АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА ЛИМФОТОКСИНА α (+250 A/G Lta) С ФОРМИРОВАНИЕМ ХРОНИЧЕСКОЙ ИСТИННОЙ ЭКЗЕМЫ

Денисова Я.Е.¹, Чурносков М.И.¹

¹ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Россия, г. Белгород (308015, г. Белгород, ул. Победы, 85), e-mail: yana-krik@yandex.ru

В статье изучена ассоциация полиморфизма +250 A/G Lta с формированием хронической истинной экземы. Выявлены особенности ассоциации исследуемого гена-кандидата с возникновением данного заболевания в зависимости от пола. На основании полученных данных можно сделать выводы о том, что аллель +250G Lt α играет важную роль в формировании хронической истинной экземы и является фактором риска развития этого заболевания (OR=1,33). Полученные данные позволяют сделать следующие заключения: во-первых, генетический полиморфизм +250A/G Lta вовлечен в формирование подверженности к хронической истинной экземе у населения Центрального Черноземья России, во-вторых, выявлены особенности ассоциации исследуемого гена-кандидата с возникновением ХИЭ в зависимости от пола.

Ключевые слова: хроническая истинная экзема, генетические факторы, лимфотоксин α (+250 A/G Lta), фактор риска.

ASSOCIATION OF POLYMORPHISM OF LIMPHOTOXIN α (+250 A/G Lta) WITH FORMATION OF CHRONIC TRUE ECZEMA

Denisova Y.E.¹, Churnosov M.I.¹

¹Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Professional Education "Belgorod State National Research University" ("BelSU"), Belgorod, Russia, (308015, Belgorod, street Pobedy 85), e-mail: yana-krik@yandex.ru

In article the association of polymorphism of +250 A/G Lta with formation of chronic true eczema is studied. Features of association of a studied candidate gene with eczema emergence depending on a floor are revealed. Based on these data we can conclude that the allele +250 G Lt α plays an important role in the formation of chronic eczema and is a true risk factor for developing the disease (OR = 1,33). The findings lead to the following conclusions: first, genetic polymorphism +250 A / G Lta involved in the formation of the true exposure to chronic eczema in the population of the Central Chernozem Russia, and secondly, the peculiarities of the association studied candidate gene with the emergence of hand eczema depending on gender.

Keywords: chronic true eczema, genetic factors, limphotoxin α (+250 A/G Lta), risk factor.

Введение. Истинная экзема это аллергическое воспалительное заболевания кожи, склонное к хроническому течению и обострениям, вызываемое различными экзогенными и эндогенными факторами и характеризующееся полиморфизмом элементов, среди которых на первое место выступают везикулы [1]. По данным разных авторов, заболеваемость колеблется от 6,0 до 15,0 случаев на 1000 населения. Экзему регистрируют во всех странах и у представителей всех рас с одинаковой частотой у мужчин и женщин. Заболевание может возникнуть как в раннем детском возрасте, так и у лиц пожилого возраста. Пик заболеваемости отмечается в возрасте 40 лет [2].

В настоящее время принято считать экзему системным полиэтиологическим заболеванием, которое может быть вызвано многими эндогенными и экзогенными факторами, такими как генетическая предрасположенность, вторичный иммунодефицит, дисфункции нервной и эндокринной системы, инфекционно-аллергические процессы [9].

По современным представлениям, в развитии хронической истинной экземы (ХИЭ) главную роль играют Т-лимфоциты, несущие на своей поверхности специфические рецепторы к антигену и выделяющие ряд про- воспалительных цитокинов: ИЛ-1, ИЛ-2, ФНО- α [3]. Как свидетельствуют результаты ряда исследований [6,8] значимую роль в возникновении, клиническом течении и прогнозе заболевания играют генетические факторы и, прежде всего, цитокины, среди которых основными являются факторы некроза опухолей и их рецепторы [4]. Однако, следует отметить, что подавляющее число генетических исследований ХИЭ проведено за рубежом и характеризуется противоречивостью полученных данных [5,7].

