

УДК 616.517 – 076.5:575.113](470.62)

## АНАЛИЗ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНА HCR У БОЛЬНЫХ ПСОРИАЗОМ В КРАСНОДАРСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

**Корхмазова С.А., Голубцов В.И., Тлиш М.М.**

*ГОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет Минздрава России», Краснодар, e-mail: svetakorxmazova@rambler.ru*

В работе проведены молекулярно-генетические исследования полиморфных вариантов гена HCR у больных псориазом Краснодарского края. Полученные результаты исследования двух SNP полиморфизмов (C325T и C2327G) гена HCR у больных с семейными случаями псориаза русской этнической принадлежности ( $N = 100$ ) и в соответствующей группе контроля ( $N = 93$ ) позволяют сделать однозначный вывод, что ген HCR является кандидатным геном псориаза.

**Ключевые слова:** ген HCR, псориаз

## ANALYSIS OF POLYMORPHIC VARIANTS OF THE GENE HCR IN PATIENTS PSORIASIS IN THE KRASNODAR POPULATION

**Korxmazova S.A., Golubcov V.I., Tlish M.M.**

*Kuban' state medical university, Krasnodar, e-mail: svetakorxmazova@rambler.ru*

In the work carried out molecular-genetic research of polymorphic variants of the gene HCR in patients with psoriasis of the Krasnodar region. The received results of research of two polymorphisms (C325T and C2327G) gene HCR in patients with familial cases of psoriasis Russian ethnicity ( $N = 100$ ) and in the control group ( $N = 93$ ) allow to make an unambiguous conclusion that the gene HCR is candidate gene of psoriasis.

**Keywords:** gene HCR, psoriasis

Псориаз представляет собой мультифакториальное заболевание с преимущественно генетическим детерминированием, о чем свидетельствуют семейное накопление, многочисленные эпидемиологические и молекулярно-генетические исследования [1, 2, 5, 6, 10]. На сегодняшний день многие аспекты этиологии и патогенеза псориаза до сих пор остаются невыясненными. К настоящему времени установлено 9 локусов восприимчивости к псориазу (PSORS1-PSORS9), при этом локус PSORS1, расположенный на коротком плече 6-й хромосомы (6p21.3) является главным местом предрасположенности к псориазу, поскольку содержит несколько сцепленных генов, которые активно экспрессируются в эпителиальных кератиноцитах кожи [3, 6, 10]. Данный локус представляет собой область, на которой расположены, пять генов (HLA-C, TCF19(SC1), OTF3 (POUF5F1), HCR(Pg8), CDSN) два из которых (HCR и CDSN) проявляют выраженную ассоциацию с псориазом [5, 10, 8, 14], характер которого не уточнен, что и определило необходимость проведения настоящего исследования.

Ген HCR (a-helix coiled-coil rod homolog gene), ранее называемый Pg8 ген, расположен на расстоянии 110 т.п.н. от гена HLA-C между генами корнеодесмосина (CDSN) и SC1.

### Материалы и методы исследования

Материалом для исследования послужили образцы ДНК, выделенные методом фенол-хлороформной экстракции по Мэтью[9], из лейкоцитов венозной кро-

ви 100 больных псориазом и 93 здоровых индивидов (контроль). Все обследованные являются жителями Краснодарского края, русской этнической принадлежности. В работе исследованы полиморфизмы C325T и C2327G гена HCR последовательности которых взяты из компьютерной базы данных GDB (Genome Database <http://gdb.org>). Анализ полиморфных генов локуса PSORS1 проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) на амплификаторе «Терцик» производства компании «ДНК-технология» с использованием ДНК-полимеразы *Thermus aquaticus* производства фирмы «Силекс». После ПЦР синтеза ДНК, для выявления полиморфизмов генов HCR был проведен рестрикционный анализ, который оценивали при проведении электрофореза в 7% ПААГ с последующим окрашиванием бромистым этидием и визуализации под ультрафиолетовыми лучами.

Математическую обработку результатов исследования проводили с помощью пакета программ статистического анализа «Rows x Columns», оценивающей значимость сравнений методом Монте-Карло, SPSS ver.13.0 for Windows, Statistica ver. 6.0 с анализом непараметрической корреляции Спирмена, хи-квадрат, простой линейной регрессии, а также вычисление показателей отношения шансов (Odds Ratio) и относительного риска (Relative Risk) и их доверительных интервалов (с поправкой Ийтса на непрерывность), разработанной В.П. Леоновым [7].

