

ДЕРМАТОВЕНЕРОЛОГІЯ

УДК 616.517 – 097:575.191

© Л.Д. КАЛЮЖНА, Т. М. ПОВХАНИЧ-ГРИЦЯК, 2015

Л.Д. Калюжна, Т. М. Повханич-Грицяк

АСОЦІАЦІЯ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА TNF- α 3 ЦИТОКІНОВИМ СТАТУСОМ ТА ДЕЯКИМИ КЛІНІЧНИМИ ОСОБЛИВОСТЯМИ У ХВОРИХ НА ПСОРИАЗ

Національна медична академія післядипломної освіти
імені П. Л. Шупика, Київ

Вступ. Стаття присвячена дослідженню імуногенетичних аспектів псоріазу.

Мета. Дослідити асоціативні взаємозв'язки між поліморфізмом гена TNF- α , цитокіновим профілем та окремими клінічними особливостями у хворих на псоріаз.

Матеріали та методи. Обстежено 57 хворих на псоріаз із залученням всіх необхідних загальноклінічних методів, проведено молекулярно-генетичне дослідження алельного поліморфізму гена TNF- α в зразках периферичної крові та визначення рівня цитокіну TNF- α в сироватці крові.

Результати. Отримані нами результати показали, що у носіїв генотипу 308GA гена TNF- α простежується достовірно вища концентрація цитокіну TNF- α в сироватці крові, частіше виявленій обтяжений сімейний анамнез, причому в більшості випадків псоріаз хворіють родичі першого ступеня спорідненості по відношенню до пробанда, у пацієнтів групи вища частота захворювання важкого ступеня у порівнянні з носіями генотипу 308GG.

Висновки. Генотип 308GA гена TNF- α асоційований з підвищеним рівнем концентрації цитокіну TNF- α в сироватці крові, важким перебігом захворювання, обтяженим сімейним анамнезом.

Ключові слова: псоріаз, цитокіновий статус, поліморфізм гена TNF- α , клінічні особливості.

На теперішній час багато дослідників псоріазу зосереджують свою увагу на розкритті імуногенетичних механізмів захворювання. Велике значення надається ролі спадковості. Так, згідно з даними літератури, сімейний характер захворювання встановлено у 39% випадків. Причому сімейний псоріаз зустрічається в 3 рази частіше при першому ступені спорідненості [2]. Багато вчених останнього десятиріччя демонструють залежність імунної відповіді від алельного поліморфізму генів цитокінів [1,4,5,7]. Найбільше значення надається вивченню поліморфізму у промоторній ділянці гена TNF- α в позиції 308. Насьогодні відомі 2 варіанти алеля гена TNF- α : типовий (в позиції 308 розміщений гуанін) та атиповий (в позиції 308 розміщений аденін) [8,9]. Існують дані, згідно яких саме атиповий варіант алеля TNF- α спричиняє підвищену транскрипцію гена порівняно з типовим варіантом, що в свою чергу веде до підвищення секреції та зростання концентрації цитокіну TNF- α в сироватці крові [9], якому належить важлива роль в каскаді патогенетичних реакцій, задіяних в розвитку та перебігу псоріазу. Цитокін TNF- α в свою чергу індукує синтез інших прозапальних цитокінів

(IL-8, IL-6, INF- γ). Надмірна продукція цитокінів та судинних факторів росту, надходження у вогнище запалення імунікомпетентних клітин посилюють проліферативні процеси кератиноцитів [2,5].

