

На правах рукописи

Мальченко Екатерина Евгеньевна

**ИССЛЕДОВАНИЕ АССОЦИИИ РЯДА ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ
С ПСОРИАЗОМ И ЭКЗЕМОЙ**

14.01.10 – кожные и венерические болезни

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Новосибирск – 2018

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Немчанинова Ольга Борисовна

Научный консультант:

доктор медицинских наук, профессор

Максимов Владимир Николаевич

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор

Лысенко Ольга Васильевна

(Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры дерматовенерологии, г. Челябинск)

доктор медицинских наук, профессор

Корсунская Ирина Марковна

(Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии Российской академии наук, руководитель лаборатории физико-химических и генетических проблем дерматологии, г. Москва)

Ведущая организация: Государственное бюджетное учреждение Свердловской области «Уральский научно-исследовательский институт дерматовенерологии и иммунопатологии»

Защита диссертации состоится «_____» _____ 2018 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.062.06, созданного на базе Новосибирского государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52; тел.: (383) 229-10-83)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Новосибирского государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52; <http://ngmu.ru/dissertation/439>)

Автореферат разослан «_____» _____ 2018 года

Ученый секретарь

диссертационного совета

Т. Б. Решетникова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность избранной темы. По данным проведенных за последние годы исследований наблюдается неуклонный рост численности больных с хроническими дерматозами. Одними из самых распространенных хронических кожных заболеваний являются экзема и псориаз [Саликова Т. И., 2010]. Вопросы этиологии и патогенеза данных хронических дерматозов остаются актуальными. В частности, требует детализации роль филаггрина в механизмах нарушений в процессах кератинизации и в формировании недостаточности барьерной функции кожи.

Филаггрин – ключевой белок, участвующий в дифференцировке клеток эпидермиса и осуществлении его барьерной функции. Он образуется в ходе окончательной дифференцировки зернистых клеток эпидермиса. Образовавшийся роговой слой является барьером, который предотвращает не только потерю воды, но и попадание аллергенов и инфекционных агентов [Минеева А. А., 2012]. Z. Hou с соавторами указывают, что среди китайского населения у больных псориазом было выявлено шесть мутаций в гене филаггрина (p.K4022X; p.R826X, p.W2583X, c.7945delA, c.3321delA, p.Q2417X) [Brown S. J., 2012]. В исследовании, проведенном в Великобритании, у больных атопическим дерматитом и экземой были выявлены следующие формы мутаций в гене филаггрина: R501X, 2282del4 и S3247X [Tae W. S., 2006]. Также были установлены мутации гена филаггрина (R501X, 2282del4 и R2447X) у пациентов с экземой кистей в Дании [Хайрутдинов В. Р., 2011]. Аналогичные мутации в гене филаггрина (R501X, 2282del4) были обнаружены у пациентов с атопическим дерматитом в г. Новосибирске [Минеева А.А., 2012]. Примечательно, что мутации в гене филаггрина, выявленные в европейской популяции, редко встречаются среди азиатского населения, что иллюстрирует различия в популяционной генетике филаггрина между Европой и Азией [Lachlan J. M., 2012].

Таким образом, наличие мутаций в гене филаггрина является одной из причин развития хронических дерматозов. Учитывая вышесказанное, представляется актуальным проведение исследований мутаций гена филаггрина у больных с такими хроническими дерматозами, как экзема и псориаз, определение возможных клинико-лабораторных параллелей для оптимизации

тактики лечебно-диагностических мероприятий у данной категории пациентов.

Степень разработанности темы диссертации. В различных странах мира проводятся многочисленные исследования, посвященные вопросу влияния мутаций в гене филаггрина, а также генетических полиморфизмов на развитие хронических кожных заболеваний, в том числе псориаза и экземы. Анализ проведенных исследований доказывает вклад нулевых мутаций в гене филаггрина в развитие ихтиоза и атопического дерматита, однако данные о влиянии мутаций на развитие псориаза и экземы значительно разнятся. Ранее не проводилось исследований мутаций в гене филаггрина и генетических полиморфизмов у пациентов с псориазом и экземой, проживающих на территории Западной Сибири. Также нет отечественных работ, в которых бы проводился сравнительный анализ течения псориаза и экземы у пациентов с мутациями в гене филаггрина и генетическими полиморфизмами. Вышесказанное побудило к дальнейшему изучению мутаций в гене FLG и генетических полиморфизмов, особенностей клинического течения, эффективности стандартной медикаментозной терапии в комплексе с эмолиентами у пациентов с псориазом и экземой, проживающих в г. Новосибирске и Новосибирской области.

Цель исследования. Оценка влияний мутаций в гене филаггрина и генетических полиморфизмов у пациентов с псориазом и экземой на развитие и клиническое течение данных дерматозов.

Задачи исследования

1. Определить частоту мутаций в гене филаггрина R501X, 2282del4 у больных псориазом и экземой.
2. Определить генетические полиморфизмы генов IL6, LCE, GSTT1, GSTM1, CTLA4, IL1b, VDR у больных псориазом и экземой.
3. Оценить вероятность развития псориаза и экземы у лиц с мутациями в гене филаггрина и генетическими полиморфизмами.
4. Изучить особенности клинического течения псориаза и экземы у больных с мутациями в гене филаггрина.
5. Оценить эффективность применения эмолиентов в дополнение к стандартной медикаментозной терапии у пациентов с псориазом и экземой при наличии мутаций в гене филаггрина и генетических полиморфизмов.

Научная новизна. Получены новые данные по частоте встречаемости двух мутаций в гене филаггрина (R501X и 2282del4) среди пациентов с псориазом и экземой: определено, что мутация 2282del4 в гене филаггрина ассоциирована с развитием экземы; установлено, что развитие псориаза и экземы связано с полиморфизмом rs1800795 гена IL6 у пациентов, проживающих на территории Западной Сибири.

