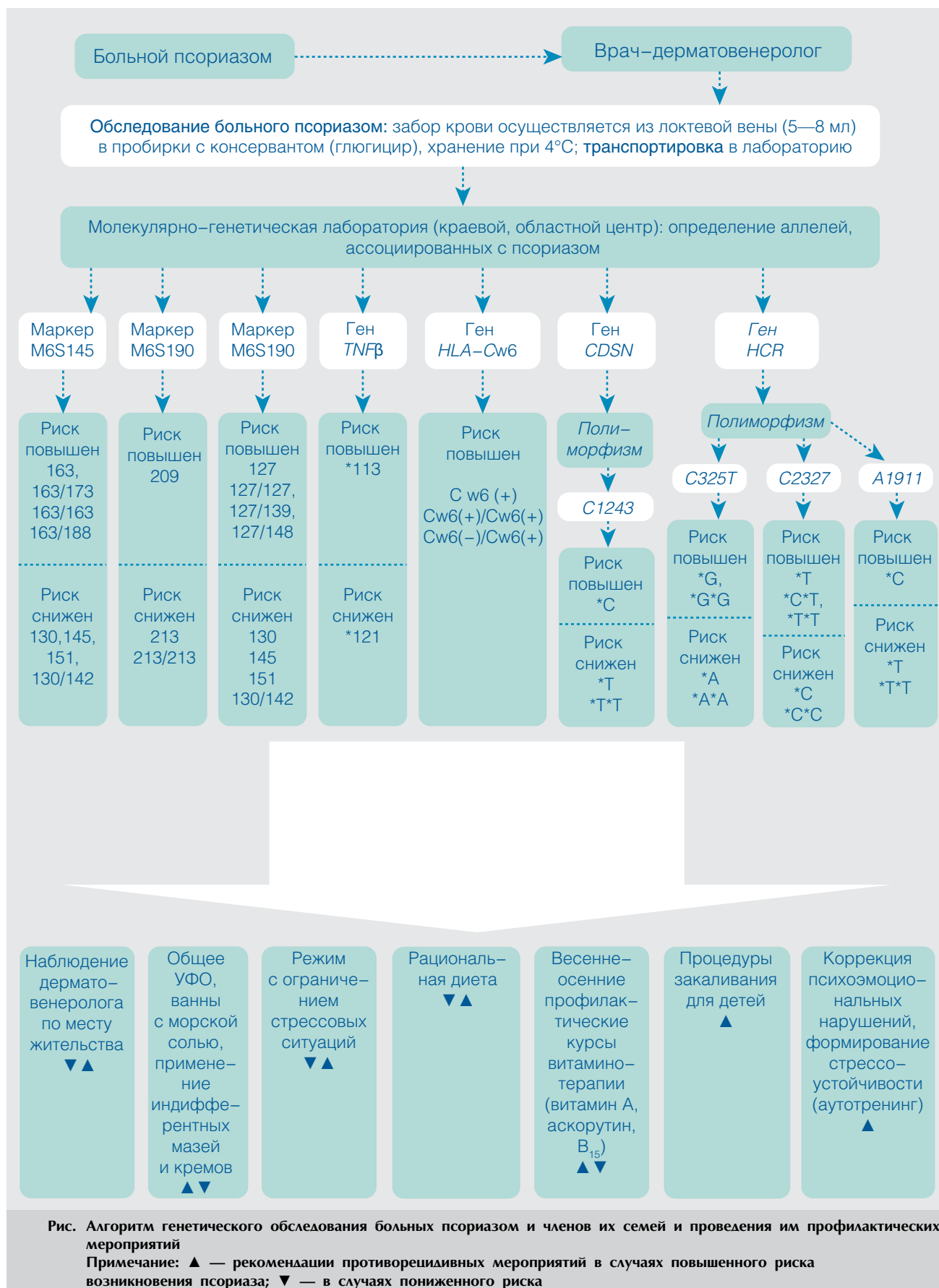
CDSN у больных с семейным накоплением псориаза не выявил какой-либо зависимости распределения частот аллелей от фенотипических признаков (семейного анамнеза, возраста манифестации и формы заболевания), а анализ локуса *HLA-Cw6* выявил ассоциацию генотипа *Cw6(+)/Cw6(+)* с более ранним началом заболевания у больных русской этнической принадлежности. Маркерами повышенного риска развития псориаза являются: аллель 163 п.н. (пары нуклеотидов) и генотип 163/173, 163/163, 163/188 п.н. (для *M6S172*); аллель 209 п.н. (для *M6S145*); аллель 127 п.н. и генотип 127/127, 127/148, 127/139 п.н. (для *M6S190*); аллель *113 (для *TNF β*). Маркерами пониженного риска являются: аллель 183 и 188 п.н., генотипы 183/187 п.н. (*M6S172*); аллель 213 п.н. и генотип 213/213 п.н. (*M6S145*); аллели 130, 145, 151 п.н., генотипы 130/142 п.н. (*M6S190*); аллель *121 (*TNF β*).

