

ПОЛИМОРФИЗМ 1258G/A ГЕНА *SPINK-5* ПРИ НЕКОТОРЫХ АЛЛЕРГОДЕРМАТОЗАХ

М.И. Зуева

ГУ «Институт дерматологии и венерологии АМН Украины»

Резюме. Структура славянского женского населения Харькова и Харьковской области по однонуклеотидному полиморфизму 1258A/G гена *SPINK-5* соответствует равновесному состоянию. Аллель А является фактором повышенного риска по аллергодерматозам у мужчин.

Ключевые слова: аллергодерматозы, экзема, атопический дерматит, 1258A/G, полиморфизм, генотипы, ген *SPINK-5*.

ВВЕДЕНИЕ

Как известно, частота заболеваемости аллергодерматозами в мире постоянно растет. Так по данным ВОЗ в развитых странах на сегодняшний день атопическим дерматитом и экземой болеет от 10 до 20 % населения. Однако этиология и патогенез этих заболеваний остаются неясными и до сегодняшнего дня. О роли генетических факторов в развитии аллергодерматозов свидетельствуют результаты семейных, близнецовых и иммуногенетических исследований [4, 7, 8]. Понимание природы такого типа мультифакториальных патологий связывают с анализом кандидатных генов, среди которых большое внимание исследователей привлекает ген *SPINK-5* (serine protease inhibitor Kazal-type-5) – ингибитор сериновых протеаз пятого Казал-типа, локализованный на хромосоме 5q. Его продукт – ингибитор сериновых протеаз, принимает участие в противовоспалительных и антимикробных процессах, контролирует дифференцировку эпителия и организацию межклеточного матрикса, регулирует ангиогенез и клеточную адгезию [3, 5, 6, 8]. Полиморфизм гена *SPINK-5* связан с астмой, синдромом Нетертона, целиакией и другими заболеваниями. [8, 9]. Полиморфизм 1258G/A относится к экзону 14 и обуславливает аминокислотный полиморфизм (Glu 420 Lys) белка *SPINK-5*. В данной статье представлены результаты исследования SNP 1258G/A экзона 14 гена *SPINK-5* при некоторых аллергодерматозах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследована ДНК у 104 больных аллергодерматозами (49 женщин и 55 мужчин) возрастом от 14 до 71 года средний возраст больных – 43,8 лет, средний возраст мужчин – 44,5 лет, средний возраст женщин – 43,1 года) со следующими диагнозами: атопический дерматит, аллергический дерматит, экзема. Также исследован генетический материал от 96 человек без признаков этих заболеваний (59 женщин и 37 мужчин) возрастом от 16 до 70 лет (средний возраст – 35,5 лет, средний возраст мужчин – 30,7 года, средний возраст женщин – 40,4 года). Все обследованные – жители Харькова и Харьковской области, украинцы и русские. Выделение ДНК проведено фенольным методом из лейкоцитов периферической крови по стандартной методике [2]. Генотипирование выполнено методом ПДРФ (полиморфизм длин рестрикционных фрагментов). Амплификация фрагмента 14 экзона гена *SPINK-5* длиной 304 пары нуклеотидов проведена при помощи ПЦР (полимеразной цепной реакции) с использованием праймеров – 5'-TGC AAT TGT GAG GAT TTC ACA G-3' / 5'-CCT GAA CAT GAT CTG TGG ATC-3' [5]. Температурный режим: 95°C – 30 секунд, 52°C – 30 секунд, 72°C – 40 секунд. Объем рестрикционной смеси – 30 мкл. Амплифицированные фрагменты подвергали действию рестриктазы *HphI* (Fermentas, Литва), которая, если в положении 197 фрагмента гена *SPINK-5* находится аденин, разрезает его в последовательности GGTGA(N)8↓ на два участка, и на три, если в этом положении находится гуанин.