Целью данной работы явилось изучение роли генетического полиморфизма +250 A/G *Lta* в формировании хронической истинной экземы.

Исследование проводили на выборке из 552 индивидуумов, из них 230 больных ХИЭ и 322 человек контрольной группы. В неё включались индивидуумы русской национальности, являющиеся уроженцами Центрального Черноземья РФ и не имеющие родства между собой. Исследуемую группу мужчин составили 205 человек, из них 84 больных ХИЭ и 121 индивидуум контрольной группы. Группа женщин включала 347 человек, в том числе 146 больных ХИЭ и 201 женщина контрольной группы.

Материалом для исследования послужила венозная кровь в объеме 4-5 мл, взятая из локтевой вены пробанда. Забор венозной крови осуществлялся в пробирки с консервантом, содержащим 0,5М раствор ЭДТА (рН=8.0). Выделение геномной ДНК из периферической крови проведено методом фенольно-хлороформной экстракции.

Анализ локуса +250 A/G *Lta* осуществлялся методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) синтеза ДНК. ПЦР проводилось на амплификаторе IQ 5 (Bio-Rad) в режиме real time с использованием ДНК-полимеразы *Thermus aquaticus* производства фирмы «Силекс-М» и олигонуклеотидных праймеров и зондов, синтезированных фирмой «Синтол». Генотипирование ДНК-маркера осуществлено методом анализа дискриминации аллелей на основе Таq Маn зондов.

Результаты исследования. Результаты генотипирования данных индивидуумов по локусу +250A/G *Lta* представлены в таблице 1.

Таблица 1

Распределение генотипов, наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности, индекса фиксации полиморфного маркера гена лимфотоксина α среди больных ХИЭ и в контроле

Локусы, показатели	Контрольная группа (n=322)	Больные ХИЭ (n=230)
--------------------	-------------------------------	------------------------

+250A/G Lta	ΣN		322	213
	$N_o(N_e)$	-250AA	178 (184,14)	102 (104,23)
		-250AG	131 (118,73)	94 (89,54)
		-250GG	13 (19,14)	17 (19,23)
	$\chi^2_{(HWE)} (p)$		3,44 (>0,05)	0,53 (>0,05)
	$H_o (H_e)$		0,41 (0,37)	0,44 (0,42)
$D (t)$		+0,10 (1,18)	+0,05 (0,54)	

Примечание: ΣN – объем выборки; N_o – наблюдаемое распределение фенотипов; N_e – ожидаемое распределение фенотипов; $\chi^2_{(HWE)}$ – показатель соответствия наблюдаемого распределения ожидаемому, исходя из равновесия Харди-Вайнберга; p – достигнутый уровень значимости для $\chi^2_{(HWE)}$; H_o – наблюдаемая гетерозиготность; H_e – ожидаемая гетерозиготность; D – индекс фиксации Райта; t – критерий Стьюдента, характеризующий индекс фиксации

Исследование распределения генотипов изучаемого полиморфного маркера показало, что в контрольной выборке и в группе больных хронической истинной экземой эмпирическое распределение генотипов соответствует теоретически ожидаемому при равновесии Харди-Вайнберга ($p > 0,05$). Уровень аллельного разнообразия по изученному локусу равен 0,41- в контроле и 0,44 среди больных ХИЭ.

При сравнительном анализе распределения частот аллелей и генотипов полиморфного маркера +250 A/G Lta в контрольной группе и среди больных ХИЭ установлена более высокая концентрация аллеля +250 G Lta у больных ХИЭ (30,05%) по сравнению с контролем (24,38%, $\chi^2=3,93$, $p=0,048$ OR=1,33 95% CI 1,00-1,77) (табл. 2).

