

© І.В. ПАППА, 2013

І.В. Паппа

АНАЛІЗ МУТАЦІЙ ГЕНУ ФІЛАГГРИНУ У ХВОРИХ НА АТОПІЧНИЙ ДЕРМАТИТ, ЩО ГЕНЕТИЧНО ОБТЯЖЕНІ

ДНУ «Науково-практичний центр профілактичної та клінічної медицини» ДУС

Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика

Вступ. Атопічний дерматит асоціюється з мутаціями в гені філаггрина.

Мета. Дослідити частоту мутацій в гені філаггрина в різних сімейних групах хворих на АД. Методи. Проведено молекулярно-генетичне дослідження для визначення мутацій R501X та 2282del4 гена філаггрина у хворих на атопічний дерматит та членів їх родин.

Результати. Представлено аналіз хворих на атопічний дерматит та членів їх родин, в яких виявлені мутації в гені філаггрина. Для аналізу мутацій хворі розподілені на три клінічні групи, що дозволило відстежити спадкові фактори схильності до АД та проаналізувати спадковість мутацій в гені філаггрина. Висновки. Виявлені нами мутації в гені свідчать о значній частоті мутацій цього гену у хворих на атопічний дерматит. Продовження наших досліджень передбачає співставлення отриманих даних з генеалогічним аналізом та рівнем Ig E.

Ключові слова: атопічний дерматит, генетика, мутації, філаггрин, спадковість.

ВСТУП

Атопічний дерматит (АД) – хронічне рецидивуюче іммуно-нейро-алергічне захворювання шкіри, яке розвивається у осіб з генетичною схильністю до атопії. Типовими клінічними проявами АД є інтенсивний зуд шкіри, екзематозно-ліхеноїдні висипи, що виникають внаслідок гуперчутливості до специфічних та неспецифічних подразників [4,10].

Протягом багатьох років атопічний дерматит розглядався як алергодерматоз, що виникає в наслідок генетично детермінованого дисбалансу іммуної системи, а пошкодження епідермального бар'єру шкіри та схильність до суперінфекцій вважали вторинним явищем. Але результати фундаментальних досліджень та дані клінічних спостережень підкреслюють ключову роль в розвитку АД порушення бар'єрної функції епідермісу, що сприяє проникненню в шкіру алергенів, втрати шкірою води та вторинному інфікуванню. Підвищення проникності шкіри при АД пов'язано с порушенням процесів кератинізації внаслідок дефекту синтезу філаггрина [2,7,8].

Філаггрин є ключовим білком, що приймає участь в кінцевій диференціації кератиноцитів та утворенні бар'єру шкіри. За результатами недавніх досліджень доказано асоціацію мутацій в гені філаггрина з розвитком АД [5,6,9].

В 60% європейців, що страждають на АД, виявляються мутації в гені філаггрина на хромосомі 1q21. Філаггрин є ключовим компонентом кератоглілінових гранул зернистого шару епідермісу. Зменшення експресії філаггрина призводить до недостатності кератоглілінових гранул, що доставляють в роговий шар ліпідні

структурні компоненти, які виконують бар'єрну функцію шкіри. Дефіцит продуктів розпаду філаггрина призводить до сухості шкіри [1,3,7].

Мета дослідження - дослідити частоту мутацій 2282del4 та R501X в гені філаггрина в різних сімейних групах хворих на АД.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Під нашим спостереженням знаходився 191 пацієнт, серед них 95 осіб, хворих на atopічний дерматит. Вік пацієнтів коливався в межах від 1 до 60 років. Всіх пацієнтів було розподілено на три групи: 1-ша група – діти та мати/батько хворі на atopічний дерматит (n=33), 2-га група – діти хворі на atopічний дерматит, батьки здорові (n=90), 3-я група – діти здорові, мати/батько хворі на atopічний дерматит (n=30). Контрольну групу становили батьки та діти однієї родини, без обтяженого алергологічного анамнезу (n=38).