Враховуючи важливу патогенетичну роль системи ген TNF- α \leftrightarrow цитокін TNF- α в розвитку псоріазу, був розроблений принципово новий ефективний підхід до терапії захворювання з застосуванням генно-інженерних біологічних препаратів, які селективно блокують дію відповідного цитокіну [10]. Деякі роботи показали, що застосування біологічних препаратів дозволяє досягнути вираженого клінічного ефекту, особливо при важких формах та псоріатичних ураженнях суглобів [3,6,10]. Існують дані, згідно яких 20–30% хворих нечутливі до біологічних препаратів, в них навіть можуть виникати побічні ефекти, за наявності яких препарати відміняють [3,10]. В літературі також описані випадки, коли в процесі лікування існує ймовірність синтезу антитіл до біологічних препаратів, що може викликати зниження їх ефективності до 80% [6,10]. Таким чином, при наявності порушень регуляторних механізмів в системі ген TNF- α \leftrightarrow цитокін TNF- α доцільним є застосування імуносупресивної терапії [1,6]. Запропоноване в низці протоколів молекулярно-генетичне дослідження призвело до підвищення ефективності лікування біологічними препаратами за рахунок раціонального відбору пацієнтів [6,7,10].

Мета. Дослідити існуючі корелятивні взаємозв'язки між одноалельним поліморфізмом гену TNF- α (308GG, 308GA), цитокіновим профілем (цитокін TNF- α) та окремими клінічними особливостями у хворих на псоріаз.

Матеріали та методи. В дослідженні взяли участь 57 хворих на псоріаз віком від 18 до 66 років, з них 37 чоловічої (65%) та 20 жіночої (35%) статі. Вони були комплексно обстежені з застосуванням потрібних загальноклінічних методів. Дослідження алельного поліморфізму гену TNF- α в зразках периферичної крові проводилось в молекулярно-генетичній лабораторії ДЗ «Референс-центр з молекулярної діагностики МОЗ України» з використанням полімеразної ланцюгової реакції та подальшим аналізом поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів. Виділення ДНК із отриманого матеріалу було виконано стандартним методом за допомогою комерційного набору «ДНК-сорб-В» фірми Амплі Сенс. Визначення рівня цитокіну TNF- α у сироватці крові проводилось в лабораторії імунології Державної установи «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології НАМН України» за допомогою імуноферментного аналізу (ІФА) з використанням комерційного кіта (набору) фірми Bender Medsystems BMS223 (Австрія). Визначення оптичної густини проводилось на спектрофотометрі „Multiscan MCC-340” Labsystem (Фінляндія).

Статистичну обробку одержаних результатів проведено з використанням комп'ютерної програми Microsoft Excel 2010. Для порівняння отриманих показників рівня цитокінів в сироватці крові у пацієнтів досліджуваних груп та контрольної групи проводили розрахунок середньої арифметичної величини та її стандартного відхилення ($M \pm m$).

Результати та їх обговорення. За частотою розподілу генотипів 308 SNP у хворих вибірки був виявлений типовий варіант алелі TNF- α з генотипом 308GG у 43 пацієнтів (75%), атипичний з генотипом 308GA – у 14 (25 %) хворих, гомозиготного варіанту 308 AA в нашій вибірці не виявлено (табл..1) (рис.).

Розподіл генотипів SNP-308 гена TNF-α

Генотип	Абсолютні значення	Відсоток, %
GG	43	75
GA	14	25
AA	0	0

В залежності від наявності або відсутності відповідних сайтів у ампліфікованій ділянці ДНК, продукти рестрикції мали різну молекулярну вагу в горизонтальному 2%-ому агарозному гелі (рис.).

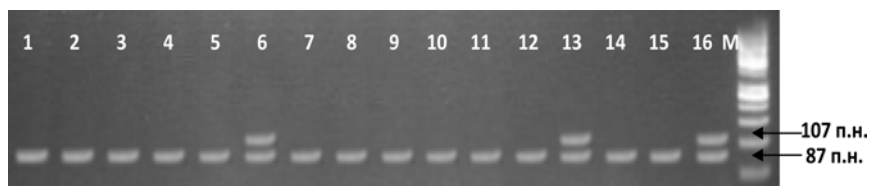


Рис. Електрофореграма продуктів рестрикційного аналізу фрагментів гена TNF-α у 2% агарозному гелі

Фрагменти гідролітичного розщеплення з молекулярною вагою 107 п.н. та 87 п.н. відповідали генотипу GA (зразки 6, 13, 16), 87 п.н. – генотипу GG (зразки 1-5, 7-12, 14, 15), М – маркер молекулярної ваги (рис).