Впервые была проведена сравнительная характеристика пациентов с псориазом и экземой, имеющих мутацию 2282del4 в гене филаггрина; выявлены клинические особенности течения псориаза и экземы, указывающие на возможное наличие у них делеции 2282del4.

Впервые в российской популяции был описан семейный случай мутации в гене филаггрина 2282del4 при экземе.

Доказано отсутствие ассоциации делеции в локусе генов LCE3B/LCE3C, делеции гена GSTT1, делеции гена GSTM1, полиморфизма 49 A/G (rs 231775) гена CTLA4, полиморфизма -511 (rs16944) гена IL1b и полиморфизма rs731236 гена VDR с развитием псориаза и экземы.

Теоретическая и практическая значимость. Исследование мутаций в гене FLG R501X и 2282del4, а также полиморфизма rs1800795 гена IL6, делеции генов LCE3B/LCE3C, делеции гена GSTT1, делеции гена GSTM1, полиморфизма 49 A/G (rs 231775) гена CTLA4, полиморфизма -511 (rs16944) гена IL1b и полиморфизма rs731236 гена VDR при псориазе и экземе способствует пониманию особенностей клинического течения этих дерматозов. Анализ ассоциации мутаций и полиморфизмов с развитием псориаза и экземы является основанием для разработки комплекса профилактических мероприятий, что является основной задачей предиктивной медицины.

На примере семейного случая мутации 2282del4 в гене филаггрина показана необходимость внедрения клинико-генеалогического метода в дерматологическую практику, что позволит не только выявлять носителей мутаций и полиморфизмов, но и, в случае планирования семьи, на основании анализа заболеваемости членов семьи II, III и IV колена определить вероятность рождения ребенка с мутацией в гене FLG, что важно для профилактики формирования патологического фенотипа, а также разработки тактики эффективного лечения.

Имеющиеся данные о стойкой положительной динамике кожного процесса (снижение среднего значения баллов индекса PASI и EASI, баллов визуальной аналоговой шкалы и эппендорфского опросника) при регулярном использовании эмолиентов у пациентов с псориазом и экземой доказывают целесообразность включения средств данной группы в комплексную терапию данных заболеваний.

Методология и методы диссертационного исследования. Основой методологии диссертационной работы явились данные научных исследований, проведенных как в России, так и за рубежом, по этиологии, патогенезу, клинической картине, лабораторной диагностике и эффективности терапии псориаза и экземы. В настоящем исследовании применялись следующие методы: клинико-anamnestический, клинико-генеалогический, лабораторный и статистический методы. В ходе молекулярно-генетической части исследования применялись такие методы, как фенол-хлороформная экстракция ДНК, ПЦР с последующим анализом длин рестрикционных фрагментов.

Положения, выносимые на защиту

1. Носителями делеции 2282del4 в гене филаггрина являются 10,8 % пациентов с экземой, в то время как связь данной делеции с развитием псориаза не установлена; мутация R501X в гене филаггрина не влияет на вероятность развития псориаза и экземы.

2. Развитие псориаза и экземы связано с полиморфизмом rs1800795 гена IL6; носительство генотипа GG повышает риск развития псориаза в 2,1 раза и экземы в 2,2 раза, соответственно.

3. Отношение шансов найти мужчину носителя генотипа с двойной делецией GSTT1/GSTM1 в группе с псориазом в 2,6 раза выше, чем в группе контроля; отношение шансов у женщин носительниц генотипа СТ полиморфизма 511C/T (rs16944) гена IL1B попасть в группу с экземой в 2 раза выше, чем у носительниц двух других генотипов.

4. Общими клиническими характеристиками псориаза и экземы у пациентов с мутацией в гене FLG 2282del4 являются: раннее начало заболевания; наследственная отягощенность; обострения 2–3 раза в год при отсутствии связи с сезонностью; зуд, сухость и чувство стягивания кожи как в области высыпаний, так и за ее пределами; появление свежих высыпаний на

фоне проведения медикаментозной терапии; частое присоединение вторичной инфекции (бактериальной и/или грибковой).

5. Наличие изученных генетических полиморфизмов определяет ряд особенностей клинического течения псориаза и экземы:

- преобладание вульгарной формы псориаза у пациентов с полиморфизмом rs231775 гена CTLA4, в гене LCE, в гене GSTT1, GSTM1 и двойной делецией GSTT1/GSTM1; и истинной формы экземы – у пациентов с полиморфизмами в гене GSTT1 и GSTM1;

- у пациентов с полиморфизмом rs1800795 гена IL6, rs231775 гена CTLA4, а также в гене GSTM1 преобладающим провоцирующим фактором развития экземы служил контакт с бытовой химией;

- отсутствие сезонности псориаза и экземы характерно для пациентов с полиморфизмом в гене GSTT1 и rs1800795 гена IL6;

- пациентов с экземой, имеющих полиморфизмы в гене LCE и GSTT1, беспокоил сильный кожный зуд, в том числе вызывающий нарушение сна;

- патологические высыпания, приуроченные к коже верхних и нижних конечностей, при псориазе и экземе характерны для пациентов с полиморфизмами в гене LCE и GSTT1;

- для пациентов с полиморфизмами в гене LCE и rs231775 гена CTLA4 характерно среднетяжелое течение псориаза.

6. У пациентов с псориазом и экземой на фоне комплексного лечения с регулярным использованием эмолиентов наблюдалось быстрое и выраженное купирование зуда (по оценке с помощью визуально-аналоговой шкалы и эппендорфского опросника), уменьшение шелушения кожи и отсутствие свежих высыпаний; а также более выраженное снижение индекса PASI/EASI (в 5 раз и в 13,5 раз, соответственно) по окончании терапии.

Степень достоверности. Степень достоверности результатов диссертационной работы определяется достаточным количеством пациентов, страдающих псориазом и экземой, о чём свидетельствуют записи в индивидуальных картах пациентов, представленных на проверку первичной документации. Достоверность результатов настоящего исследования гарантирована формированием контрольных групп пациентов, использованием сертифицированных лабораторных методов, а также применением

компьютерной программы для статистической обработки полученных данных.

