



Валиев Абдуазиз Абдусаматович, Хаитов Кахрамон Нажмитдинович
Ташкентский педиатрический медицинский институт, Республика Узбекистан, г. Ташкент

БОЛАЛАРДА ПСОРИАЗНИНГ РИВОЖЛАНИШИДА TNF- α ГЕНИ ПОЛИМОРФ ВАРИАНТИ

Валиев Абдуазиз Абдусаматович, Хаитов Кахрамон Нажмитдинович
Тошкент педиатрия тиббиёт институти, Ўзбекистон Республикаси, Тошкент ш.

THE ROLE OF THE POLYMORPHIC VARIANT OF THE TNF- α GENE IN THE DEVELOPMENT OF PSORIASIS IN CHILDREN

Valiev Abduaziz Abdusamatovich, Khaitov Kakhramon Nazhmitdinovich
Tashkent Pediatric Medical Institute, Republic of Uzbekistan, Tashkent

e-mail: aziz37g@gmail.com

Резюме. Тадқиқотнинг мақсади TNF- α генининг полиморф вариантнинг болаларда псориаз касаллиги ривожланишидаги ролини ўрганиш эди. 3 ёшдан 18 ёшгача бўлган псориазли 107 нафар бола текширилди. Барча беморлар ПЗР усули билан TNF- α генининг (rs1800629) 308G>A полиморфизмини генотиплашдан ўтказилди. Тадқиқот давомида текширилаётган беморлар гуруҳи ўртасида генотипларнинг тақсимланиши "G/A" гомозигот генотипи таркибининг камайиши ҳисобига "G/G" гетерозиготали генотип улушининг кўпайишини кўрсатди (79,5% га нисбатан 19,6%). Назорат гуруҳидаги "G/G" ва "G/A" генотипларининг тарқалиш частотаси мос равишда 86,2% ва 13,8% ни ташкил этди. Олинган маълумотлар шуни кўрсатдики, гетерозигот 308G/A генотипи (эҳтимол, 308A/A генотипи ҳам) мавжуд бўлганда, болаларда псориаз ривожланиш хавфи ортади, яъни бу полиморфизм ривожланиш хавфининг орттишининг генетик белгисидир. Касаллик, G/G генотипи эса ҳимоя функциясини бажаришига қодир. Шу билан бирга, rs1800629 полиморфизмлари TNF- α генининг транскрипциясига таъсир қилади ва таъсирда эътиборга олинishi керак бўлган псориаз касаллиги хавфи билан боғлиқ.

Калит сўзлар: болалар, псориаз, генотип, генотиплаш, ўсма некрози омили-алфа.

Abstract. The aim of the study was to study the role of the polymorphic variant of the TNF- α gene in the development of psoriasis in children. Were examined 107 children with psoriasis aged 3 to 18 years. All patients underwent genotyping of the 308G>A polymorphism of the TNF- α gene (rs1800629) by the PCR method. In the course of the study, the distribution of genotypes among the examined group of patients showed an increase in the proportion of the heterozygous genotype "G/G" due to a decrease in the content of the homozygous genotype "G/A" (79.5% vs. 19.6%, respectively). The distribution frequency of "G/G" and "G/A" genotypes in the control group was 86.2% and 13.8%, respectively. The data obtained showed that in the presence of the heterozygous 308G/A genotype (possibly also the 308A/A genotype), the risk of developing psoriasis in children increases, that is, this polymorphism is a genetic marker of an increased risk of developing the disease, while the G/G genotype is able to perform a protective function. . At the same time, rs1800629 polymorphisms affect the transcription of the TNF- α gene and are associated with the risk of psoriasis, which should be taken into account in the diagnosis.

Keywords: children, psoriasis, genotype, genotyping, tumor necrosis factor-alpha.