Проведено оцінку цитокинового профілю у носіїв різних генотипів гена TNF-α. Середня концентрація цитокіну TNF-α в сироватці крові в групі пацієнтів з GA-генотипом становила 65,9±9,26 пг/мл, в групі з GG-генотипом – 39,7±9,06 пг/мл (p<0,05) (табл.2). З отриманих даним бачимо, що у носіїв GA-генотипу рівень концентрації цитокіну TNF-α з достовірною різницею вищий, ніж у носіїв GG-генотипу.

Таблиця 2

Порівняльний аналіз груп з різними генотипами

Група порівняння	Концентрація цитокіну TNF-α, пг/мл		Важкий ступінь захворювання		Вульгарний псоріаз		Обтяжений сімейний анамнез	
	М	т	абс. знач.	%	абс. знач.	%	абс. знач.	%
I(GA) (n=14)	65,9	9,26	10	71,4	11	78,57	7	50
II(GG) (n=43)	39,7	9,06	17	39,5	36	83,72	17	39,5

Серед пацієнтів з гетерозиготним варіантом GA в переважній більшості – в 10 осіб (71,4%) – діагностовано важку форму псоріазу (табл.2), в 4 пацієнтів – середньоважку (28,6%), легкої форми захворювання в групі не виявлено. Для визначення ступеню важкості ми застосували індекс PASI та найдоступніший метод, який базується на площі ураженої шкіри. Оцінка,

звичайно, проводилась з врахуванням загального стану, супутніх патологій, ураження нігтів та суглобів, ефекту від терапії та тривалості ремісій, частоти й інтенсивності загострень, впливу захворювання на якість життя та всіх наявних даних комплексного обстеження пацієнтів. Псоріаз здебільшого мав безперервно-рецидивуючий торпідний перебіг з частими загостреннями та нестійкими короткочасними ремісіями. Спостерігалась невисока ефективність від терапії. Захворювання спричиняло значний негативний вплив на якість життя пацієнтів: вони часто відчували фізичний та психологічний дискомфорт. У 7 хворих з 14 (50 %) прослідковується обтяженість сімейного анамнезу (табл.2), причому в 4 випадках псоріаз наявний у родичів першого ступеня родинності по відношенню до пробанда. В залежності від форми захворювання в 11 пацієнтів має місце вульгарний псоріаз (78,57 %) (табл.2).

Гомозиготну групу GG склали 17 пацієнтів з важким (39,5 %) (табл.2), 22 – з середньоважким (51,2%) та 4 – з легким перебігом захворювання (9,3%). Загострення спостерігались рідше в порівнянні з носіями GA-генотипу, ремісії були досить стійкими та тривалими. В результаті проведеного лікування наступало виражене покращення. Суттєвого впливу захворювання на якість життя не відмічалось. Обтяжений сімейний анамнез виявлений у 17 хворих з 43 (39,5%) (табл.2). В залежності від рівня спорідненості з пробандом в 8 випадках з 17 псоріаз прослідковується у родичів першого ступеня родинності. У 36 носіїв GG-генотипу діагностовано вульгарний псоріаз (83,72%) (табл.2). В багатьох пацієнтів обидвох груп приблизно в однаковій мірі спостерігались супутні патології органів ШКТ, ЛОР-органів (здебільшого тонзиліт), ожиріння, алергічні захворювання, рідше – захворювання серцево-судинної та сечовидільної системи. В ролі тригерних факторів найчастіше виступали нервовий стрес, пологи, менопауза, гострі інфекційні та простудні захворювання, вживання деяких харчових продуктів, прийом медикаментів, загострення хронічного тонзиліту.