Рестриктазу добавляли из расчёта три единицы на 30 мкл смеси после ПЦР. Образцы инкубировали в течение ночи при температуре 37°C. Детекцию проводили с помощью электрофореза в 3% агарозном геле. Рестрикционные фрагменты соответствовали трём генотипам (рис. 1). Проверку гипотез о равенстве частот аллелей и генотипов в основной и контрольной группах, а также распределении фактических и теоретически ожидаемых частот генотипов проводили с помощью критерия χ^2 на уровне значимости 0,05 [1].

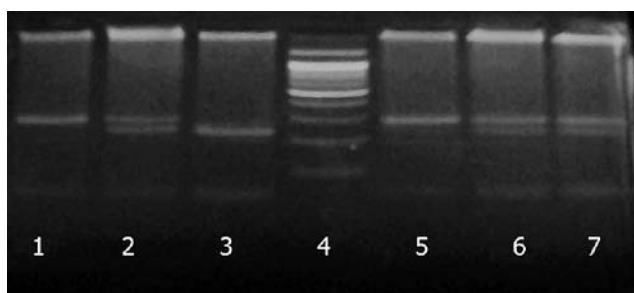


Рис. 1. Электрофореграмма ПЦР-продуктов ДНК шести человек, генотипированных по полиморфизму 1258G/A гена *SPINK-5* (1, 5 – генотип AA; 2, 6, 7 – генотип AG; 3 – генотип GG; 4 – маркер молекулярной массы).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Частоты SNP (Single Nucleotide Polymorphism) A/G различны у мужчин и женщин контрольной группы (табл. 1). У мужчин более частым оказался аллель G (0,64), у женщин – аллель A (0,59, $p<0,01$). Это сделало необходимым проводить дальнейшие сравнения с учётом пола.

Разница в частоте аллелей между основной и контрольной группами выявлена только у мужчин. Частота SNP A у мужчин с аллергодерматозами составляет 0,58, что в 1,6 раза выше, чем у здоровых – 0,36 ($p<0,01$). Имеется отличие также и касательно аллели G у мужчин (табл. 1). Так он в 1,5 раза чаще встречается у здоровых мужчин (0,64 – у здоровых и 0,42 у больных. $p<0,01$). Распределение генотипов у женщин основной и контрольной групп соответствует равновесию Харди-Вайнберга (табл. 2). У мужчин такого соответствия не обнаружено, а значит, на распределение генотипов влияют дополнительные популяционные факторы. Половые различия в частоте аллелей изученного аутосомного гена пока не находят генетического объяснения. Прояснить ситуацию позволит расширение выборки в ходе дальнейших исследований.

Различия в частоте генотипов у больных и здоровых выявлены только в мужской группе (табл. 2). Больные мужчины в 2,3 раза чаще, чем здоровые, являются обладателями генотипа AA ($p<0,01$), в 1,7 раз реже имеют генотип GG ($p<0,01$). Продукт гена *SPINK-5* белок SPINK-5 относится к негативным регуляторам иммунного ответа, поэтому изменение его активности вследствие изменений в структуре кодирующего гена может инициировать воспалительные процессы, которые приводят к развитию аллергодерматозов [7, 8]. Эти нарушения также могут быть связаны с изменением на уровне дифференцировки клеток иммунного ответа, который также контролируется продуктом гена *SPINK-5*. Известна также роль SPINK-5 в формировании барьерной

Таблица 1

Распределение аллелей и генотипов SNP *SPINK-5*

Группа	Пол	n	Генотипы <i>SPINK-5</i>			Частоты SNP	
			AA	AG	GG	A	G
Контроль	Мужской	37	6	15	16	0,36	0,64
	Женский	59	20	30	9	0,59	0,41
Больные аллергодерматозами	Мужской	55	21	20	14	0,58	0,42
	Женский	49	17	23	9	0,56	0,44

Примечание: n – число обследованных.