Апробация работы. Основные положения диссертации доложены и обсуждены на 7-й Российской (итоговой) научно-практической конференции с международным участием студентов и молодых ученых «Авиценна-2016» (Новосибирск, 2016), на 8-й Российской (итоговой) научно-практической конференции с международным участием студентов и молодых ученых «Авиценна-2017» (Новосибирск, 2017), на 9-й Российской (итоговой) научно-практической конференции с международным участием студентов и молодых ученых «Авиценна-2018» (Новосибирск, 2018), на научно-практической конференции «Дерматология в Сибири: наука и практика» (Новосибирск, 2017).

Диссертационная работа апробирована на заседании проблемной комиссии «Кожные и венерические болезни» ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (Новосибирск, 2018).

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательской работы ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России в рамках темы «Совершенствование методов терапевтической коррекции дерматозов и ИППП на основе исследования их патогенеза и современных клинических особенностей», номер государственной регистрации 01201461914.

Внедрение результатов исследования. Результаты исследования используются в учебном процессе на кафедре дерматовенерологии и косметологии ФГБУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 7 печатных работ, в том числе 4 из них в научных журналах и изданиях, включенных в перечень российских рецензируемых научных журналов, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 178 страницах машинописного текста, состоит из введения, четырех глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы, списка иллюстративного материала

и 1 приложения. Полученные результаты проиллюстрированы 82 таблицами и 31 рисунком. Список литературы включает 152 источника (61 в отечественных и 91 в зарубежных изданиях).

Личный вклад автора. Автор принимал непосредственное участие в получении исходных данных. Автор самостоятельно провел анализ литературы отечественных и зарубежных авторов, разработал дизайн исследования, осуществлял сбор жалоб, анамнеза заболевания и жизни, а также самостоятельно проводил клинический осмотр пациентов, формулировал диагноз и разрабатывал схемы лечения в зависимости от клинической формы заболевания. Написание всех глав, статистическая обработка и оценка результатов настоящего исследования также проводилась автором самостоятельно.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнено на кафедре дерматовенерологии и косметологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, молекулярно-генетическое исследование проводилось на базе Научно-исследовательского института терапии и профилактической медицины – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (лицензия № ФС-54-01-002153 от 23.08.2017).

В исследовании приняли участие 391 человек в возрасте от 18 до 60 лет. В основную группу вошли 191 пациент, в том числе 98 больных с псориазом и 93 – с экземой. Среди пациентов с диагнозом «псориаз» было 35 женщин (35,7 %) и 63 мужчины (64,3 %). В группе больных с экземой — 65 женщин (69,9 %) и 28 мужчин (30,1 %) соответственно. Группу сравнения частот генотипов и аллелей изучаемых мутаций и полиморфизмов составили 200 человек из популяционной выборки сопоставимые с основными группами по полу и возрасту (100 женщин и 100 мужчин). В исследование не включались больные с другими кожными заболеваниями, беременные и кормящие, пациенты с тяжелой сопутствующей патологией, а также лица, регулярно принимающие стероидные, антигистаминные, иммуносупрессивные препараты.

Клиническое обследование проводилось всем пациентам и включало: сбор

жалоб, изучение анамнестических данных и данные клинического осмотра. Для оценки степени тяжести кожного процесса у больных псориазом использовался индекс PASI (Psoriasis area and severity index). Клинические проявления экземы оценивалась по интегрированному индексу EASI (Eczema Area and Severity Index). Для оценки зуда использовались эппендорфский опросник и визуальная аналоговая шкала (ВАШ).

Лабораторное обследование выполнено всем пациентам по стандартным методикам и включало в себя: общий анализ крови, биохимический анализ крови (глюкоза, общий билирубин, общий белок, щелочная фосфатаза, АЛТ, АСТ), микроскопическое исследование соскоба на патогенные грибы.

Генетические исследования. Забор венозной крови (от 1 мл до 10 мл в зависимости от возраста и веса пациента) производился в пробирку с содержанием в качестве антикоагулянта ЭДТА для проведения молекулярно-генетического анализа (мутации в гене филагтрина 2282del4 и R501X, а также генетические полиморфизмы: делеция в гене LCE, GSTT1, GSTM1, CTLA4, IL6, IL1b, VDR).

Экстракция ДНК из крови проводилась методом фенол-хлороформной экстракции [Смит К., 1990]. К образцу крови добавляли 5-6 объемов буфера А (10 мМ трис-НСl, рН = 7,5; 10 мМ NaCl; 3 мМ MgCl₂) и растирали сгустки в гомогенизаторе. Осадки, полученные центрифугированием при 2500 гр, промывали дважды буфером А и ресуспендировали в 0,5 мл буфера В (10 мМ ЭДТА; 100 мМ NaCl; 50 мМ трис-НСl, рН = 8,5). После добавления SDS до 0,5 % и протеиназы К до 200 мкг/мл смесь инкубировали в течение ночи при 37 °С. Депротеинизацию проводили последовательно водонасыщенным фенолом, смесью фенол-хлороформ (1 : 1) и хлороформом. Осаждение ДНК проводили добавлением раствора NH₄Ac до 2,5 М. Осадок, полученный центрифугированием на микроцентрифуге «Eppendorf» в течение 10 минут, промывали 70 % этанолом дважды, растворяли в воде и доводили концентрацию ДНК до 0,5 мкг/мкл.

На первом этапе исследования все пациенты были разделены на группы:

- 1 группа – пациенты с псориазом (n = 98);
- 2 группа – пациенты с экземой (n = 93);
- 3 группа (контрольная) — пациенты, не имеющие в анамнезе кожных

заболеваний (n = 200).

