

УДК 616.514:616.5-002-02:616-056.43-056.7-07:575.224

КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ И КРАПИВНИЦЕЙ С МУТАЦИЯМИ В ГЕНЕ ФИЛАГГРИНА

¹Хантимерова Э.Ф., ¹Нуртдинова Г.М., ²Карунас А.С., ²Гималова Г.Ф.

¹ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет»

Минздрава РФ, Уфа, e-mail: elmirakhanimerova@gmail.com;

²ФГБУН «Институт биохимии и генетики» УНЦ РАН, Уфа

Наряду с ростом числа больных бронхиальной астмой, аллергическим ринитом увеличивается и количество пациентов с аллергическими заболеваниями, протекающими с поражением кожи. Аллергодерматозы встречаются у 20% больных в общей структуре аллергопатологии. Наиболее распространенными среди них являются крапивница и атопический дерматит. Было показано, что нарушение барьерной функции кожи при атопическом дерматите, тесно связанное с мутациями в гене филаггрина, способствует повышенному проникновению аллергенов, обеспечивает готовность к сенсибилизации. Целью нашего исследования явился поиск мутаций *p.Arg501X* и *c.2282del4* в гене филаггрина (*FLG*) среди больных крапивницей и атопическим дерматитом, а также выявление клинико-генетических особенностей аллергодерматозов. В общей выборке больных аллергодерматозами обнаружено 11 пациентов (5,47%), являющихся гетерозиготными носителями мутаций в гене *FLG*, из них семь человек оказались гетерозиготами по делеции *c.2282del4* и четыре пациента – гетерозиготами по мутации *p.Arg501X*. У 6 пациентов с выявленными мутациями был установлен основной диагноз атопического дерматита, у 5 пациентов – крапивница. У больных атопическим дерматитом аллельная частота мутации *c.2282del4* составила 2,58%, мутации *p.Arg501X* – 0,52%. У больных крапивницей мутация *c.2282del4* встречалась с аллельной частотой 0,96%, мутация *p.Arg501X* – 1,44%.

Ключевые слова: атопический дерматит, крапивница, ген филаггрина

CLINICAL AND GENETIC CHARACTERISTICS OF ATOPIC DERMATITIS AND URTICARIA PATIENTS WITH FLG GENE MUTATIONS

¹Khantimerova E.F., ¹Nurtdinova G.M., ²Karunas A.S., ²Gimalova G.F.

¹The Bashkir State Medical University, Ufa, e-mail: elmirakhanimerova@gmail.com;

²Genomics, Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Science Center of RAS, Ufa

Together with the increase in a number of patients with bronchial asthma and allergic rhinitis, there is also growing number of allergic patients with cutaneous lesions. Allergic dermatitis present in 20% of patients with allergic diseases. Urticaria and atopic dermatitis are the most common among them. It has been shown that skin barrier function defects during atopic dermatitis cause intensified allergen penetration, provide sensitization readiness and are tightly related to filaggrin gene mutations. The aim of our investigation was the search for *p.ARG501X* and *c.2284del4* mutations in the filaggrin gene in patients with urticaria and atopic dermatitis and detection of clinical genetic features of allergic skin diseases. We have found 11 patients (5,47%) in total sample who were heterozygous filaggrin mutations carriers, 7 were heterozygous for *c.2284del4* and 4 were heterozygous for *p.ARG501X*. Six of the detected mutations carriers were diagnosed with atopic dermatitis and five – with urticaria. The frequency of the *c.2284del4* mutation in patients with atopic dermatitis was 2,58%, of the *p.ARG501X* – 0,52%. Patients with urticaria had the *c.2284del4* mutation with the frequency of 0,96% and *p.ARG501X* mutation with the frequency of 1,44%.

Keywords: atopic dermatitis, urticaria, filaggrin gene

По прогнозам ВОЗ, в XXI веке аллергические и иммунодефицитные состояния по распространенности окажутся на первом месте. Распространенность аллергических болезней постоянно растет и в настоящее время составляет 10–30% взрослого населения и 20–50% – детского населения [1, 4].

Наряду с ростом числа больных бронхиальной астмой и аллергическим ринитом, увеличивается и количество пациентов с аллергическими заболеваниями, протекающими с поражением кожи. Аллергодерматозы встречаются у 20% больных в общей структуре аллергопатологии. Наиболее распространенными среди них являются крапивница и атопический дерматит [4].

Атопический дерматит (АтД) – это хроническое, рецидивирующее, аллергическое заболевание, развивающееся, как правило, в детском возрасте у лиц с наследственной предрасположенностью к атопии, с характерными возрастными особенностями морфологии и локализации очагов воспаления, сопровождающееся выраженным кожным зудом и обусловленное гиперчувствительностью как к аллергенам, так и к неспецифическим раздражителям [1, 4, 5, 11]. В структуре кожных заболеваний частота АтД составляет от 20 до 40% [4].