Висновки. Частота зустрічальності носіїв GG-генотипу серед хворих псоріазом вища (75%), ніж носіїв GA-генотипу (25%), гомозиготних варіантів AA в дослідній вибірці не виявлено. Генетичний поліморфізм 308 GA гена TNF- α асоційований з підвищеним рівнем концентрації цитокіну TNF- α в сироватці крові. Прослідковується асоціація GA-генотипу з важким перебігом захворювання. Виявлено прямий зв'язок між наявністю варіанту 308GA гена TNF- α в геномі та обтяженим сімейним анамнезом. Дослідження поліморфізму G308A гена TNF- α , його асоціації з рівнем концентрації цитокіну TNF- α в сироватці крові та окремими клінічними особливостями є перспективним для пошуку прогностичних маркерів несприятливого перебігу псоріазу, а також підвищення ефективності лікування біологічними препаратами за рахунок раціонального відбору пацієнтів та обґрунтування показань для їх призначення.

Література

1. Знаменская Л.Ф. Механизм реализации биологического действия фактора некроза опухоли-альфа при псориазе / Л.Ф. Знаменская, Ю.Ю. Егорова, С.В. Зитнер // Вестник дерматологии и венерологии – 2011. – №2. – С.13-17.
2. Калюжна Л.Д., Білоклицька Г.Ф. Хвороби шкіри обличчя, слизової оболонки ротової порожнини та червоної облямівки губ / Навчальний посібник. – К.: Грамота, 2007. – 272 с.

3. Кубанова А. А., Знаменская Л. Ф., Фриго Н. В., Волков И. А., Ротанов С. В., Резайкина А. В. Маркеры эффективности инфликсимаба у больных псориазом // Вестник дерматологии и венерологии. – № 5. – 2011. – С.64 – 69.

4. Кунгуров Н. В., Филимонкова Н.Н., Топычанова Е.П. Системная воспалительная реакция и явления дислипидемии при псориазе // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 9.– С.188 – 194.

5. Олисова О.Ю. Псориаз: эпидемиология, патогенез, клиника, лечение // Consilium medicum. Прил.: Дерматология. – 2010. – №4. – С. 3 – 8.

6. Охлопков В. А., Медведчиков Е. К., Долгих Т. И., Правдина О. В., Городилов Р. В., Зараева И. Ф. Оценка состояния цитокинового профиля у больных псориазом на фоне иммуномодулирующей терапии // Вестник дерматологии и венерологии. – № 4. – 2010. – С.33 – 39.

7. Песляк М. Ю. Модель патогенеза псориаза. Часть 1. Системный псориатический процесс. Издание r4.0 (испр. и доп.). - М.: МУРЕ, 2012. – 94 с.

8. Поліщук Д.С. Поліморфізм гена TNF- α у хворих на atopічний дерматит за різних варіантів його клінічного перебігу // Український журнал дерматології, венерології, косметології. – 2012. – №3. – С. 40 – 44.

9. Cornell T.T., Wynn J., Shanley T.P. et al. Mechanisms and regulation of the gene-expression response to sepsis//Pediatrics. – 2010. – Vol.125. – P.1248 – 1258.

10. Saraceno R., Schipani C., Mazzota A. et al. Effect of anti-tumor necrosisfactor-alpha therapies on body mass index in patients with psoriasis. // Pharmacol Res. 2008. - Apr. - Vol. 57, №4. - P.290-295.120.

Л.Д.Калюжная, Т.М.Повханич-Грицяк

Ассоциация полиморфизма гена TNF- α с цитокиновым статусом и некоторыми клиническими особенностями у больных псориазом

Национальная медицинская академия последипломного образования имени П.Л.Шупика

Вступление. Статья посвящена исследованию иммуногенетических аспектов псориаза.

Цель. Исследовать ассоциативные взаимосвязи между полиморфизмом гена TNF- α , цитокиновым профилем и отдельными клиническими особенностями у больных псориазом.