Каждому пациенту из 1 и 2 групп было проведено генотипирование венозной крови с целью выявления мутаций в гене филаггрина R501X, 2282del4 и полиморфизмов в генах IL6, LCE, GSTT1, GSTM1, CTLA4, IL1b, VDR. После получения результатов 1 группа пациентов с псориазом была поделена на подгруппы:

- 1а – пациенты с мутацией в гене FLG 2282del4 (n = 4);
- 1б – пациенты с делецией в гене LCE (n = 44);
- 1в – пациенты с делецией в гене GSTT1 (n = 30);
- 1г – пациенты с делецией в гене GSTM1 (n = 43);
- 1д – пациенты с двойной делецией GSTT и GSTM (n = 11);
- 1е – пациенты с псориазом без мутаций FLG и полиморфизмов (n = 20).

Аналогично была поделена 2 группа пациентов с экземой:

- 2а – пациенты с мутацией в гене FLG 2282del4+ R501X (n = 11);
- 2б – пациенты с делецией в гене LCE (n = 45);
- 2в – пациенты с делецией в гене GSTT1 (n = 24);
- 2г – пациенты с делецией в гене GSTM1 (n = 32);
- 2д – пациенты с двойной делецией GSTT и GSTM (n = 10);
- 2е – пациенты без мутаций в гене филаггрина и полиморфизмов (n = 24).

На втором этапе исследования из пациентов, имеющих генетические дефекты, сформировались группы 3 и 4:

группа 3 – пациенты с псориазом, имеющие генетические дефекты (n = 78);

группа 4 – пациенты с экземой, имеющие генетические дефекты (n = 69).

В зависимости от проведенной терапии они были поделены на подгруппы:

подгруппа 3а – пациенты с псориазом, получавшие стандартную медикаментозную терапию и использовавшие эмолиенты (n = 46);

подгруппа 3б – пациенты с псориазом, получавшие стандартную медикаментозную терапию и не использовавшие эмолиенты (n = 32);

подгруппа 4а – пациенты с экземой, получавшие стандартную медикаментозную терапию и использовавшие эмолиенты (n = 32),

подгруппа 4б – пациенты с экземой, получавшие стандартную

медикаментозную терапию и не использовавшие эмолиенты ($n = 37$).

Методы лечения. Всем пациентам основной группы назначалась стандартная медикаментозная терапия, в соответствии со Стандартами оказания медицинской помощи (приказ об утверждении стандарта медицинской помощи, больным с экземой от 18.12.2007г. №773; приказ об утверждении стандарта медицинской помощи, больным с псориазом от 18.12.2007г. №780), а также с Федеральными клиническими рекомендациями Российского общества дерматовенерологов и косметологов (2015 г.). Объем медикаментозной терапии определялся в зависимости от стадии и клинических проявлений заболевания. Используемые эмолиенты содержали: 5 % декспантенол, 3–5 % мочевины, масло макадамии и карите, миндальное масло, аллантоин, глицерин, пчелиный воск, масло льна и ши и др.

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с помощью пакета статистических программ «SPSS 11.5». В первую очередь были определены частоты генотипов и аллелей изучаемых мутаций/полиморфизмов в выборках больных и в контрольных группах. Оценку соответствия частот генотипов равновесию Харди – Вайнберга в контрольной группе проводили с использованием критерия (хи-квадрат) χ^2 . Впоследствии проведен анализ ассоциации мутаций/полиморфизмов с эндогенными признаками и факторами риска развития псориаза и экземы. Сравнение таких показателей, как возраст начала заболевания, частота обострений и др. у носителей разных генотипов проводили после проверки нормальности распределения этих признаков по тесту Колмогорова – Смирнова. В случае если признак отвечал критериям нормального распределения, то использовали однофакторный дисперсионный анализ. В противном случае достоверность различий между двумя генотипическими классами проверяли с помощью теста Манна – Уитни для двух независимых выборок. Ассоциация носительства генотипов и аллелей изучаемых мутаций/полиморфизмов с псориазом и экземой и факторами риска проверялась с помощью таблиц сопряженности с использованием критерия χ^2 по Пирсону. В случае четырехпольных таблиц для сравнения выборок по частотам генотипов и аллелей применяли точный двусторонний критерий Фишера и определяли соответствие полученного критерия точному значению

критического уровня значимости p , обычно принимаемому в медицинских исследованиях за 0,05. Если значение точного критерия Фишера больше критического, принимается нулевая гипотеза и делается вывод об отсутствии статистически значимых различий частоты исхода в зависимости от наличия фактора риска. Если значение точного критерия Фишера меньше критического, принимается альтернативная гипотеза и делается вывод о наличии статистически значимых различий частоты исхода в зависимости от воздействия фактора риска. Относительный риск заболевания по конкретному аллелю или генотипу вычисляли как отношение шансов в процедуре Crosstabs статистического пакета программ «SPSS 11.5» [Флетчер Р., 1998; Bland J. M., 2000].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

После генотипирования венозной крови из 191 образца ДНК мутации в гене FLG 2282del4 и R501X были найдены у 15 человек (7,9 %): у 4 пациентов с псориазом (2282del4) и 11 пациентов с экземой (2282del4 и R501X). Все пациенты имели гетерозиготный тип носительства мутаций. Мутация R501X у пациентов с псориазом не найдена, число пациентов с делецией 2282del4 составило 4,1 % (рис. 1). Превалирующей мутацией среди исследуемой выборки пациентов с экземой была делеция 2282del4 в гене филаггрина, которая составила 10,8 %. Частота мутации R501X была ниже и выявлена у 1,1 % обследуемых пациентов с экземой.