Выявлены полиморфные варианты гена *CDSN* (маркер повышенного риска — аллель *С, пониженного риска — аллель *Т и генотип *Т.Т) и *HCR* (повышен риск у носителей аллеля *Т, генотипов *С*Т и *Т.Т, полиморфизма *C325T*, аллеля *G и генотипов *С*G и *G*G полиморфизма *C2327G*, аллеля *G и генотипов *G. G; понижен риск у носителей аллеля *С и генотипа *С*С полиморфизма *C325T*, аллеля *С и генотипа *С*С полиморфизма *C2327G*, аллеля *А и генотипа *А*А полиморфизма *A1911G*).

Проведенные нами исследования позволили разработать алгоритм обследования, наблюдения, прогноза и проведения профилактических мероприятий для больных псориазом и членов их семей. Согласно алгоритму обследования (решение о выдаче патента на промышленный образец — схема «Алгоритм генетического обследования и профилактических мероприятий больных псориазом и членов их семей», заявка № 2009500774 от 23.03.2009, решение от 24 декабря 2009 г.), больной псориазом, проконсультированный врачом-дерматовенерологом в поликлинике, сдает кровь из локтевой вены для последующего ее анализа в молекулярно-генетической лаборатории (краевого, областного центра) с целью определения аллелей, ассоциированных с псориазом. При выявлении повышенного или пониженного риска ассоциации с псориазом больным рекомендуется проведение соответствующих противорецидивных профилактических мероприятий. Данное обследование предлагается и для членов семей больных псориазом (см. рис.).

Выводы

Проведенный генеалогический анализ семей с наличием псориаза в родословной выявил данное заболевание среди родственников I степени родства более чем в половине случаев (53,13%), среди родственников II степени родства — в 30,20%, среди родственников III степени родства — в 16,67%.



Анализ полиморфизма C1243T гена *CDSN* у больных с семейным накоплением псориаза не выявил связи распределения частот аллелей с фенотипическими признаками (семейным анамнезом, возрастом манифестации и формой заболевания). Выявленные маркеры M6S172, M6S190, M6S142 позволяют прогнозировать тяжесть манифестации псориаза. Обнаружены полиморфные варианты гена *CDSN* и *HCR*.

На основании результатов работы сформирован регистр семей,отягощенных псориазом с генетическим предрасположением, проводится дальнейшее их наблюдение.

Литература

1. Суворова К. Н., Антоньев А. А. Наследственные дерматозы. М.: Медицина; 1977. 230 с.
2. Кунгуров Н. В. Псориатическая болезнь / Кунгуров Н. В., Филимонкова Н. Н., Тузанкина И. А. Екатеринбург: Изд. Уральского университета; 2002. 193 с.
3. Бердникова Э. Р. К вопросу об иммунопатогенезе псориаза / Бердникова Э. Р., Филимонкова Н. Н., Тузанкина И. А. Иммунология. Аллергология. Инфектология. 2004; 5: 27—30.
4. Nickoloff B. J. The immunologic and Genetic Basis of Psoriasis. Arch Dermatol 1999; 135: 1104—1110.
5. Barker J. N. W. Genetic aspects of psoriasis. Clin Exp Dermatol 2001; 26: 321—325.
6. Holm S. J., Sanchez F., Carlen L. M. Genetics of psoriasis. Acta Derm Venereol 2005; 85: 2—8.
7. Мордовцев В. Н. Псориаз / Мордовцев В. Н., Мушет Г. В., Альбанова В. И. Кишинев: Штиинца; 1991; 186.
8. Bowcock A. M., Cookson W. O. C. M. The genetics of psoriasis, psoriatic and atopic dermatitis. Hum Mol Genet 2004; 13: 43—55.
9. Кунгуров Н. В. Особенности наследования псориатической болезни на основе анализа родословных / Кунгуров Н. В., Филимонкова Н. Н. и др. Совр. пробл. дерматовенерол. иммунол. и врачебной косметол. 2009; 3: 44—48.
10. Bowcock A. M., Barker J. N. Genetics of psoriasis: The potential impact on new therapies. J Am Acad Dermatol 2003; 49: 51—56.
11. Шульман А. Я. Возможности медико-генетического консультирования при псориазе / А. Я. Шульман, О. А. Терман, Е. Н. Кухарева. Вестн. дерматол. и венерол. 2007; 4: 21—22.
12. Пирузян А. Л., Абдеев Р. М. Молекулярная генетика псориаза. Вестн. рос. акад. мед. наук. 2006; 3: 33—43.
13. Шульман А. Я. Генетические аспекты этиологии псориаза. Рос. журн. кож. и вен. болезней. 2006; 5: 37—38.
14. Allen M. N. The major psoriasis susceptibility locus PSORS1 is not a risk factor for late-onset psoriasis / M. N. Allen, H. Ameen, C. Veal et al. J Invest Derm 2005; 124: 103—106.
15. Elder J. T. Cluster 17 Collaboration. Fine mapping of the psoriasis susceptibility gene PSORS1: a reassessment of risk associated with a putative risk haplotype lacking HLA-Cw6 [Text] / J. T. Elder Cluster 17 Collaboration. J Invest Derm 2005; 124: 921—930.