Діагноз встановлено за наявністю скарг і клінічних проявів, які відповідають основним діагностичним критеріям АД, виділенням *Naip1n* та *Rajka*, а також згідно проекту клінічних настанов з діагностики, профілактики та лікування atopічного дерматиту. Всім пацієнтам була проведена специфічна алергологічна діагностика, яка включала вивчення алергологічного анамнезу, оцінки важкості захворювання симптомів АД за шкалою SCORAD, визначення вмісту загального та специфічних Ig E у сироватці крові.

Молекулярно-генетичне дослідження застосовано для визначення найбільше поширених мутацій R501X та 2282del4 гена філаггрина (FLG). Матеріалом для дослідження була периферійна кров, яку забирали у пробірки з антикоагулянтом EDTA. Виділення ДНК здійснювали за стандартним методом з використанням комерційної тест-системи "ДНК-сорб-В" (ЦНДІ Епідеміології Міністерства охорони здоров'я РФ) на базі генетичної лабораторії кафедри медичної генетики НМАПО ім. П.Л.Шупика. Для визначення мутацій R501X та 2282del4 гена FLG використовували метод полімеразної ланцюгової реакції з подальшим аналізом поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів (ПЛР-ПДРФ) за методикою, запропонованою Smith, F. J. D. з співавт.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У всіх хворих в основному діагностовано середню ступінь важкості за шкалою SCORAD, найбільше серед дітей I та II групи 68,75% та 70,5% відповідно, на відміну від 47% дорослих першої групи та 44,5% дорослих третьої групи. В другій та третій групах кількість хворих з тяжким ступенем важкості переважало над кількістю хворих з легким ступенем важкості 38,8% третьої групи та 20,5% другої групи в порівнянні з 16,7% третьої групи та 9% другої групи. В першій групі легкий ступінь важкості діагностовано в 41,2% дорослих та 18,75% дітей, на відміну від 11,8% дорослих та 12,5% дітей, в яких діагностовано тяжкий ступінь важкості за шкалою SCORAD (табл.).

З 34 хворих, яким було проведено дослідження для виявлення мутацій R501X та 2282del4 в гені філаггрина (FLG), мутації виявлено в 7 хворих на atopічний дерматит, із них у одного хворого було виявлено мутацію R501X в гені філаггрина та в 6 пацієнтів - 2282del4 в гені філаггрина (табл.).

Оцінка ступеню важкості за шкалою SCORAD

Значення SCORAD	I група				II група		III група	
	Батьки хворі на АД (n=17)		Діти хворі на АД (n=16)		Діти хворі на АД (n=44)		Батьки хворі на АД (n=18)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
До 20 балів	7	41,2%	3	18,75%	4	9%	3	16,7%
20-40 балів	8	47%	11	68,75%	31	70,5%	8	44,5%
Більше 40 балів	2	11,8%	2	12,5%	9	20,5%	7	38,8%

Характеристика хворих з мутаціями в генах філаггріну:

1. Хвора С., 30 років, III групи, страждає на atopічний дерматит з народження, діагностовано тяжкий ступінь важкості (SCORAD = 46,2, довготривалі загострення), загальний Ig E 111, підвищений рівень специфічного IgE до пилоквих алергенів, мутації в гені філаггрін не виявлено, але в її дочки, 7 років, без клінічних проявів АД виявлено мутацію 2282del4 в гені філаггріну.

2. Хвора З., 34 роки, I групи, захворювання почалось з п'яти років, страждає протягом 29 років, легким ступенем важкості (SCORAD= 10,9 балів, загострення 1-2 рази на рік, ремісія довготривала, хороша відповідь на терапію), загальний Ig E 98,2, підвищений рівень специфічного Ig E до побутових та пилоквих алергенів, виявлено мутацію 2282del4 в гені філаггріну.