Таблица 2

Сравнительный анализ частот аллелей и генотипов +250A/G Lta у больных ХИЭ и в контрольной группе (%)

Полиморфизм	Аллели, генотипы	Контрольная группа (n=322)		Больные ХИЭ (n=230)		OR (95% CI)	χ^2, p
		n_i	%	n_i	%		
+250A/G Lta	+250A	487	75,62	298	69,95	0,75 (0,56-0,9)	$\chi^2 = 3,93$, $p = 0,048$
	+250G	157	24,38	128	30,05	1,33 (1,00-1,77)	
	+250AA	178	55,28	102	47,89	0,74 (0,52-1,07)	$\chi^2 = 2,52$, $p = 0,11$
	+250GA	131	40,68	94	44,13	1,15 (0,8-1,66)	$\chi^2 = 0,49$, $p = 0,48$
	+250GG	13	4,04	17	7,98	2,06 (0,93-4,61)	$\chi^2 = 3,06$, $p = 0,08$

Проведено изучение ассоциации +250A/G Lta, с формированием хронической истинной экземы в зависимости от пола. Так, распределение аллеля +250G Lta и генотипа +250GG Lta у больных ХИЭ составляет 36,25% и 15,00%, соответственно, а у мужчин контрольной группы эти показатели составили 21,49% ($\chi^2=9,83$, $p=0,003$, OR=2,08 95% CI

1,30-3,32) и 2,48% ($\chi^2=9,20$, $p=0,003$, $p_{cor}=0,009$, $OR=6,94$ 95% CI 1,74-32,21), соответственно (таблица 3).

Таблица 3

Сравнительный анализ частот аллелей и генотипов +250A/G *Lta* у больных ХИЭ и индивидуумов контрольной группы мужского пола (%)

Полиморфизм	Аллели, генотипы	Контрольная группа (n=121)		Больные ХИЭ (n=84)		OR (95% CI)	χ^2 , p
		n _i	%	n _i	%		
+250A/G <i>Lta</i>	+250A	190	78,51	102	63,75	0,48 (0,30-0,77)	$\chi^2=9,83$, p=0,003
	+250G	52	21,49	58	36,25	2,08 (1,3-3,32)	
	+250AA	72	59,50	34	42,5	0,5 (0,27-0,93)	$\chi^2=4,93$, p=0,03
	+250AG	46	38,02	34	42,5	1,21 (0,65-2,23)	$\chi^2=0,24$, p=0,63
	+250GG	3	2,48	12	15,00	6,94 (1,74-32,21)	$\chi^2=9,20$, p=0,003

Проведенный сравнительный анализ распределения аллелей и генотипов +250A/G *Lta* в исследуемых выборках больных ХИЭ женщин и контрольной группы не выявил достоверных различий (таблица 4).

Таблица 3

Сравнительный анализ частот аллелей и генотипов +250A/G *Lta* у больных ХИЭ и индивидуумов контрольной группы женского пола (%)

Полиморфизм	Аллели, генотипы	Контрольная группа (n=201)		Больные ХИЭ (n=146)		OR (95% CI)	χ^2 , p
		n _i	%	n _i	%		
+250A/G <i>Lta</i>	+250A	297	73,88	196	73,68	0,99 (0,69-1,43)	$\chi^2=0,01$, p=1,01
	+250G	105	26,12	70	26,32	1,01 (0,70-1,46)	
	+250AA	106	52,74	68	51,13	0,94 (0,59-1,49)	$\chi^2=0,03$, p=0,86
	+250GA	85	42,29	60	45,11	1,12 (0,70-1,79)	$\chi^2=0,16$, p=0,69
	+250GG	10	4,97	5	3,76	0,75 (0,23-2,44)	$\chi^2=0,06$, p=0,80

Получив значимые данные об ассоциации генетического полиморфизма лимфотоксина α с развитием ХИЭ, на следующем этапе работы мы оценили роль наследственной отягощенности в формировании этих ассоциаций. На момент обследования из 230 пациентов отягощенный семейный анамнез по заболеванию был выявлен у 80

больных (34,78%), в том числе среди 84 лиц мужского пола наследственный анамнез был отягощен у 27 (11,74%), из 146 лиц женского пола у 53 (23,04%). 150 больных ХИЭ (65,22%) не имели наследственной отягощенности, в том числе 57 индивидуумов мужского пола (24,78%) и 93 женского (40,43%).

Установлены особенности ассоциаций генетического полиморфизма *+250G Lta* с формированием ХИЭ в зависимости от наследственной отягощенности.