Актуальность. Псориаз является хроническим воспалительным заболеванием кожи, имеющее достаточно широкий спектр клинических проявлений [4]. В тоже время, ряд учёных характеризуют псориаз как органоспецифическое аутоиммунное заболевание, характеризующееся аберрантной пролиферацией и дифференцировкой кератиноцитов, что приводит к поражению кожи [1,9,14]. Аномальные иммунные реакции,

опосредованные Т-клетками и дендритными клетками [16], и повышенная продукция воспалительных цитокинов [15] были предложены в качестве основных механизмов патогенеза псориаза [2,11]. Появляющиеся данные свидетельствуют о том, что псориазические расстройства имеют наследственную основу [5,17]. Более того, многочисленные вариации генов связаны с риском заболевания, особенно в врожденных и адаптивных

иммунных реакциях и путях презентации антигена [3,8]. Тем не менее, растет консенсус в отношении критической роли кератиноцитов в патогенезе псориаза как в инициации, так и в сохранении болезни [7,18]. Фактически, функция кератиноцитов, которые в конечном итоге влияют на заболевание, зависит от различных факторов, таких как генетика, клеточная передача сигналов, клеточный метаболизм, антимикробные пептиды, цитокины и родственные рецепторы, некодирующие РНК, факторы транскрипции, стимулы окружающей среды и эпигеном [6,12]. TNF- α и IL-17 представляют собой два цитокина, которые управляют нарушением регуляции активности кератиноцитов, и их нацеливание очень эффективно у пациентов с псориазом, но неясно, действуют ли эти молекулы с другими воспалительными факторами [10,13,19]. Одновременно, TNF- α может играть существенную роль в развитии аутоиммунных воспалительных заболеваний. С другой стороны, интерес постепенно вызывают однонуклеотидные полиморфизмы генов (SNP) промотора TNF- α . Однако ассоциация SNP в TNF- α -308G/A при аутоиммунных заболеваниях, в частности при псориазе до конца не выяснен [6,10]. На данном фоне, несмотря на множество научных работ по изучению этиопатогенеза псориаза с генетической точки зрения, одним и нераскрытых аспектов остаётся изучение роли полиморфного варианта гена TNF- α в патогенезе псориаза.

Целью нашего исследования являлось изучение роли полиморфного варианта гена TNF- α в развитии псориаза у детей.

Материалы и методы.

Исследование проводилось у 107 больных детей псориазом в возрасте от 3 до 18 лет. Мальчиков было 48 (44,9%) и девочек – 59 (55,1%). Городских жителей было 43 (40,2%), сельских – 64 (59,8%). При этом, дети в возрасте от 3 лет до 5 лет составили 18 (16,8%), в возрасте 6-10 лет – 42 (39,3%) и в возрасте 11 лет и старше – 47 (43,9%) больных.

Методы исследования включали: сбор анамнестических данных, объективный осмотр больных, рутинные клинико-лабораторное исследование (общий анализ крови, общий анализ мочи, копрология с обследованием на яйца глист), по показаниям для диагностирования сопутствующей патологии проводили биохимическое исследование крови и УЗИ внутренних органов. Перед началом лечения больные были консультированы смежными специалистами.

Из специфических методов исследования проводили определения цитокинов в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА). Исходя из первоначальной цели исследования всем пациентам проводили геноти-

пирование полиморфизма 308G>A гена TNF- α (rs1800629) осуществляли путем ПЦР на программируемых термоциклерах CG-1-96 «Corbett Research» (Австралия) и 2720 «Applied Biosystems» (США), с использованием тест-систем «MedLab» (Россия). При проведении генетических исследований в качестве группы сравнения использовался популяционный контроль, который был представлен образцами ДНК (n=80) условно-здоровых доноров (без каких-либо признаков заболеваний) из банка ДНК. При этом, нужные образцы ДНК выделяли из лимфоцитов периферической крови в соответствии с модифицированной методикой.

