

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА iNOS С АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ У ДЕТЕЙ

Рукин К.Ю., Петрова И.В.

Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», Россия г. Томск

Атопический дерматит у детей в настоящее время является одной из актуальных проблем. Острота проблемы обусловлена не только его широкой распространенностью и ранним дебютом заболевания, но и частотой перехода острых форм в хронические, что не может не сказываться на качестве жизни больного, приводя к снижению социальной адаптации. Согласно современным представлениям, атопический дерматит (АД) - это хроническое рецидивирующее заболевание воспалительно-аллергического генеза связанное с иммунодефицитом, для которого характерен комплекс признаков атопии, псевдоаллергии, вегетативных нарушений с зудом, экссудативными экзематозными, лихеноидными высыпаниями на коже [1,2].

Оксид азота играет важную роль в развитии АД, поскольку он, являясь сигнальной молекулой, участвует в механизмах формирования атопии. Установлено, что при аллергическом воспалении воздействие оксида азота на микроциркуляторное русло приводит к нарастанию экссудации и тканевого отека. При значительном повышении NO образуется пероксинитрит, усиливается эозинофильное воспаление, что сопровождается прогрессированием заболевания [3,4].

Существующие на сегодняшний день данные позволяют сделать вывод о том, что полиморфизм генов NO-синтазы может являться одним из факторов наследственной предрасположенности к атопическим болезням. Однако, пока не ясно, какие мутации данных генов наиболее значимы. В связи с этим было спланировано и проведено исследование полиморфизма ((ССТТТ)n, (ТААА)n и -954G/C) промоторной области гена iNOS у детей больных АД.

Целью исследования было выявление ассоциации полиморфных вариантов гена индуцибельной NO-синтазы с развитием атопического дерматита у детей.

В исследование принимало участие 847 детей больных АД. Из них 466 мальчиков (55%) и 381 девочка (45%). Средний возраст детей составил 6,4±0,56 лет, средняя продолжительность болезни - 3,74±0,57 лет. Контрольную группу составили 720 практически здоровых детей.

Распределение больных в зависимости от тяжести болезни представлено в табл. 1. У 50% пациентов обнаружен легкий АД, 20,9% детей зарегистрировано с тяжелым дерматитом. Значимых различий тяжести болезни в зависимости от половой принадлежности не отмечено.

Таблица 1

Распределение больных в зависимости от тяжести атопического дерматита и пола

Тяжесть болезни	Всего		Мальчики		Девочки	
	n=847	%	n=466	%	n=381	%
Лёгкий АД	423*	50,0	256*	55,0	184*	48,3
Среднетяжелый АД	247	29,1	154	33,0	107	28,07
Тяжёлый АД	177	20,9	56	12,0	90	23,63

Примечание: * - $p < 0,05$ больше по сравнению с другими формами.

Кровь для молекулярно-генетического исследования брали натощак из локтевой вены в количестве 5 мл. Выделение геномной ДНК из венозной крови проводили методом фенол-хлороформной экстракции. Исследование генотипа осуществлялось методом ПЦР с последующей рестрикцией. Статистическая обработка полученных данных проводилась при помощи пакета программ "Statistica for Windows 6.0" и программного продукта "Statcalc".

Распределение генотипов полиморфизма -954G/C гена iNOS группе больных АД соответствовало ожидаемому при РХВ ($\chi^2 = 2,93$ d.f.=1, $p = 0,09$). Достоверного различия между частотами генотипов в группе больных АД и в группе контроля не обнаружено ($\chi^2 = 1,5$, $p = 0,22$). Риск формирования АД достоверно увеличивался при наличии гетерозиготы GC (RR=1,55, CI95%=1,29-1,86, $p = 0,001$).

Распределение генотипов по количеству tandemных повторов (ССТТТ)n и (ТААА)n, расположенных в промоторной области гена NOS2 в группе больных АД не соответствовало ожидаемому при РХВ ($\chi^2 = 15,44$ d.f. =1, $p = 0,001$) и ($\chi^2 = 4,6$ d.f. =1, $p = 0,03$) соответственно. Наблюдалось достоверное различие между количеством повторов (ССТТТ)n в группе больных АД и в группе контроля ($\chi^2 = 26,22$, $p = 0,001$).

В табл. 2 представлено распределение генотипов полиморфизма tandemных повторов (ССТТТ)n и (ТААА)n промоторной области гена iNOS при АД и в контрольной группе.

Вероятность формирования АД у детей с полиморфным вариантом (ССТТТ)_n снижалась при наличии гомозиготы по числу повторов равному 14-ти (14/14) и гетерозиготы 14/х. В свою очередь, у больных, гомозиготных по количеству повторов не равному 14 (х/х), риск развития АД увеличивался в 1,4 раза. Исследование полиморфизма (ТААА)_n и расчет рисков показал, что формирование АД выше при наличии гетерозиготы 220/240 (p<0,00).

Таблица 2

Распределение генотипов полиморфизмов промоторной области гена iNOS у больных атопическим дерматитом

Полиморфизм	Генотип	Больные АД		Контроль		RR	С195%	P
		n=847	%	n=720	%			
(ССТТТ) _n	14/14	21	2,47	114	15,8	0,1	0,07-0,16	<0,00
	14/х	84	9,91	312	43,3	0,23	0,18-0,29	<0,00
	х/х	742	87,6	294	39,7	1,35	1,27-1,44	<0,00
(ТААА) _n	220/220	679	80,17	498	69,16	1,01	0,98-1,03	0,63
	220/240	147	17,36	204	28,33	0,61	0,51-0,74	<0,00
	240/240	21	2,48	18	2,5	0,86	0,46-1,6	0,63

Примечание: RR - относительный риск; С195%-95% -доверительный интервал; p — достигнутый уровень значимости.

