

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПСОРИАЗА НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА АССОЦИАЦИЙ С МИКРОСАТЕЛЛИТНЫМИ МАРКЕРАМИ

Кафедра биологии с курсом медицинской генетики,

кафедра кожных и венерических болезней

Кубанского государственного медицинского университета

Введение

Псориаз (*Psoriasis vulgaris*, чешуйчатый лишай) – хронический дерматоз мультифакториальной природы с доминирующим значением в развитии генетических факторов, характеризующийся гиперпролиферацией эпидермальных клеток, нарушением кератинизации, воспалением в дерме, а также воспалением в различных органах и системах [5].

Распространенность псориаза среди населения составляет от 0,1 до 3% (Швеция – 3%, Великобритания – около 2%, США – 1,4%, Китай – 0,4%). Редко встречается псориаз у коренного населения Америки (индейских племенах), у эскимосов [3, 4, 5]. В России псориаз зарегистрирован примерно у 1% населения [3, 4].

Основными проявлениями псориаза являются мономорфные высыпания в виде папул диаметром от 1–3 мм до 2–3 см и более, розовато-красного цвета, покрытые серебристо-белыми чешуйками, при поскабливании которых определяется положительная триада Цумбуша.

Различают два типа псориаза. Псориаз I типа связан с системой HLA антигенов (HLA-Cw6, HLA-B13, HLA-B17). Этим типом страдают 65% больных, дебют приходится на молодой возраст (18–25 лет). Псориаз II типа не связан с системой HLA антигенов и возникает в более старшем возрасте.

Несомненно, большую роль в патогенезе псориаза играют изменения иммунной системы, обусловленные генетическими детерминантами. Факторами, подтверждающими эти утверждения, являются: 1) случаи семейного накопления больных псориазом

среди родственников I степени родства (родители – 13%, дети – 8,9%, сибсы – 10%); 2) более высокая конкордантность монозиготных близнецов по сравнению с дизиготными близнецами (70% и 20% соответственно); 3) существование корреляции между псориазом и различными антигенами HLA I и II классов: HLA-B13, -B17, -B35, -B39, -B57, -Cw6, -Cw7, -Cw8, -DR4, -DR7. При этом наиболее часто выявляется ассоциация антигена HLA-Cw6 с псориазом в разных этнических группах [5, 6].

В последние годы появились работы, посвященные изучению молекулярных механизмов псориаза [6, 7, 8].

На сегодняшний день картированы несколько локусов предрасположенности к псориазу, которые расположены в 8 хромосомах и имеют обозначение PSORS 1 – PSORS 8 (табл. 1).

Наиболее изученным в настоящее время является locus PSORS1, который расположен на коротком плече 6-й хромосомы среди генов главного локуса гистосовместимости человека (HLA) и содержит гены, по-видимому, играющие важную роль в развитии псориаза.

Материалы и методы

С целью изучения роли генетических факторов в развитии псориаза нами разработана регистрационная карта больного псориазом, в которую вносили паспортные данные и его витальные характеристики (Ф.И.О., пол, возраст, место рождения, возраст появления первых высыпаний, локализация первых высыпаний, а также генеалогическую информацию о наличии псориаза или другой кожной патологии у членов семьи).

Используя клинко-генеалогический метод, обследовали 185 больных псориазом в возрасте от 18 до 86 лет, находившихся на стационарном лечении в Краснодарском краевом кожно-венерологическом диспансере.

Молекулярно-генетическое исследование проведено 42 неродственному пробанду с целью поиска ассоциации псориаза с микросателлитными маркерами M6S145, M6S190, M6S172. Последовательности нуклеотидов в микросателлитных маркерах для локуса PSORS1 были взяты из электронной базы данных GDB (<http://www.gdb.org>) [10].

Для маркера

M6S145

ACAGGTGTGAGCCCAACTCCTAC
ATTAACCCACAACCTGCACTCCGCC

M6S190

CGTCAGGACTGATCTCCATTG
TGGGGTTTCATCATGTTGGC

Таблица 1

Картированные локусы псориаза

Обозначение локуса	Локализация на хромосоме
PSORS 1	6p21.3
PSORS2	17q
PSORS3	4q
PSORS4	1q21
PSORS5	3q21
PSORS6	19p
PSORS7	1p
PSORS8	16q

M6S172
 CATAAGAAGGCATGGAAATAGGGC
 TGGAGGTTGATGGTGAAGCTGAG

Материалом для исследования послужили образцы ДНК, выделенные из лейкоцитов венозной крови больных методом фенол-хлороформной экстракции. Полимеразную цепную реакцию проводили на программируемом термощикле «Терцик» производства «ДНК-технология» (Россия) с использованием ДНК-полимеразы «СибЭнзим» (Россия).