Полученные при исследовании данные подвергали статистической обработке на персональном компьютере Pentium-IV с помощью программного пакета Microsoft Office Excel-2010, включая использование встроенных функций статистической обработки. Данных молекулярно-генетических исследований – оценку отклонения распределений генотипов изученных полиморфизмов ДНК от канонического распределения Харди-Вайнберга (ХВ) проводилась с помощью компьютерной программы анализа генетических данных “GenePop” (“Genetics of Population”). Статистически достоверными считали различия при значениях $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. В настоящее время существует ряд достоверных сведений о роли фактора некроза опухоли альфа (TNF- α) в патогенезе и развитии псориаза [6,10,17]. Однако, исследование роли данного цитокина в развитии псориаза у детей в нашем регионе не проводилось. Существует несколько распространенных однонуклеотидных полиморфизмов в гене TNF- α , включая положения -238 (rs361525), -308 (rs1800629) и -857 (rs1799724). В этой связи изучение распределения полиморфизма 308G>A гена TNF- α (rs1800629) при псориазе у детей является актуальной проблемой в дерматологии. Нами была изучена патогенетическая значимость генотипических вариантов полиморфизма 308G>A гена TNF- α (rs1800629) в формировании псориаза у больных детей, проживающих в нашем регионе.

Всего нами исследованы 187 образцов ДНК. Из них с псориазом составили 107 больных детей и условно-здоровые доноры – 80 лиц. Результаты исследования показали, что как в основной группе, так и контрольной группе наблюдалось преобладание частоты нормального аллеля “G” с одновременным снижением частоты встречаемости функционально неполноценного аллеля “A”. Распространенность аллелей полиморфизма 308G>A гена TNF- α (rs1800629) в контрольной группе составила: A – 6,9% (11/160), G – 93,1% (149/160); в основной группе больных: A – 9,4% (20/214), G – 90,6% (194/214).

Таблица 1. Частота распределения аллелей и генотипов полиморфизма 308G>A гена TNF- α (rs1800629) в группах больных детей с псориазом и контроля

Группа	Частота аллелей				Частота распределения генотипов					
	G		A		G/G		G/A		A/A	
	abs	%	abs	%	abs	%	abs	%	abs	%
Основная группа больных n= 107* (214**)	194	90,6	20	9,4	85	79,5	21	19,6	1	0,9
Ограниченная форма n= 11* (22**)	19	86,4	3	13,6	8	72,7	2	18,2	1	9,1
Распространенная форма n=96* (192**)	175	91,1	17	8,9	77	80,2	19	19,8	0	0
Контрольная группа n=80* (160**)	149	93,1	11	6,9	69	86,2	11	13,8	-	0

Примечание: n*- число исследованных лиц и генотипов, n**- число исследованных аллелей

Таблица 2. Ожидаемые и наблюдаемые частоты распределения генотипов полиморфизма rs1800629 гена TNF- α по PХВ в группе больных детей псориазом

Генотипы	Частота генотипов		χ^2	P	df
	Наблюдаемая	Ожидаемая			
G/G	0,75	0,76	0,008	0,4	1
G/A	0,24	0,23	0,121		
A/A	0,01	0,01	0,431		
Всего	1,0	1,00	0,561		

Таблица 3. Ожидаемые и наблюдаемые частоты распределения генотипов полиморфизма rs1800629 гена TNF- α по PХВ в группе контроля

Генотипы	Частота генотипов		χ^2	P	df
	Наблюдаемая	Ожидаемая			
G/G	0,86	0,87	0,002	0,5	1
G/A	0,14	0,12	0,056		
A/A	0,00	0,01	0,378		
Всего	1,0	1,00	0,436		

Аналогичные данные были получены при изучении частоты распределения аллелей и генотипов полиморфизма 308G>A гена TNF- α (rs1800629) у больных детей с псориазом в зависимости от клинической формы заболевания. Следует отметить, что в зависимости от клинической формы псориаза частоты встречаемости нормального аллеля "G" и функционально неполноценного аллеля "A" особо не изменялись.

В распределении генотипов среди обследуемых группы (основной и контрольной) больных наблюдалось увеличение доли гетерозиготного генотипа "G/G" за счет уменьшения содержания гомозиготного генотипа "G/A" (79,5% против 19,6%, соответственно). Частота распределения "G/G" и "G/A" генотипов в контрольной группе составила 86,2% и 13,8%, соответственно (см. табл.1).