В группе больных ХИЭ, без отягощенного семейного анамнеза, *+250A/G Lta* вносит значимый вклад в подверженность к ХИЭ. В этой группе пациентов концентрации генетических вариантов *+250G Lta* (32,73%) и *+250 GG Lta* (10,80%) достоверно выше, чем в контрольной группе, где эти показатели составили 24,38% ($\chi^2=6,48$, $p=0,01$, OR=1,51, 95% CI 1,1-2,08) и 4,04% ($\chi^2=6,63$, $p=0,01$, $p_{cor}=0,03$, OR=2,88, 95% CI 1,25-6,64), соответственно (таблица 4).

Таблица 4

Сравнительный анализ частот аллелей и генотипов *+250A/G Lta* у больных ХИЭ с неотягощенным семейным анамнезом и индивидуумов контрольной группы (%)

Полиморфизм	Аллели, генотипы	Контрольная группа (n=322)		Больные ХИЭ (n=230)		
		n _i	%	Наследственность не отягощена (n=150)		
				n _i	%	$\chi^2(p)$, OR (95% CI)
<i>+250A/G Lta</i>	<i>+250A</i>	487	75,62	187	67,27	6,48 (0,01) 0,66 (0,48-0,91)
	<i>+250G</i>	157	24,38	91	32,73	6,48 (0,01) 1,51 (1,1-2,08)
	<i>+250AA</i>	178	55,28	63	45,32	3,47 (0,06) 0,67 (0,44-1,02)
	<i>+250GA</i>	131	40,68	61	43,88	0,29 (0,59) 1,14 (0,74-1,73)
	<i>+250GG</i>	13	4,04	15	10,80	6,63 (0,01) 2,88 (1,25-6,64)

Среди больных ХИЭ с отягощенным семейным анамнезом, связи с предрасположенностью к ХИЭ с исследуемым генетическим полиморфизмом не обнаружено (таблица 5).

Таблица 5

Сравнительный анализ частот аллелей и генотипов *+250A/G Lta* у больных ХИЭ с отягощенным семейным анамнезом и индивидуумов контрольной группы (%)

Полиморфизм	Аллели, генотипы	Контрольная группа (n=322)		Больные ХИЭ (n=230)		
				Отягощенный семейный анамнез (n=80)		
		n _i	%	n _i	%	$\chi^2(p)$, OR (95% CI)
+250A/G Lta	+250A	487	75,62	111	75,00	0,03 (0,96) 0,98 (0,63-1,49)
	+250G	157	24,38	37	25,00	0,03 (0,96) 1,03 (0,67-1,59)
	+250AA	178	55,28	39	52,70	0,07 (0,79) 0,92 (0,53-1,54)
	+250GA	131	40,68	33	44,59	0,24 (0,63) 1,17 (0,68-2,01)
	+250GG	13	4,04	2	2,71	0,04 (0,84) 0,66 (0,11-3,17)

Выводы. Таким образом, можно заключить, что аллель +250G Lta играет важную роль в формировании хронической истинной экземы и является фактором риска развития этого заболевания (OR=1,33). У мужчин генетический полиморфизм +250A/G Lta имеет важное этиопатогенетическое значение при хронической истинной экземе, определяя предрасположенность к формированию данного заболевания (фактор риска - +250GG Lta (OR=6,94), протективный фактор - +250A Lta (OR=0,48)).

У лиц женского пола полиморфные варианты факторов некроза опухолей и их рецепторов не ассоциированы с развитием хронической истинной экземы. Эти результаты позволяют предположить, что у женщин подверженность к формированию ХИЭ может быть связана или с другими генетическими маркерами, или может определяться в большей степени факторами окружающей среды (частый контакт с водой и химическими моюще-чистящими средствами и др.).

Подверженность к развитию ХИЭ у индивидуумов без отягощенного семейного анамнеза также связана с генетическим полиморфизмом +250A/G Lta (факторами риска формирования ХИЭ являются генетические варианты +250G Lta (OR=1,51) и +250GG Lta (OR=2,88)).