її дитина, 9 років, I групи, страждає на atopічний дерматит з п'яти років, середня ступінь тяжкості (SCORAD= 35,8 балів, загострення до 3-4 разів на рік), загальний Ig E 320,3, підвищений рівень специфічного Ig E до побутових, харчових та пилоквих алергенів, виявлено мутацію 2282del4 в гені філаггріну.

3. Хвора К., 30 років, I групи, захворювання почалось в 1,5 місячному віці, страждає протягом 28 років, легким ступенем важкості (SCORAD= 12,3 балів, загострення 1-2 рази в рік, хороша відповідь на терапію), загальний Ig E 85,6, підвищений рівень специфічного Ig E до пилоквих алергенів, виявлено мутацію 2282del4 в гені філаггріну.

її дитина, 5 років, страждає на АД з трьох років, середній ступінь тяжкості (SCORAD = 21,1), загальний Ig E 290,5, страждає на алергічний риніт, кон'юнктивіт, алергічною реакцією на тварин та пилоквих алергени, мутацій в гені філаггріну не виявлено.

4. Хворий Ф., 9 років, II група, захворювання почалось з трьох років, страждає протягом 6 років, середній ступінь тяжкості (SCORAD= 26,7 балів, загострення 3-4 рази на рік), загальний Ig E 630,2, підвищений рівень специфічного Ig E до харчових та пилоквих алергенів, виявлено мутацію 2282del4 в гені філаггріну. Батьки дитини на atopічний дерматит та інші алергічні захворювання не страждають, мутацій в гені філаггріну не виявлено.

5. Хвора Т., 27 років, III групи, захворювання розпочалось з 2-х місяців, страждає протягом 27 років, тяжким ступенем важкості (SCORAD= 47,5 балів, довготривалі

загострення, терапія малоефективна), загальний Ig E 282,4, підвищений рівень специфічного Ig E до побутових алергенів, виявлено мутацію 2282del4 в гені філаггріну. Батько хворої страждає на алергічний контактний дерматит.

Її дитина, 5 років, без клінічних проявів та мутацій в гені філаггріну.

6. Хвора Г., 31 рік, I групи, захворювання почалось з 10 років, страждає протягом 21 років, легким ступенем важкості (SCORAD= 10,2 балів, загострення 1-2 рази на рік, хороша відповідь на терапію), загальний Ig E 62,5, мати страждає на псоріаз, виявлено мутацію 2282del4 в гені філаггріну.

Її чоловік Г., I групи, захворювання почалось у 1 рік, страждає протягом 31 року, легким ступенем важкості (SCORAD= 14,2 балів, загострення 1-2 рази на рік, добра відповідь на терапію), загальний Ig E 103,9, має алергічний риніт, мутацій в гені філаггріну не виявлено.

Їх діти: 2 роки та 5 років також страждають на atopічний дерматит, середнім ступенем важкості (SCORAD= 25,8 балів) та легким ступенем важкості (SCORAD= 14,2 балів) відповідно, але в них мутацій в гені філаггріну не виявлено.

ВИСНОВОК

Виявлені мутації R501X та 2282del4 в гені філаггріну в 20,6% випадків (7 випадків з 34 досліджених) свідчать о значній частоті мутацій цього гену у хворих на atopічний дерматит.

Перспективний напрямок наших досліджень передбачає співставлення отриманих даних з генеалогічним аналізом та рівнем Ig E.