Анализ распределения частот генотипов полиморфизма rs1800629 и их соответствие популяционному равновесию PХВ (распределения Харди-Вайнберга, оценка отклонения распределений генотипов), проводили раздельно. Изучение популяционно-генетической характеристики исследуемого генетического маркера показало (см.табл.2), что в группе больных уровень на-

блюдаемой гетерозиготности ($H_0=0,24$) превышал теоретически ожидаемое значение ($H_e=0,23$) и обнаружены статистически значимые отклонения частот генотипов от PХВ ($\chi^2=0,121$; $p=0,4$), что может быть связано с предрасположенностью к заболеванию или особенностью генораспределения (гетерогенность) в выборке.

В контрольной группе, как и следовало ожидать, обнаружены статистически недостоверные отклонения частот генотипов от равновесия Харди-Вайнберга ($\chi^2=0,436$; $p=0,5$). Уровень ожидаемой и наблюдаемой гетерозиготности среди лиц группы контроля варьировал от $H_e=0,00$ до $H_0=0,86$, соответственно (см. табл.3).

Как известно, помимо генетической гетерогенности обследованной выборки, возможной причиной отклонения от PХВ является методическая ошибка тестирования и детекции данного полиморфизма. По поводу возможной ошибки тестирования, во всех случаях, чтобы исключения недостоверности, мы повторяли амплификацию и детекцию ложноположительных результатов. Как среди групп больных, так и контроля ожидаемую гетерозиготность превышает наблюдаемая гетерозиготность, о чем свидетельствует и полученное значение индекса фиксации Райта ($D=+0,04$ и

+0,08 соответственно). Показатели SE и SP данного генетического маркера среди исследованных групп соответствовали 0,24 и 0,86. Вычисленная прогностическая эффективность данного маркера составила AUC=0,55.

Полиморфизм TNF- α -308G/A демонстрирует повышенную транскрипцию генов. Аллель А (аллель TNF- α 2) лежит на расширенном гаплотипе HLA-A1-B8-DR3-DQ2 и, как было показано, является гораздо более сильным активатором транскрипции, который обеспечивает уровни транскрипции TNF- α в 6–7 раз выше, это связано с высокой продукцией TNF- α . Более того, полиморфизм промотора TNF- α (-308G/A) оказывает прямое влияние на регуляцию гена TNF- α (увеличение экспрессии TNF- α) и может быть ответственным за ассоциацию аллеля А с высоким фенотипом TNF- α и более тяжелым течением заболевания. болезни.

Для того чтобы оценить вклад генетического маркера 308G>А гена TNF- α в патогенез псориаза, мы провели сравнительный анализ частот встречаемости аллелей и генотипов в группе больных детей с различными клиническими формами псориаза и группе здорового контроля. Анализ распределения аллелей полиморфного варианта 308G>А гена TNF- α показал, что частоты распределения аллелей в группе больных детей статистически значимо отличаются от контрольной группы.

Частота встречаемости мутантного “А” и нормального “G” аллелей в основной и контрольной группах составила 9,4% против 90,6% и 6,9% против 93,1%, соответственно. Согласно рассчитанному коэффициенту соотношения шансов, носительство функционального неблагоприятного аллеля “А” полиморфизма 308G>А гена TNF- α в 2 раза достоверно увеличивает риск развития псориаза ($\chi^2=3,1$; P=0,07; OR=1,9; RR=1,7; 95%CI=0,92-3,89).

Следовательно, полиморфизм AG и аллель А TNF- α -308G/A могут выступать в качестве фактора риска возникновения псориаза, в частности, полиморфизм AG и аллель А TNF- α -308G/A (rs1800629) могут играть защитную роль. В выборке больных отмечено статистически достоверное увеличение частоты функционально неблагоприятного гетерозиготного генотипа 308G/A, на долю которого приходилось 19,6% по сравнению с контрольной группой, где частота данного генотипа достигала 13,7%. Согласно коэффициенту соотношения шансов, риск развития псориаза в основной группе при наличии данного генотипа достоверно увеличивается в 1,7 раза ($\chi^2=2,7$; P=0,1; OR=1,9; RR=1,7; 95%CI=0,87- 4,0).