### Результаты исследования и их обсуждение

Результаты изучения полиморфизма C325T гена HCR у больных псориазом показали, что в контрольной группе преобладал аллель \*C, частота которого достигла 0,839, тогда как у больных псориазом аллели \*C и \*T встречались с частотой 0,555 и 0,445, соответственно. Различия в распределении частот аллелей исследуемого поли-

морфизма между больными и контрольной группой достигают статистически достоверных значений ( $\chi^2 = 36,38$ ,  $p << 0,001$ ). Относительный риск псориаза для носителей аллеля \*T составил 4,169, что позволяет рассматривать его в качестве аллеля риска, тогда как аллель \*C оказался протективным и для носителей этого аллеля риск развития псориаза понижен (OR = 0,24). По литературным данным существуют популяционные различия в распределении частот аллелей полиморфизма +325 (+269) гена *HCR* среди больных и здоровых индивидов из различных стран мира. У больных псориазом частота аллеля \*T варьирует от 0,24 в Испании до 0,54 в Британии, составляя 0,33 в Швеции, Италии и Индии и 0,27 в Финляндии [4]. В исследованной нами выборке больных русской этнической принадлежности частота аллеля \*T выше, чем в среднем по Европе (0,34). Среди здоровых индивидов из европейских популяций частота аллеля \*T также варьировала в широких пределах – от 0,08 у испанцев, до 0,27 у британцев [4], составляя 0,172 в среднем по Европе. В изученной нами контрольной группе здоровых доноров русской этнической принадлежности частота аллеля \*T (0,16) была близка к средней частоте такового в европейских популяциях. Интересно отметить, что, несмотря на популяционные различия, соотношение частоты аллеля \*T в группах контроля и больных псориазом из Европы достигало статистически значимых различий и риск развития заболевания у носителей аллеля \*T был повышен в 2-3 раза.

Нами также обнаружены статистически значимые различия в распределении частот генотипов полиморфизма +325 (+269) гена *HCR* у больных псориазом и контрольной группе. У больных псориазом самым частым оказался гетерозиготный генотип \*C\*T (0,69), тогда как в контрольной группе преобладал генотип \*C\*C с частотой 0,699. В выборке больных также достоверно чаще встречался генотип \*T\*T по сравнению с контрольной группой ( $\chi^2 = 3,83^*$ ,  $p = 0,05$ ). Относительный риск развития псориаза составил 5,736 для носителей генотипа \*C\*T и 5,056 – при генотипе \*T\*T. При этом генотип \*C\*C оказался протективным и снижал риск псориаза (OR = 0,115). Полученные результаты подтверждают данные ряда авторов о значительной роли гена *HCR* в патогенезе псориаза и позволяют рассматривать его в качестве кандидатного гена псориаза.

Таким образом, в результате исследования полиморфизма *C325T* гена *HCR* обнаружены ассоциации полиморфных вариантов гена *HCR* с развитием псориаза. Маркера-

ми повышенного риска развития заболевания являются: аллель \*T, генотипы \*C\*T и \*T\*T гена *HCR*, маркерами пониженного риска псориаза – аллель \*C и генотип \*C\*C гена *HCR*.

Анализ полиморфизма *C2327G* в 18 экзоне гена *HCR* у больных псориазом и в контрольной группе русской этнической принадлежности показал, что в группе больных частоты аллелей \*C и \*G оказались примерно одинаковыми, составляя 0,47 и 0,53, соответственно, тогда как в контрольной группе преобладал аллель \*C, достигая 0,753. Относительный риск заболевания для аллеля \*G составил 3,43, что позволяет рассматривать его в качестве аллеля повышенного риска развития псориаза, тогда как аллель \*C оказался аллелем пониженного риска заболевания (OR = 0,29). По литературным данным нет однозначных данных о роли полиморфизма *C2327G* гена *HCR* в развитии псориаза. Обнаружены ассоциации аллеля \*G с псориазом в популяциях испанцев и финнов, тогда как у итальянцев, шведов и в Индии не обнаружено достоверных отличий в распределении частот аллелей исследуемого локуса у больных по сравнению с контрольной группой [7]. В Италии частота аллеля \*G оказалась выше в контрольной группе (0,53), а у больных встречалась с частотой 0,47. В Индии частоты аллелей \*G и \*C была одинаковой как у больных так и у здоровых индивидов (по 0,35). В Швеции частота аллеля \*G незначительно превышала частоту аллеля \*C (0,38 и 0,30, соответственно) [4]. В исследованной нами выборке больных псориазом частота аллеля \*G соответствовала частоте аллеля у больных из Британии (0,55).