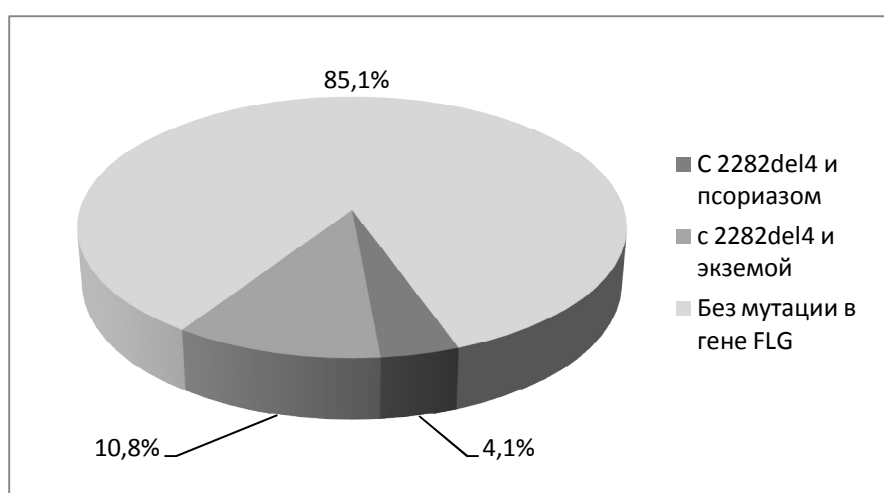


Рисунок 1 – Доля пациентов с мутацией в гене филаггрина

При проведении сравнения группы пациентов с псориазом, имеющих

мутацию в гене филаггрина 2282del4, с контрольной группой, в которую входили больные псориазом без аналогичной мутации, статистически достоверных различий не получено, связи мутации в гене филаггрина 2282del4 с развитием псориаза не обнаружено. Аналогичные данные были получены в зарубежных исследованиях. Так, частоты мутаций R501x и 2282del4 гена FLG у египтян не различались между пациентами с псориазом и контрольной группой [Kui Y. P., 2016]. К такому же мнению пришли авторы, проводившие исследования вклада мутаций в гене филаггрина в развитии псориаза в европейской популяции, в котором псориаз не был связан с мутациями R501X и 2282del4 [Reich K., 2003].

Отношение шансов развития экземы у носителей мутации 2282del4 в гене FLG в 3,3 раза выше, чем у лиц без мутации, что говорит о том, что данная мутация достоверно связана с развитием экземы. Данные настоящего исследования совпадают с результатами исследований в Европе и подтверждают, что мутации в гене филаггрина вносят существенный вклад в развитие экземы.

Средний возраст больных псориазом с мутацией в гене FLG составил $(44,0 \pm 5,2)$ лет, средний возраст начала заболевания у пациентов с псориазом и мутацией в гене FLG составил $(29,3 \pm 11,6)$ лет, минимальный возраст дебюта псориаза – 15 лет. У мужчин с диагнозом «экзема» мутации в гене филаггрина встречались в 2,8 раза чаще, чем у женщин. Средний возраст пациентов с экземой и мутациями в гене FLG составил $(33,6 \pm 11,1)$ лет, средний возраст начала заболевания составил $(12,1 \pm 7,0)$ лет. При анализе данных семейного анамнеза определено, что в группе пациентов с мутациями в гене FLG наследственная отягощенность по экземе встречалась в 2,3 раза чаще, чем среди больных без мутаций.

Пациенты, получавшие стандартную медикаментозную терапию в сочетании с эмолиентами, отмечали уменьшение зуда, шелушения, инфильтрации и размеров очагов высыпаний значительно быстрее, чем у пациентов, получавших только стандартную медикаментозную терапию (рисунок 2). У пациента с псориазом и мутацией в гене FLG, не использовавшего эмолиенты, появлялись свежие высыпания на фоне проведения стандартной медикаментозной терапии.

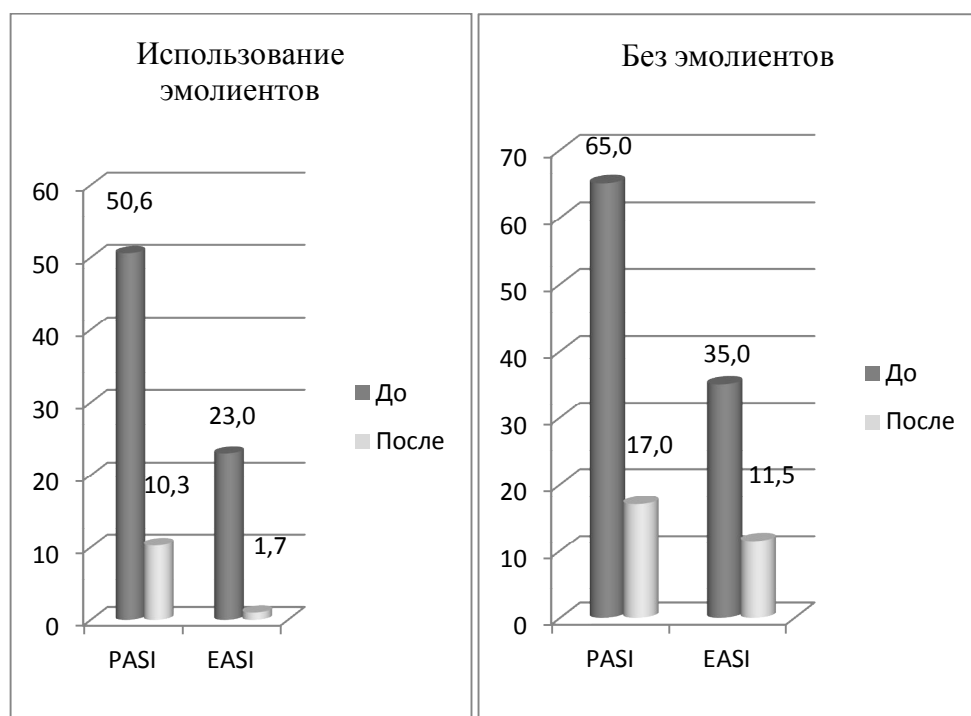


Рисунок 2 – Использование эмолиентов у пациентов с мутациями в гене филаггрина

У пациентов с экземой и мутациями в гене филаггрина, не использующих эмолиенты, на фоне проведения стандартной медикаментозной терапии также появлялись свежие высыпания. Пациенты, применявшие эмолиенты в дополнение к стандартной медикаментозной терапии, отмечали наступление улучшения (уменьшение зуда, шелушения, инфильтрации и размеров элементов сыпи) значительно быстрее, чем у тех пациентов, которые эмолиенты не использовали.