Результаты амплификации оценивали методом электрофореза в 8%-ном ПААГ в течение 3 часов при 280–320 В. Окрашивание геля производили в растворе бромистого этидия (0,1 мкг/мл в 1хТБЕ) в течение 15–20 минут, затем фотографировали в проходящем ультрафиолетовом свете с длиной волны, равной 312 нм.

Результаты и обсуждение

Средний возраст всех обследованных больных псориазом составил $41,3 \pm 13,4$ года, для больных с семейным накоплением – $41,5 \pm 14,0$ года. Среди обследованных мужчин было 62,16% (115), женщин – 37,84% (70). Урожденными Краснодарского края явились 52% обследованных.

Средний возраст первых высыпаний псориаза составил $32,1 \pm 12,85$ года, для больных с семейным накоплением этого дерматоза – $23,4 \pm 8,65$ года.

При выявлении у пробанда больных псориазом родственников семья относилась к генетически неблагополучной и проводился генеалогический анализ. Сред-

ди обследованных выявлено 60 (32,43%) больных с семейным накоплением этого дерматоза. Распространенность псориаза среди родственников I степени у обследованных составила 60,53% (46 человек), II степени родства – 17,11% (13 человек), III степени – 22,36% (17 человек).

Нами проанализировано распределение частот аллелей с разной протяженностью для трех исследуемых микросателлитных маркеров: M6S145, M6S172, M6S190.

При исследовании числа нуклеотидов в локусе PSORS1, соответствующих маркеру M6S145, установлено, что в 75% частота аллеля имела длину 209 п. н. и 25% – 211 п. н. Поскольку в этом локусе генотип 209/209 п. н. доминировал среди двух других (52,38%), можно полагать, что данный полиморфизм является наиболее ассоциированным с псориазом. Аналогичные результаты были установлены R. P. Nair и соавторами [8].

При сравнении частот аллелей, соответствующих маркеру M6S190 и имеющих размеры от 127 до 148 п. н., установлено, что частота аллеля длиной 127 п. н. составляет 52,4%, что значительно чаще, чем аллелей 136, 145 и 148 п. н. (табл. 2). Эти данные согласуются с результатами в других популяциях [1, 8]. По данному полиморфизму выявлено 14 вариантов генотипов, при этом частота гомозигот 127/127 п. н. составила 23,8%, что существенно выше других (табл. 3). Полученные нами результаты свидетельствуют об ассоциации генотипа 127/127 п. н. с псориазом в выборке больных псориазом на территории Краснодарского края.

Таблица 2

Распределение частот аллелей маркеров M6S145, M6S190, M6S172 в выборке больных псориазом в краснодарской популяции

Маркер	Размер аллелей (в п. н.)	Частота аллелей в исследованных хромосомах больных псориазом (N=84)	
		Абс.	%
M6S145	209	63	75,0
	211	21	25,0
M6S190	127	44	52,4
	130	7	8,33
	136	4	4,76
	139	14	16,66
	142	10	11,90
	145	4	4,76
	148	1	1,19
M6S172	163	46	54,76
	173	17	20,24
	178	10	11,91
	183	7	8,33
	186	1	1,19
	188	2	2,38
	193	1	1,19

Примечание: N – число хромосом.

**Распределение частот генотипов трех микросателлитных маркеров:
M6S145, M6S190, M6S172 – среди больных псориазом краснодарской популяции**

Маркер	Количество больных	Генотипы (п. н.)	Частота генотипов у больных псориазом	
			Абс.	%
M6S145	42	209/209	22	52,38
		209/211	18	42,86
		211/211	2	4,76
M6S190	42	127/127	10	23,8
		127/130	3	7,14
		127/136	3	7,14
		127/139	9	21,42
		127/142	7	16,7
		127/145	2	4,76
		130//130	1	2,38
		130/145	1	2,38
		130/139	1	2,38
		139/139	1	2,38
		139/142	1	2,38
		139/145	1	2,38
		139/148	1	2,38
		142/145	1	2,38
M6S172	42	163/163	10	23,81
		163/173	14	33,33
		163/178	3	7,14
		163/183	6	14,3
		163/188	2	4,76
		163/193	1	2,38
		173/173	1	2,38
		173/178	1	2,38
		178/178	3	7,14
		183/186	1	2,38

Анализ размера аллелей, соответствующих маркеру M6S172, показал семь вариантов аллелей с разной длиной. Наиболее частой является аллель с протяженностью 163 п. н. (54,76%). Однако генотипически у 1/3 обследованных больных псориазом определена гетерозиготность типа 163/173 п. н. (табл. 3).

Заключение

Выявлены ассоциации нуклеотидных последовательностей локуса PSORS1 в коротком плече 6-й хромосомы с микросателлитными маркерами M6S145, M6S190, M6S172, что подтверждает гипотезу генетической детерминации псориаза, а генотипический

полиморфизм анализируемых локусов, по-видимому, определяет разнообразие клинических проявлений данной патологии.