Распределение частот генотипов исследуемого полиморфного локуса также достоверно отличалось в группе больных от таковой в контрольной выборке. У больных псориазом частота генотипа \*C\*G (0,64) преобладала по сравнению с генотипами \*C\*C и \*G\*G. В контрольной группе самым частым был генотип \*C\*C (0,548). Генотипы \*C\*G и \*G\*G являются генотипами повышенного риска заболевания, относительный риск составил 2,573 и 5,915, соответственно. Генотип \*C\*C определен как протективный (относительный риск – 0,145) и это позволяет считать, что для носителей генотипа \*C\*C риск развития псориаза снижен. Таким образом, при исследовании полиморфизма *C2327G* гена *HCR* обнаружены маркеры повышенного риска развития псориаза: аллель \*G и генотипы \*C\*G и \*G\*G. Маркерами пониженного риска являются: аллель \*C и генотип \*C\*C.

### Заключение

Полученные результаты исследования двух SNP полиморфизмов *C325T* и *C2327G* гена *HCR* у больных с семейными случаями псориаза русской этнической принадлежности и в контрольной группе позволяют сделать однозначный вывод, что ген *HCR* является кандидатным геном псориаза. Определение маркеров риска у членов одной семьи может определить тактику доклинических лечебно-профилактических мероприятий для предотвращения развития заболевания.

### Список литературы

1. Кунгуров Н.В. Псориазическая болезнь. / Н.В. Кунгуров, Н.Н. Филимонкова, И.А. Тузанкина. – Екатеринбург: изд-во Уральского университета, 2002. – 200 с.
2. Мордовцев В.Н. Псориаз. / В.Н. Мордовцев, Г.В. Мушет, В.И. Альбанова. – Кишинев: Штиинца, 1991. – С. 186.
3. The major psoriasis susceptibility locus PSORS1 is not a risk factor for late-onset psoriasis / M.H. Allen, H. Ameen, C. Veal, J. Evans, V.S. Ramrakha-Jones, A.M. Marsland, A. David Burden, C.E.M. Griffiths, R.C. Trembath, J.N.W.N. Barker // *J. Invest. Derm.* – 2005. – Vol. 124. – P. 103–106.
4. Coding haplotype analysis supports HCR as the putative susceptibility gene for psoriasis at the MHC PSORS1 locus. / K. Asumalahti, C. Veal, T. Laitinen, S. Suomela, M. Allen, O. Elomaa, M. Moser, R. de Cid, S. Ripatti, I. Vorechovsky, J.A. Marcusson, H. Nakagawa and 9 others. // *Hum. Molec. Genet.* – 2002. – Vol. 11. – P. 589–597.
5. Asumalahti K. Molecular genetics of psoriasis // Academic dissertation. – Helsinki, 2003. – P.80.
6. Capon F. A synonymous SNP of the corneodesmosin gene leads to increased mRNA stability and demonstrates association with psoriasis across diverse ethnic groups. / F. Capon, M. Allen, M. Ameen, A.D. Burden, D. Tillman, J.N. Barker, R.C. Trembath // *Hum. Mol. Genet.* – 2004. – Vol. 13, №20. – P. 2361–2368.
7. Curtis D. Model-free linkage analysis using likelihoods / D. Curtis, P.C. Sham. // *Am. J. Hum. Genet.* – 1995. – Vol. 57 – P. 703–716.
8. Corneodesmosin gene polymorphism demonstrates strong linkage disequilibrium with HLA and association with psoriasis vulgaris / S. Jenisch, S. Koch, T. Henseler, R.P. Nair, J.T. Elder, C.E. Watts, E. Westphal, J.J. Voorhees, E. Christophers, M. Kronke // *Tissue Antigens.* – 1999. – Vol. 54. – P. 439–449.
9. Mathews S. The isolation of high molecular weight eucariotic DNA // *Methods in Mol. Biology.* – 1984. – Vol. 2. – P. 31–34.
10. The genetics of psoriasis--selected novelties in 2008 / A. Pasić, J. Lipozencić, R. Ceović, K. Kostović // *Acta Dermatovenerol Croat.* – 2009. Vol. 17, №3 – P. 176-181.