Описание семейного случая пациентов с мутацией в гене филаггрина 2282del4. Под наблюдением находилась семья из 6 человек: отец, дочь и сын, а также супруга сына, ее мама и брат. У 5 человек диагностирована экзема, у 1 пациента диагностирован атопический дерматит (рисунок 3). Все пациенты были обследованы на мутации в гене филаггрина 2282del4 и R501X.

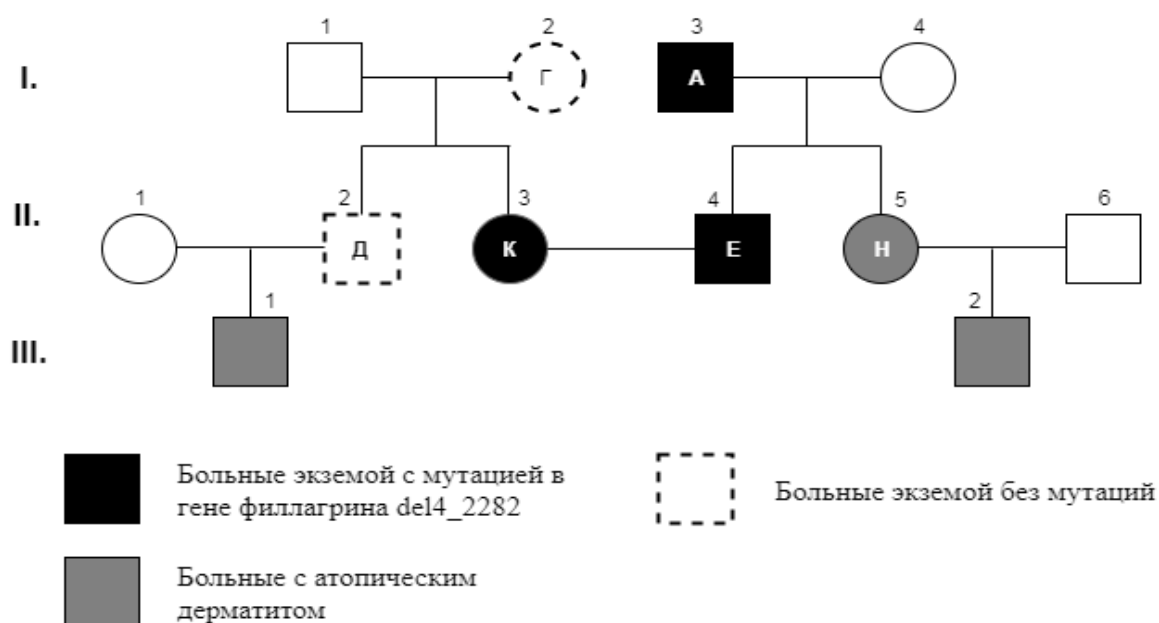


Рисунок 1 – Родословная семьи

Только в одной семье (пациента Е.) найдена мутация в гене филагрина 2282del4 в двух поколениях, что предполагает развитие мутации во второй семье (пациентки К.) de novo, поскольку у отца пациентки К. при генотипировании мутации 2282del4 и R501X в гене филагрина не были найдены. Вероятность рождения ребенка с мутацией в гене FLG у супружеской пары (пациент Е. и пациентка К.) составляет 75 %, что следует учитывать, поскольку при обнаружении мутации у будущего потомства необходимо создать условия жизни без контакта с триггерными факторами атопического дерматита и экземы (кошачья перхоть, цветущие комнатные растения, домашняя и библиотечная пыль, бытовая химия и т. д), рекомендовать постоянное применение эмолиентов, замещающих барьерную функцию кожи, что позволит значительно снизить риск развития патологического фенотипа. Следует отметить, что пациенты с мутацией в гене FLG имели раннее начало экземы, большинство пациентов сезонности заболевания не наблюдали, предъявляли жалобы на сухость и зуд кожных покровов в период обострений и ремиссии. Также по данным анамнеза и амбулаторных карт, свежие высыпания у большей части пациентов с мутацией 2282del4 появлялись на фоне медикаментозной терапии и после прямого контакта с бытовой химией. По данным клинического осмотра пациентов с мутацией в гене филагрина, у всех трех пациентов отмечался ксероз, усиление кожного рисунка и легкое

шелушение кожных покровов кистей, стоп и голеней. Особенности течения экземы у пациентов с мутацией в гене FLG, вероятно, обусловлены нарушением барьерной функции кожи, повышенной трансдермальной потерей воды и, как следствие, попадании аллергенов и токсинов в результате нарушения синтеза белка филаггрина.

Описанный семейный случай делеции 2282del4 в гене филаггрина свидетельствует о необходимости применения клинико-генеалогического метода (составление родословной, осмотр пробанда и его родственников, обследование пробанда и родственников). Зарубежные авторы сообщают, что мутации в гене FLG у матери повышают риск развития атопического дерматита у детей, даже если ребенок не наследовал мутацию. Таким образом, это исследование впервые выявило прямое влияние материнской мутации на риск развития заболевания у детей [Jorge E. G., 2015].

Исходя из полученных данных, можно выделить особенности течения псориаза и экземы у лиц, имеющих мутацию в гене филаггрина.

1. Особенности течения псориаза:

- преобладание вульгарной формы псориаза;
- обострение заболевания не реже 2-3 раза в год;
- нарушение сна, связанное с кожным зудом;
- зуд, сухость и чувство стягивания кожи в области высыпаний и на свободных участках кожи;
- распространенный характер кожного процесса и ксероз кожных покровов;
- частая локализация сыпи: кожа волосистой части головы, верхние и нижние конечности;
- преобладание тяжелого течения псориаза;
- суммарный показатель индекса PASI более 30 баллов за счет повышенного уровня шелушения и большой площади патологического процесса.