Из 27 генотипических вариантов с разным числом нуклеотидов в изучаемом локусе доминирующим оказался 209/209 п. н., что, вероятно, является характерным для больных псориазом в краснодарской популяции.

Поступила 28.09.2006

ЛИТЕРАТУРА

1. Азарова В. Н., Хамаганова И. В., Поляков А. В. Генетика псориаза // Российский журнал кожных и венерических болезней. 2003, № 6. С. 29–33.
2. Владимиров В. В., Меньшикова Л. В. Современные представления о псориазе и методы его лечения // РМЖ. Т. 6. № 20.
3. Беляев Г. М., Рыжко П. П. Псориаз. Псориатическая артропатия (этиология, патогенез, лечение, профилактика). М., 2005. 272 с.
4. Мордовцев В. Н., Мушет Г. В., Альбанова В. И. Псориаз (патогенез, клиника, лечение). Кишинев: Штиинца. 1991. 184 с.
5. Хобейш М. Н., Мошклов И. А., Соколовский Е. В. Псориаз. Современные методы лечения. С. 70–32.
6. Asumalahti K., Laitinen T. et al. Hum. Mol. Genet. 2000. Vol. 9. P. 1533–1542.
7. Jenisch S., Henseler T., Nair R. P. et al. Am. J. Hum. Genet. 1998. Vol. 63. P. 191–199.
8. Nair R. P., Stuart P., Henseler T. et al. Am. J. Hum. Genet. 2000. Vol. 66. P. 1833–1844.

9. Tai-Gyu Kim, Hye Jung Lee et al. The Society for Invest. Dermatol. 2000. P. 309–313.
10. Genome Data Base (<http://www.gdb.org>).

**S. A. KORKHMAZOVA, V. I. GOLUBTSOV,
O. A. KATKHANOVA**

MOLECULAR AND GENETIC RESEARCH OF PSORIASIS ON THE BASIS ANALYSIS OF ASSOCIATIONS WITH THREE MICROSATELLITE MARKERS

We examined 185 people (115 men and 70 women) at the age of 18 to 68 years old with the clinical manifestation of psoriasis undergoing inpatient treatment.

Molecular-genetic checkup of probands was carried out according to the methods of polymerase chain reaction using three microsatellite markers M6S145, M6S190 and M6S172. Associated between allele in the length 209 bp of marker M6S145, allele in the length 127 bp of marker M6S190, allele in the length 163 bp of marker M6S172 bp and psoriasis was reseated. Associated between genotype 209/209 bp of marker M6S145, 127/127 bp of marker M6S190 and 163/173 bp M6S172 were also researched.

Key words: psoriasis, microsatellite markers.

С. А. МАТУЛЕВИЧ, Т. А. ГОЛИХИНА

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ВНЕДРЕНИЯ ПРИКАЗА МЗ РФ № 457 от 20.12.2000 г. “О СОВЕРШЕНСТВОВАНИИ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ В ПРОФИЛАКТИКЕ НАСЛЕДСТВЕННЫХ И ВРОЖДЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ У ДЕТЕЙ” В ДЕЯТЕЛЬНОСТИ МЕДИЦИНСКИХ УЧРЕЖДЕНИЙ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ

Краевая клиническая больница № 1 имени профессора С. В. Очаповского,

Кубанская межрегиональная медико-генетическая консультация

Приоритетной задачей в области охраны здоровья матери и ребенка является снижение перинатальной смертности и заболеваемости новорожденных. Врожденная и наследственная патология вносит все более возрастающий вклад в структуру младенческой смертности, детской заболеваемости и инвалидности [1, 3]. До сих пор существуют значительные трудности в медицинской и социальной реабилитации детей, страдающих врожденными и наследственными болезнями. При проведении реабилитационных и восстановительных мероприятий государство и общество несут огромные материальные и моральные затраты [4]. В связи с этим профилактика заболеваний наследственного генеза остается одной из актуальнейших проблем медицинской науки и практического здравоохранения.

Наиболее эффективным средством профилактики наследственной патологии и врожденных аномалий развития плода является пренатальная диагностика. Она позволяет однозначно решить вопрос о пораже-

нии плода и своевременном прерывании беременности. К основным методам пренатальной диагностики относятся: ультразвуковое исследование, определение сывороточных маркеров крови матери, инвазивные методы пренатальной диагностики с определением кариотипа.

По данным большинства специализированных клиник, использование указанных технологий дает возможность уменьшить число рождений детей с наследственной и врожденной патологией приблизительно на 30%. Однако эффективность таких вмешательств пропорциональна полноте охвата ими беременных. Частоту хромосомной патологии при полном охвате беременных можно снизить на 40–45%, дефектов нервной трубки – на 85–90% [1, 2].

В целях улучшения диагностики патологии развития плода и, следовательно, предотвращения рождения бесперспективных с медицинской и социальной точек зрения детей и снижения перинатальной заболеваемости