Установлено, что содержание общего IgE в сыворотке крови больных дерматитом связано с числом пентануклеотидных повторов (ССТТТ)_n в промоторе гена iNOS. Уровень IgE был значительно ниже у носителей 14 повторов. Наибольшие значения IgE отмечены у гомозигот х/х (p=0,003).

Таблица 3

Содержание общего IgE в сыворотке крови у больных атопическим дерматитом при различных генотипах полиморфизма (ССТТТ)_n гена iNOS

Генотип	n	IgE, МЕ/мл	P
14/14	3	157,98±24,90	0,032
14/х	12	514,24±99,47	0,002
х/х	93	897,67±61,07	0,003

Примечание: p - достигнутый уровень значимости при сравнении по группам генотипов.

Изученные полиморфные варианты индуцибельной NO-синтазы расположены в промоторной области гена. Возможно, при изменении числа tandemных повторов меняется конформация цис-элементов промотора, что приводит к нарушению белок-связывающей способности и времени связывания с транскрипционными факторами. Что, в свою очередь, вызывает изменение уровня экспрессии мРНК гена индуцибельной NO-синтазы и, соответственно, количества эндогенного оксида азота.

Таким образом, наличие у детей гомозиготы по количеству пентануклеотидного повтора (ССТТТ)_n не равного 14 (х/х) и гетерозиготы 220/240 тетра-нуклеотидного повтора (ТААА)_n оказывает влияние на уровень IgE в сыворотке крови больных АД и достоверно увеличивает риск развития болезни. Полученные данные можно использовать для предиктивной диагностики предрасположенности к атопическому дерматиту и формирования групп риска на основании полученных маркеров риска атопического дерматита, что позволит на ранней стадии болезни проводить первичную профилактику, уменьшая риск развития тяжелой патологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Атопический дерматит у детей: диагностика, лечение и профилактика. Научно-практическая программа Союза педиатров России. М., 2000

2. Локишина Э.Э. Роль генетических маркеров в ранней диагностике atopических заболеваний. Педиатрия. – 2006. - № 3. – с. 87-89.
3. Alderton W.K., Cooper C.E., Knowles R.G. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. // Biochem. J. 2001. V.357. P.593-615.
4. Guo F.H., Comhair S.A., Zheng S. et al. Molecular mechanisms of increased nitric oxide (NO). // J. Immunol. 2000. V.164. P.5970-5980.
5. Сборник научных тезисов и статей «Здоровье и образование в XXI веке». 2009. Т. 11. № 4.
6. Сборник научных тезисов и статей «Здоровье и образование в XXI веке». 2008. Т. 10. № 4.
7. Сборник научных тезисов и статей «Здоровье и образование в XXI веке». 2007. Т. 9. № 4.
8. Сборник научных тезисов и статей «Здоровье и образование в XXI веке». 2006. Т. 8. № 4.
9. Сборник научных тезисов и статей «Здоровье и образование в XXI веке». 2005. Т. 7. № 4.
10. Сборник научных тезисов и статей «Здоровье и образование в XXI веке». 2004. Т. 6. № 4.
11. Сборник научных тезисов и статей «Здоровье и образование в XXI веке». 2003. Т. 5. № 4.
12. Сборник научных тезисов и статей «Здоровье и образование в XXI веке». 2002. Т. 4. № 1.
13. Сборник научных тезисов и статей «Здоровье и образование в XXI веке». 2001. Т. 3. № 1.
14. Сборник научных тезисов и статей «Здоровье и образование в XXI веке». 2000. Т. 2. № 1.
15. Электронный сборник научных трудов «Здоровье и образование в XXI веке». 2009. Т. 11. № 12.
16. Электронный сборник научных трудов «Здоровье и образование в XXI веке». 2008. Т. 10. № 12.
17. Электронный сборник научных трудов «Здоровье и образование в XXI веке». 2007. Т. 9. № 12.
18. Электронный сборник научных трудов «Здоровье и образование в XXI веке». 2006. Т. 8. № 12.
19. Электронный сборник научных трудов «Здоровье и образование в XXI веке». 2005. Т. 7. № 12.
20. Электронный сборник научных трудов «Здоровье и образование в XXI веке». 2004. Т. 6. № 12.
21. Электронный сборник научных трудов «Здоровье и образование в XXI веке». 2003. Т. 5. № 12.
22. Электронный сборник научных трудов «Здоровье и образование в XXI веке». 2002. Т. 4. № 1.
23. Электронный сборник научных трудов «Здоровье и образование в XXI веке». 2001. Т. 3. № 1.
24. Электронный сборник научных трудов «Здоровье и образование в XXI веке». 2000. Т. 2. № 1.

THE ASSOCIATION POLYMORPHISM OF THE GENE nNOS WITH ATOPIC DERMATITIS

Rukin K.YU., Petrova I.V.

Siberian state medical university, Russia Tomsk

Abstract

The studying method of atopical dermatitis genetic cause is the search of disease association with the polymorphism of candidate genes.

The aim of studying is to determine the contribution of iNOS gene in the atopical dermatitis development in children.

During our investigation it has been revealed that polymorphism of the gene nNOS are associated with atopical dermatitis formation in children.

Key words: genes, atopical dermatitis, polymorphism, NO synthase.