Согласно данным литературы продукт гена Lta - лимфотоксин α задействован в процессах апоптоза, участвует в развитии первичного иммунитета и защите организма от вирусов, экспрессируется в лимфоцитах и является посредником воспалительных иммуностимулированных ответов [Mentula P., 2005; Кетлинский С.С. и др., 2008]. Lta вызывает индукцию экспрессии молекул адгезии на лейкоцитах и эндотелиальных клетках, вследствие чего стимулируется приток лейкоцитов из сосудистого русла в очаг воспаления путем трансэндотелиальной миграции [Mathy N. et al., 2000]. Клеточный инфильтрат в очаге

воспаления способствует дальнейшему развитию аллергического воспаления. Полиморфный инфильтрат в коже при экземе - результат действия образовавшихся провоспалительных цитокинов, в том числе *Lta* [Frezzolini A. et al., 2002]. Как свидетельствуют результаты других работ [Patuzzo C. et al., 2000], повышенный уровень продукции лимфотоксина α ассоциирован с генетическим вариантом + 250G *Lta*, что может обуславливать выраженные клинические проявления при развитии патологического процесса (хронической истинной экземы) в организме, что мы и зарегистрировали в настоящем исследовании.

Итак, полученные данные позволяют заключить, что, во-первых, генетический полиморфизм +250A/G *Lta* вовлечен в формирование подверженности к хронической истинной экземе у населения Центрального Черноземья России, во-вторых, выявлены особенности ассоциации исследуемого гена-кандидата с возникновением ХИЭ в зависимости от пола.

Список литературы

1. Клиническая дерматовенерология : руководство для врачей : в 2-х т. / под ред. Ю. К. Скрипкина, Ю. С. Бутова. – Москва : Гэотар- Медиа, 2009. – Т. 2. – 921 с.
2. Оспанова С. А. Совершенствование терапии экземы с учетом эндогенной интоксикации : автореф. дис. канд. мед. наук : 14.00.11 / С. А. Оспанова ; Казах. науч.-исслед. кож.-венерол. ин-т. – Алма-ты, 2008. – 24 с.
3. Павлова О.В. / Экзема: этиология, патогенез, клиника, диагностика и лечение// О.В. Павлова. М.:2010.-64с.
4. McFadden JP, Dearman RJ, White JM, Basketter DA, Kimber I. The Hapten-Atopy hypothesis II: the 'cutaneous hapten paradox'. //Clin Exp Allergy –2011. – Vol.41, №3.– P. 327-337
5. Mucoz Lejarazu D. Contact dermatitis / D. Mucoz Lejarazu// Alergologica –2005. –Vol.19– P.34-6
6. Novak N, Baurecht H, Schafer T, Rodriguez E, Wagenpfeil S, Klopp N, Heinrich J, Behrendt H, Ring J, Wichmann E, Illig T, Weidinger S (2008) Loss-of-function mutations in the filaggrin gene and allergic contact sensitization to nickel. J Invest Dermatol 128,1430–5
7. Rui F, Bovenzi M, Prodi A, Fortina AB, Romano I, Peserico A. Nickel, cobalt and chromate sensitization and occupation. – Contact Dermatitis. –2010. –Vol.62, №4. – P. 225-231
8. Sun Y. G. A gastrin-releasing peptide receptor mediates the itch sensation in the spinal cord / Y. G. Sun, Z. F. Chen // Nature. – 2007. – Vol. 448, № 7154. – P. 700-703.

9. Tumor necrosis factor alpha and lymphotoxin alpha haplotypes in idiopathic recurrent pregnancy loss [Text] / W. Zammiti, N. Mtiraoui, R. R. Finan [et al.] // Fertil. Steril. – 2009. – Vol. 91, № 5. – P. 1903-1908.

Рецензенты:

Новиков О.О., д.фарм.н., профессор, заведующий кафедрой фармацевтической химии и фармакогнозии ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», г. Белгород.

Жилякова Е.Т., д.фарм.н., профессор, заведующий кафедрой фармацевтической технологии ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», г. Белгород.