Література

1. Васильев-Ступальский Е.А. Методы исследования и врачебное вмешательство при atopическом дерматите у взрослых. Клин. дерматология и венерология. 2011, 1: 4-9.
2. Калюжная Л.Д., Слабкий Г.А., Горбенко А.В. Европейские рекомендации по лечению atopического дерматита 2011 года: анализ современных технологий топической терапии. Укр. Журн. дерматології, венерології, косметології. 2012, 2: 52-60.
3. Клименко В.А. Характеристика різних патогенетичних варіантів atopічного дерматиту у дітей. Дерматологія та венерологія. 2008, 2 (40): 54-58.
4. Проект клінічних настанов з діагностики, профілактики та лікування atopічного дерматиту. К. 2012.
5. Саликова Т.И., Максимов В.Н., Максимова Ю.В., Аллахвердян А.А., Климов В.В., Денисов А.А., Кошовкина Т.В. Мутации в гене филаггрина как предрасполагающий фактор развития atopического дерматита. Клиническая дерматология и венерология. 2010, 3: 4-7.
6. Katsarou A., Armenaka M.C. Atopic dermatitis in older patients: particular points. JEADV. 2012, 25: 12-18.
7. Mlitz V., Latreille J., Gardiier S. et al. Impact of filaggrin mutations on Raman spectra and biophysical properties of the stratum corneum in mild to moderate atopіc dermatitis. JEADV. 2012, 26: 983-990.
8. Novak N., Simon D. Atopic dermatitis – from new pathophysiologic insights to individualized therapy. Allergy. 2011, 66 (7): 830-839.

9. Rodriguez E., Baurecht H., Herberich E. et al. Meta-analysis of filaggrin polymorphisms in eczema and asthma: robust risk factors in atopic disease. *J. Allergy. Clin. Immunol.* 2009, 123: 1361–1370.

10. Rig J., Alomar A., Bieber T. et al. Guidelines for treatment of atopic eczema (atopic dermatitis) Part I. *J.EADV.* 2012, 26: 1045-1060.

И.В. Паппа

Анализ мутаций гена филаггрина у генетически отягощенных больных атопическим дерматитом

ГНУ «Научно-практический центр профилактической и клинической медицины» ГУД,

Национальная медицинская академия последипломного образования имени П.Л.Шупика

Вступление. Атопический дерматит (АД) ассоциируется с мутациями в гене филаггрина. Цель. Изучить частоту мутаций в гене филаггрина в различных семейных группах больных АД.

Методы. Проведено молекулярно-генетическое исследование для выявления мутаций R501X и 2282del4 в гене филаггрина у больных атопическим дерматитом и членов их семей. Результат. Представлен анализ больных атопическим дерматитом и членов их семей, у которых выявлены мутации в гене филаггрина. Для анализа генетических мутаций больные разделены на три клинические группы, что позволило отследить наследственные факторы предрасположенности к АД и проанализировать наследственность мутаций в гене филаггрина.

Выводы. Выявленные нами мутации в гене филаггрина свидетельствуют о высокой частоте мутаций этого гена у больных атопическим дерматитом. Продолжение наших исследований предусматривает сопоставление полученных данных с генеалогическим анализом и уровнем Ig E.

Ключевые слова: атопический дерматит, генетика, мутации, филаггрин, наслед-ственность.

I.V.Pappa

Analysis of filaggrin mutations in genetically compromised patients with atopic dermatitis

SSD “Scientific and Practical Centre of Preventive and Clinical Medicine”, SDA ,
Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education

Introduction. Background atopic dermatitis (AD) is associated with null mutations in the filaggrin(FGR) gene.

Aim. To investigate the frequency of FGR null mutations in different family groups of AD patients.

Methods. Genomic DNA study for detection of R501X and 2282del4 filaggrin mutations in patients with atopic dermatitis and members of their families were conducted.

Results. Analysis of the AD patients and members of their families with mutations in the filaggrin gene was introduced. For analysis of filaggrin gene mutations all patients were divided into three clinical groups, which facilitated tracing genetic factors predisposing to atopic dermatitis and analysing possibility of filaggrin gene mutations inheriting.

Conclusions. Our findings suggest a high prevalence of FLG mutations in AD patients. Further studies are expected to correlate the findings with genealogical analysis and Ig E level.

Key words: atopic dermatitis, genetics, mutations, filaggrin, heredity.