Точно такие же данные были получены при изучении частоты распределения аллелей и генотипов полиморфизма 308G>А гена TNF- α

(rs1800629) у больных детей с псориазом в зависимости от клинической формы заболевания. Следует отметить, что у больных детей псориазом выявленный полиморфизм 308G>А гена TNF- α (rs1800629) во всех обследованных клинических формах псориаза был одинаковым. Следовательно, при изучении гена TNF- α -308 (rs1800629), увеличение аллеля А, а также генотипов AA и AG в контрольной группе по сравнению с группой больных, при этом аллель G и генотипы GG больше в группе больных, чем в контрольной, что указывает на то, что генотип GG является рискованным, а AA и AG — защитными.

Гомозиготный генотип 308G/G достоверно чаще встречался в контрольной группе (86,2%), тогда как в группе больных детей псориазом частота его составила 79,5% ($\chi^2=3,1$; P=0,08). Полученные данные показали, что полиморфизмы TNF- α -308G/A могут быть использованы в качестве потенциального биологического маркера для оценки прогноза псориаза у детей.

Заключение. Полученные данные показали, что при наличии гетерозиготного генотипа 308G/A (возможно и генотипа 308A/A) риск развития псориаза у детей возрастает, т.е. данный полиморфизм является генетическим маркером повышенного риска развития заболевания, тогда как генотип G/G способен выполнять протективную функцию. При этом, полиморфизмы rs1800629 влияет на транскрипцию гена TNF- α и связана с риском псориаза, что следует учитывать при диагностике.

Литература:

1. Ковалёва К.Д., Бисмилдина Г.С., Толегенкызы А., Качиева З.С. Исследование полиморфных вариантов генов-кандидатов псориаза // Вестник КазНМУ. 2021. - №1. – С. 202-207.
2. Немчанинова О.Б., Мальченко Е.Е., Максимов В.Н. Роль генетических полиморфизмов в развитии псориаза // Journal of Siberian Medical Sciences. 2015. - №4. - P.27.
3. Рихсиева Д.Д., Мун А.В. Влияние псориаза на иммунологический статус детей в разные возрастные периоды // НАУ. 2015. - №4-4 (9). – С. 93-96.
4. Романова А.Н., Спирина А.Р. Особенности псориаза и его отдельный клинический случай // The Scientific Heritage. 2021. - №72-2. – С.45-49.
5. Смольникова М.В., Барило А.А., Малинчик М.А., Смирнова С.В. Поиск генетических маркеров предрасположенности к псориазу и псориазическому артриту.// Медицинская иммунология. 2020. - Т. 22. - №5. – С. 925-932.
6. Соболев В. В., Чебышева С. Н., Геппе Н. А., Каткова К. В., Соболева А. Г., Корсунская И. М. Экспрессия гена TNF- α в иммунных клетках

больных псориазом и псориатическим артритом // МС. 2022. - №13. -С.6-10.

7. Соболев В.В., Соболева А.Г., Потекаев Н.Н., Мельниченко О.О., Корсунская И.М., Артемьева С.И. Анализ экспрессии гена PPAR γ при лечении псориаза // МС. 2021. - №8. -С.82-87.

8. Babaie F, Omraninava M, Gorabi AM, Khosrojerdi A, Aslani S, Yazdchi A, Torkamandi S, Mikaeili H, Sathyapalan T, Sahebkar A. Etiopathogenesis of Psoriasis from Genetic Perspective: An updated Review. *Curr Genomics*. 2022 Jul 5;23(3):163-174. doi: 10.2174/1389202923666220527111037.

9. Gao J., Shen X., Ko R., Huang C., Shen C. Cognitive process of psoriasis and its comorbidities: From epidemiology to genetics. *Front. Genet*. 2021;12:, 735124. doi: 10.3389/fgene.2021.735124.

10. Gupta RK, Gracias DT, Figueroa DS, Miki H, Miller J, Fung K, Ay F, Burkly L, Croft M. TWEAK functions with TNF and IL-17 on keratinocytes and is a potential target for psoriasis therapy. *Sci Immunol*. 2021 Nov 19;6(65):eabi8823. doi: 10.1126/sciimmunol.abi8823.