Материалы и методы. Обследовано 57 больных псориазом с вовлечением всех необходимых общеклинических методов, проведено молекулярно-генетическое исследование аллельного полиморфизма гена TNF- α в образцах периферической крови и определение уровня цитокина TNF- α в сыворотке крови.

Результаты. Полученные нами результаты показали, что у носителей генотипа 308GA гена TNF- α прослеживается достоверно выше концентрация цитокина TNF- α в сыворотке крови, чаще обнаружен отягощенный семейный анамнез, причем в большинстве случаев псориазом болеют родственники первой степени родства по отношению к пробанду, у пациентов группы выше частота заболевания тяжелой степени, по сравнению с носителями генотипа 308GG.

Выводы. Генотип 308GA гена TNF- α ассоциирован с повышенным уровнем концентрации цитокина TNF- α в сыворотке крови, тяжелым течением заболевания, отягощенным семейным анамнезом.

Ключевые слова: псориаз, цитокиновый статус, полиморфизм гена TNF- α , клинические особенности.

L.Kaliuzhna, T.Povkhanych-Hrytsiak

Association of TNF- α gene polymorphism with cytokine status and some clinical features of patients with psoriasis

Shupyk National medical academy of postgraduate education

Introduction. The article offers some immunogenetic aspects of psoriasis.

The aim. To explore the associative relationship between TNF- α gene polymorphism, cytokine profile and individual clinical features in patients with psoriasis.

Materials and methods. A total of 57 patients with psoriasis were examined involving all the necessary general clinical practices including molecular genetic study of allelic TNF- α gene polymorphism in peripheral blood samples and determination the level of TNF- α cytokine in serum.

Results. Our results showed that the TNF- α gene 308GA genotype carries had significantly higher concentration of TNF- α cytokine in serum, their family history was more frequently burdened; in most cases it was psoriasis that affected first-degree relatives of probands. This group of patients showed a higher incidence of severe psoriasis compared with 308GG genotype carries. There were found significant differences between treatment groups depending on the form of psoriasis, patient age, disease duration and age at debut of psoriasis.

Conclusions. 308GA genotype of TNF- α gene is associated with elevated concentrations of TNF- α cytokines in serum, severe course of the disease and a burdened family history.

Key words: psoriasis, cytokine status, TNF- α gene polymorphism, clinical features.

Відомості про авторів:

Калюжна Лідія Денисівна – д.мед.н., професор кафедри дерматовенерології НМА-ПО імені П.Л.Шупика. Адреса: м. Київ, вул. Дорогожицька, 9.

УДК 615.262.2:616-08:616.59

© Т.М.КОВАЛЬОВА, Н.П.ПОЛОВКО, 2015

Т.М.Ковальова, Н.П.Половко

КСЕРОЗ: ПРИЧИНИ ТА ОГЛЯД ЗАСОБІВ ЗОВНІШНЬОЇ КОРЕКЦІЇ

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Вступ. Вивчення симптому ксерозу обумовлено істотним збільшенням важкості клінічних проявів у різних вікових групах і зниженням якості життя пацієнта.

Мета. Аналіз етіології ксерозу, огляд номенклатури та механізмів дії активних фармацевтичних інгредієнтів, використовуваних у засобах зовнішньої корекції сухої шкіри.

Результати. Однією з головних причин розвитку ксерозу вчені вважають дефекти бар'єрної функції шкіри. Ефективна корекція сухості шкіри шляхом відновлення епідермального бар'єру здатна не тільки поліпшити зовнішній вигляд, але і сприяє підвищенню результатів терапії різних дерматологічних захворювань. І хоча терапія ксерозу в кожному конкретному випадку пов'язана з ліквідацією причин, які його викликали, все ж існують загальні рекомендації, спрямовані на відновлення епідермального бар'єру шкіри.

Висновки. Важливе значення в терапії ксерозу має застосування спеціальних зовнішніх засобів пом'якшувальної та зволожувальної дії: емолентів природного