2. Особенности течения экземы:

- склонность к формированию дисгидротической формы экземы;
- обострение дерматоза 2-3 раза в год;
- зуд, сухость и чувство стягивания кожи на пораженных и неизмененных

участках кожи;

- нарушение сна из-за кожного зуда;
- ограниченный характер экзематозного процесса;
- преимущественная локализация сыпи: кожа ладоней, запястий, голеней и стоп;
- проявление ксероза на коже голеней, бедер и наружной поверхности плеч;
- преобладание среднетяжелого течения экземы с индексом EASI не менее 25 баллов.

В настоящем исследовании не удалось подтвердить ассоциации *делеции в локусе генов LCE3B/LCE3C* с развитием псориаза и экземы, т. к. достоверно значимых различий частот генотипов и аллелей в сравниваемых группах не получено. Ассоциация отсутствует как в общей группе, так и при разделении по полу. Не прослеживается влияние наследственной отягощенности у пациентов с делецией в локусе генов LCE3B/LCE3C на развитие экземы и псориаза. Полученные результаты совпадают с данными в африканской популяции, где изучение генетических мутаций в популяции Северной Африки не показало существенного вклада генотипа LCE3C_ LCE3B-Del в развитие псориаза и псориатического артрита у туниских пациентов [Ammar M., 2012; Chiraz B. S., 2014].

При сравнении групп псориаза и экземы с контролем, обнаружено повышение частоты *делеции в гене GSTT1* в группе с псориазом по сравнению с контролем. Однако говорить о прямом влиянии на развитие псориаза и экземы не получается, поскольку различия между исследуемыми группами не достигли уровня статистической значимости. Таким образом, не удалось подтвердить ассоциацию с развитием псориаза и экземы с делецией в гене GSTT1, что совпадает с результатами зарубежных исследований. По данным авторов, генотип с низкой или нулевой активностью GSTT1 не способствовал восприимчивости псориаза у пациентов в популяции центральной Европы [Riethmuller C., 2015].

В данном исследовании значимой связи *делеции в гене GSTM1* с развитием псориаза и экземы не получено. Также не наблюдается влияние наследственной отягощенности на возникновение псориаза и экземы у лиц с

делецией в гене GSTM1. При разделении пациентов по половому признаку, различия по частотам генотипов делеции в гене GSTM1 – также отсутствуют. Подобные результаты продемонстрированы среди турецких пациентов. В турецкой когорте пациентов с псориазом полиморфизм GSTM1 не был связан с восприимчивостью к «бляшечному» типу псориаза [Solak B., 2016].

Ассоциация *двойной делеции генов GSTT1 и GSTM1* с развитием псориаза и экземы в данном исследовании не подтверждена. Однако имеется тенденция к накоплению носителей двойной делеции в группах больных по сравнению с контролем. В одном из отечественных исследований было изучено влияние взаимодействия между полиморфизмом в генах GSTM1, GSTT1 и GSTP1 и связь с предрасположенностью к атопическому дерматиту и бронхиальной астме. По мнению авторов, предрасположенность к атопическому дерматиту увеличивается с накоплением гомозиготных мутантных аллелей GST [Vavilin V. A., 2003].

Установлена ассоциация *полиморфизма rs1800795 гена IL6* с псориазом и экземой. Носительство генотипа GG повышает риск развития псориаза и экземы. Полученные данные соответствуют результатам как зарубежных, так и отечественных авторов. В одном из последних зарубежных мета-анализов обнаружена связь полиморфизма -174G/C в гене IL-6 с риском развития псориаза [Nie G., 2016]. По результатам отечественного исследования, проведенного на территории Западной Сибири, установлено, что полиморфизм rs1800795 гена IL6 ассоциирован с атопическим дерматитом [Максимова Ю. В., 2015]. У носителей полиморфизма rs1800795 гена IL6 имеются особенности течения псориаза и экземы. Так, например, генотип GG повышает риск развития экземы у женщин. У пациентов с генотипом GG отсутствует наследственная отягощенность и связь с сезонностью, частым триггерным фактором начала заболевания является контакт с бытовой химией, преобладает микробная форма и средне – тяжелое течение экземы. В группе пациентов с псориазом, экссудативная форма, частое обострение (2-3 раза в год) и тяжелое течение заболевания характерно для носителей гомозиготного генотипа CC. Все пациенты, использовавшие эмолиенты, отмечали быстрое наступление положительной динамики кожного процесса и, как следствие, клиническое выздоровление.

Полиморфизм *rs231775* гена *CTLA4* не ассоциирован с псориазом и экземой, однако носительство генотипа AG у мужчин повышает риск развития экземы. Полученные данные не соответствуют ранее проведенному отечественному исследованию. Возможно вследствие разных фенотипов (экзема и атопический дерматит) и возрастных различий исследуемых групп.

В данном исследовании обнаружена ассоциация полиморфизма *rs16944* гена *IL1B* с развитием экземы и псориаза на группах без разделения по полу. Полученные результаты не совпадают с данными зарубежных авторов. В зарубежном исследовании продемонстрировано, что полиморфизм -511 гена IL-1B может быть маркером генетической восприимчивости к псориазу у корейцев [Yang-Kyum K., 2003]. Однако носительство генотипа СТ повышает риск развития экземы у женщин, что совпадает с данными отечественных авторов, которые сообщают, что полиморфизм *rs16944* (-511C/T) гена IL-1B ассоциирован с атопическим дерматитом у женщин. Носительство генотипа СТ повышает риск развития АД у женщин в русской популяции. У мужчин ассоциация не обнаружена [Максимова Ю. В., 2015].