11. Kocaaga A, Kocaaga M. Psoriasis: An Immunogenetic Perspective. *Glob Med Genet*. 2022 Jun 13;9(2):82-89. doi: 10.1055/s-0042-1743259.

12. Mahil S.K., Capon F., Barker J.N. Genetics of psoriasis. *Dermatol. Clin*. 2015;33(1):1–11. doi: 10.1016/j.det.2014.09.001.

13. Manils J, Webb LV, Howes A, Janzen J, Boeing S, Bowcock AM, Ley SC. CARD14E138A signalling in keratinocytes induces TNF-dependent skin and systemic inflammation. *Elife*. 2020 Jun 29;9:e56720. doi: 10.7554/eLife.56720.

14. Membrive Jiménez C, Pérez Ramírez C, Sánchez Martín A, Vieira Maroun S, Arias Santiago SA, Ramírez Tortosa MDC, Jiménez Morales A. Influence of Genetic Polymorphisms on Response to Biologics in Moderate-to-Severe Psoriasis. *J Pers Med*. 2021 Apr 12;11(4):293. doi: 10.3390/jpm11040293.

15. Robinson R.T. IL12R β 1: The cytokine receptor that we used to know. *Cytokine*. 2015;71(2):348–359. doi: 10.1016/j.cyto.2014.11.018.

16. Sundberg JP, Pratt CH, Silva KA, Kennedy VE, Qin W, Stearns TM, Frost J, Sundberg BA, Bowcock AM. Gain of function p.e138a alteration in Card14 leads to psoriasiform skin inflammation and implicates genetic modifiers in disease severity. *Experi-*

mental and Molecular Pathology. 2019;110:104286. doi: 10.1016/j.yexmp.2019.104286.

17. Wang M, Zhang S, Zheng G, Huang J, Songyang Z, Zhao X, Lin X. Gain-of-Function mutation of Card14 leads to spontaneous Psoriasis-like skin inflammation through enhanced keratinocyte response to IL-17A. *Immunity*. 2018;49:66–79. doi: 10.1016/j.immuni.2018.05.012.

18. Xu Q, Zheng X, Mao Y, Chen W, Chen S, Zhang H, Zhen Q, Li B, Yong L, Ge H, Yu Y, Zhang R, Cao L, Cheng H, Wang W, Sun L. Gene interaction analysis of psoriasis in Chinese Han population. *Mol Genet Genomic Med*. 2022 May;10(5):e1858. doi: 10.1002/mgg3.1858.

19. Zhou X., Chen Y., Cui L., Shi Y., Guo C. Advances in the pathogenesis of psoriasis: From keratinocyte perspective. *Cell Death Dis*. 2022;13(1):81. doi: 10.1038/s41419-022-04523-3.

РОЛЬ ПОЛИМОРФНОГО ВАРИАНТА ГЕНА TNF- α В РАЗВИТИИ ПСОРИАЗА У ДЕТЕЙ

Валиев А.А., Хаитов К.Н.

Резюме. Целью исследования являлось изучение роли полиморфного варианта гена TNF- α в развитии псориаза у детей. Были обследованы 107 детей псориазом в возрасте от 3 до 18 лет. Всем пациентам проводили генотипирование полиморфизма 308G>A гена TNF- α (rs1800629) ПЦР методом. В ходе исследования распределение генотипов среди обследуемых группы больных наблюдали увеличение доли гетерозиготного генотипа "G/G" за счет уменьшения содержания гомозиготного генотипа "G/A" (79,5% против 19,6%, соответственно). Частота распределения "G/G" и "G/A" генотипов в контрольной группе составила 86,2% и 13,8%, соответственно. Полученные данные показали, что при наличии гетерозиготного генотипа 308G/A (возможно и генотипа 308A/A) риск развития псориаза у детей возрастает, то есть, данный полиморфизм является генетическим маркером повышенного риска развития заболевания, тогда как генотип G/G способен выполнять протективную функцию. При этом, полиморфизмы rs1800629 влияет на транскрипцию гена TNF- α и связана с риском псориаза, что следует учитывать при диагностике.

Ключевые слова: дети, псориаз, генотип, генотипирование, фактор некроза опухоли-альфа.