Таблица 2

Частоты генотипов (%)

Группа	Пол	Фактические			Теоретические		
		AA	AG	GG	AA	AG	GG
Контроль	Мужской	16,22	40,54	43,24	13,32	46,35	40,33
	Женский	33,90	50,85	15,25	35,19	48,27	16,54
Аллергодерматозы	Мужской	38,18	36,36	25,45	31,77	49,19	19,04
	Женский	34,69	46,94	18,36	33,83	48,67	17,50

функции кожи и, в частности, защиты от ультрафиолетового излучения, инфекционных агентов, химически активных веществ и других неблагоприятных факторов внешней среды [5]. Перечисленные свойства этого белка убеждают в необхо-

димости дальнейшего исследования гена *SPINK-5*, что позволит полнее понять природу исследованных заболеваний и найти молекулярные маркеры наследственной предрасположенности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гланц С. Медико-биологическая статистика. – М.: Практика. – 1998. – 459 с.
2. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы геной инженерии. Молекулярное клонирование: Пер. с англ. – М.: Мир, 1984. – 480 с.
3. Association between polymorphisms in the *SPINK5* gene and atopic dermatitis in the Japanese / Nishio Y., Noguchi E., Shibasaki M. et al // *Genes and Immunity*. – 2003. – Vol. 4, No 3. – P. 515-517.
4. Deraison C., Bonnart C., Lopez F., Besson C. et. al. LEKTI fragments specifically inhibit KLK5, KLK7, and KLK14 and control desquamation through a pH-dependent interaction // *Mol. Biol. Cell*. – 2007. – Vol. 18, № 9. – P. 3607-3619.
5. Godic A, Dragos V. Successful treatment of Netherton's syndrome with topical calcipotriol. // *Europ. J. Dermatol*. – 2004. – Vol. 14, № 1. – P. 115-117.
6. Hubiche T., Ged C., Benard A., Léauté-Labrèze C. et. al. Analysis of *SPINK 5*, *KLK 7* and *FLG* genotypes in a French atopic dermatitis cohort // *Acta Derm Venereol*. – 2007. – Vol. 87, №6. – P. 499-505.
7. Kabesch M., Carr D., Weiland S.K., von Mutius E. Association between polymorphisms in serine protease inhibitor, kazal type 5 and asthma phenotypes in a large German population sample // *Clin. Exp. Allergy*. – 2004. – Vol. 34, № 2. – P. 340–345.
8. Walley A.J. Gene polymorphism in Netherton and common atopic disease / Walley A.J., Chavanas S., Moffatt M.F. // *Nat. genetics*. – 2001. – Vol. 29, No 2. – P. 175-178.
9. Wapenaar M., Monsuur A., Poell J., van't Slot R. et. al. The *SPINK* gene family and celiac disease susceptibility // *Immunogenetics* – 2007. – Vol. 59, №5. – P. 349-357.

ПОЛІМОРФІЗМ 1258G/A ГЕНУ *SPINK-5* ПРИ ДЕЯКИХ АЛЕРГОДЕРМАТОЗАХ

М.І. Зуєва

Резюме. Структура слов'янського жіночого населення Харкова і Харківської області за однонуклеотидним поліморфізмом 1258A/G гену *SPINK-5* відповідає стану рівноваги. Алель А є фактором підвищеного ризику по алергодерматозам у чоловіків.

Ключевые слова: алергодерматози, екзема, атопічний дерматит, 1258A/G, поліморфізм, генотипи, ген *SPINK-5*.

1258G/A POLYMORPHISM OF *SPINK-5* GENE IN SOME ALLERGY DERMATOSES

М.І. Зуєва

Resume. Slavic women population structure of Kharkov and region of single-nucleotide polymorphism 1258A/G gene *SPINK-5* corresponds to the equilibrium state. Allel A is high-risk factor of allergy dermatoses in men.

Keywords: allergy, dermatoses, eczema, atopic dermatitis, 1258A/G, polymorphism, *SPINK-5* gene.