ВЫВОДЫ

1. У пациентов с экземой мутация в гене филаггрина 2282del4 выявлена в 2,6 раза чаще, чем у пациентов с псориазом (в 10,8 % и 4,1 % случаев соответственно); мутация R501X в гене филаггрина выявлена только у больных с экземой в 1,1 % случаев, что не доказывает связь данной мутации с развитием экземы. Во всех случаях имел место гетерозиготный тип носительства.

2. Мутация 2282del4 в гене филаггрина связана с развитием экземы. Отношение шансов развития экземы у носителей мутации 2282del4 в гене FLG в 3,3 раза выше, чем у лиц без мутации.

3. Полиморфизм *rs1800795* гена IL6 ассоциирован с развитием псориаза и экземы; отношение шансов у носителей генотипа GG попасть в группу с экземой в 2,2 раза выше, чем у носителей двух других генотипов; отношение шансов у носителей генотипа GG попасть в группу с псориазом в 2,1 раза выше, чем у носителей двух других генотипов; отношение шансов найти мужчину носителя генотипа с двойной делецией GSTT1/GSTM1 в группе с псориазом в 2,6 раза выше, чем в контроле; отношение шансов у женщин носительниц генотипа СТ полиморфизма 511C/T (*rs16944*) гена IL1B попасть в группу с

экземой в 2 раза выше, чем у носительниц двух других генотипов.

4. Типичными характеристиками клинического течения псориаза и экземы у пациентов с мутациями в гене FLG 2282del4 являются: преобладание лиц мужского пола; начало заболевания в возрасте 5–15 лет; наследственная отягощенность; обострения 2-3 раза в год без связи с сезонностью; выраженный зуд и сухость кожи не только в местах высыпаний, но вне таковых; появление новых высыпаний на фоне проведения медикаментозной терапии; в 5,1 раз чаще присоединение вторичной инфекции.

5. Комплексная терапия с регулярным использованием эмолиентов у пациентов с мутацией в гене филаггрина и/или генетическим полиморфизмом при псориазе и экземе позволила снизить показатели индексов PASI и EASI, соответственно, в 1,5 раза и в 4,5 раза, а также уменьшить зуд (в баллах по визуальной аналоговой шкале и эппендорфскому опроснику) в 1,3–4,4 раза эффективнее по сравнению с аналогичными показателями у больных, отказавшихся от применения эмолиентов.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Наличие у пациентов с псориазом и экземой наследственной отягощенности по соответствующему заболеванию; частых обострений дерматоза; выраженного и упорного зуда, сухости и шелушения кожи; присоединения вторичной инфекции, толерантности к стандартной медикаментозной терапии целесообразно рассматривать как возможные клинические критерии носительства наиболее частых мутаций в гене филаггрина (2282del4 и R501X) и/или генетических полиморфизмов и рекомендовать генетическое обследование с целью определения вероятности рождения ребенка с мутацией в гене FLG, что важно для профилактики формирования патологического фенотипа.

2. На основании значительного снижения среднего значения индекса PASI и EASI, а также баллов визуальной аналоговой шкалы и эппендорфского опросника, рекомендуется всем пациентам с псориазом и экземой назначать использование эмолиентов не только на период терапии, но и в качестве базового ухода за кожей, с целью ускорить процесс клинического выздоровления и снизить риск развития рецидивов.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Мальченко, Е. Е. Роль филагтрина в развитии хронических заболеваний кожи. Обзор литературы / Е. Е. Мальченко, О. Б. Немчанинова, В. Н. Максимов // **Медицина и образование в Сибири: сетевое научное издание.** – 2015. – № 3. – С. 28.
2. Оценка течения псориаза и экземы в зависимости от наследственных особенностей / О. Б. Немчанинова [и др., в том числе Е. Е. Мальченко] // **Медицина и образование в Сибири: сетевое научное издание.** – 2015. – № 3. – С. 69
3. Немчанинова, О. Б. Роль генетических полиморфизмов в развитии псориаза / О. Б. Немчанинова, Е. Е. Мальченко, В. Н. Максимов // **Медицина и образование в Сибири: сетевое научное издание.** – 2015. – № 4. – С. 27
4. Изучение роли полиморфизма гена IL6 в развитии хронических кожных заболеваний / О. Б. Немчанинова [и др., в том числе Е. Е. Мальченко] // **Вестник Российской академии естественных наук.** – 2018. – № 2. – С. 66–70.
5. Немчанинова, О. Б. Роль мутации генов LCE в развитии псориаза и экземы / О. Б. Немчанинова, Е. Е. Мальченко, В. Н. Максимов // **Сибирский журнал дерматологии и венерологии.** – 2016. – № 17. – С. 69–72.
6. Мальченко, Е. Е. Генетический фактор как основная причина появления псориаза / Е. Е. Мальченко // **Авиценна-2014: материалы 5-й Российской научно-практической конкурс-конференции студентов и молодых ученых.** – Новосибирск, 2014. – С. 259–260.
7. Мальченко, Е. Е. Роль мутаций в гене филагтрина в развитии хронических дерматозов / Е. Е. Мальченко // **Авиценна-2017: материалы 8-й Российской научно-практической конкурс-конференции с Международным участием студентов и молодых ученых.** – Новосибирск, 2017. – С. 298–299.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АД	– атопический дерматит
ВАШ	– визуальная аналоговая шкала
ГКС	– глюкокортикостероид
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ИЛ, IL	– интерлейкин
кДа	– килодальтон
ПА, PsA	– псориатический артрит
ПДРФ	– полиморфизм длин рестрикционных фрагментов
ПС	– псориаз
ПЦР	– полимеразная цепная реакция
ЭДТА	– этилендиаминтетрауксусная кислота
ЭО	– эпипендорфский опросник
CTLA	– поверхностный антиген цитотоксических Т-лимфоцитов
FLG	– мутации в гене филагтрина
GST	– глутатион S-трансфераза
LCE	– концевой белок рогового слоя
SNP, ОНП	– полиморфизм одиночного нуклеотида
VDR	– внутриклеточный рецептор дигидроксикальциферола
PP2A	– серинтреонинпротеинфосфатаза