Крапивница – этиологически гетерогенная группа заболеваний и состояний, характеризующаяся образованием на коже

зудящих уртикарных высыпаний [2, 4]. Эпидемиологические исследования, проведенные в различных странах, показали, что распространенность хронической крапивницы в общей популяции составляет 0,1–3% [1, 13].

Первым барьером на пути проникновения аллергена оказываются кожа и слизистые оболочки. Одним из генов, участвующих в обеспечении барьерной функции кожи, является ген филаггрина (*FLG*). Было показано, что нарушение барьерной функции кожи при АтД и ихтиозе тесно связано с мутациями в гене филаггрина [10]. Филаггрин – главный белок кератогиалиновых гранул, участвующий в конечной дифференцировке эпидермиса и формировании рогового слоя кожи [4].

Ген филаггрина человека (*FLG*) локализован в хромосомной области 1q21, в которой расположен эпидермальный дифференцировочный комплекс, охватывающий около 30 генов, кодирующих белки, участвующие в конечной дифференцировке эпидермиса. Наиболее распространенными мутациями в гене *FLG* у больных АтД европейского происхождения являются *p.Arg501X* и *c.2282del4*, частота которых в среднем составляет около 30% [4, 5].

Оказалось, что эти мутации гена филаггрина являются предрасполагающими факторами развития не только АтД, но и бронхиальной астмы с сопутствующим АтД, являясь, таким образом, ключевым патогенетическим звеном в развитии «атопического марша» [2, 7, 8, 11].

Нарушение барьерной функции кожи у больных с мутациями в гене *FLG* облегчает проникновение аллергенов и инфекционных агентов через эпидермис, инициирует развитие местной и системной аллергической реакции организма [10].

Целью настоящей работы явилось изучение частоты встречаемости мутаций *c.2282del4*, *p.Arg501X* в гене филаггрина у больных атопическим дерматитом и пациентов с крапивницей и выявление клинико-генетических особенностей аллергодерматозов.

Материалы и методы исследования

Исследование проводилось среди больных, находившихся на стационарном лечении в аллергологическом отделении ГКБ № 21 г. Уфы. Всего был обследован 201 пациент, из них диагноз АтД был установлен у 97 больных (48,2%), диагноз крапивницы – у 104 человек. Среди больных крапивницей диагноз хроническая крапивница был выставлен 47 пациентам (23,4%), острая крапивница – 33 пациентам (16,4%), у 24 больных (12%) выявлено сочетание крапивницы с ангиоотеком. Средний возраст пациентов составил $39,5 \pm 14,1$ лет. Среди них 63 мужчины

и 138 женщин. Все пациенты предварительно дали письменное согласие на участие в проводимом исследовании.

Выделение ДНК осуществляли стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Для анализа мутаций (*c.2282del4* и *p.Arg501X*) в гене *FLG* применяли метод полимеразной цепной реакции синтеза ДНК с последующим анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов.

Результаты исследования и их обсуждение

В результате проведенного исследования мутаций *c.2282del4*, *p.Arg501X* в гене филаггрина, в общей выборке больных аллергодерматозами обнаружено 11 пациентов (5,47%), являющихся гетерозиготными носителями этих мутаций. Мутации *p.Arg501X* и *c.2282del4* локализованы в первом повторе третьего экзона гена *FLG* и обе приводят к остановке трансляции белка. Среди выявленных носителей мутаций 7 человек явились гетерозиготами по делеции *c.2282del4* и 4 пациента – гетерозиготами по мутации *p.Arg501X*. Средний возраст больных составил $41,5 \pm 13,4$ лет. Длительность заболевания у носителей мутаций в гене *FLG* варьировала от 10 до 51 лет, в 54,5% случаях (6 человек) заболевание началось в возрасте до 5 лет. У 6 пациентов с выявленными мутациями был установлен диагноз АтД, у 5 пациентов – крапивница.

Мутация *c.2282del4* была выявлена у 5 (5,15%) больных АтД, мутация *p.Arg501X* – у одного больного АтД (1,03%). Аллельная частота мутации *c.2282del4* у больных АтД составила 2,58%, мутации *p.Arg501X* – 0,52%.

Для дальнейшего анализа клинической картины и анамнестических данных все пациенты с диагнозом АтД были стратифицированы на две группы. Основную группу составили все пациенты АтД, являющиеся гетерозиготными носителями мутаций *c.2282del4*, *p.Arg501X* в гене *FLG*, группа сравнения включала всех больных с диагнозом АтД без мутаций в гене *FLG*.

При анализе причин обострения АтД – 45,1% больных группы сравнения связывали обострение АтД с нарушениями в диете, в основной группе 16,7% случаев были связаны с изменением характера питания. В основной группе 16,7% больных связывали обострение кожного процесса с психоэмоциональным стрессом, а в группе сравнения – 35,2% пациентов. В 33,2% случаев обострения АтД в основной группе происходили при контакте с химическими раздражителями, тогда как в группе сравнения лишь 5,5% пациентов отмечали связь с этим фактором ($p < 0,01$). При анализе основной группы выявлено, что 16,7% случаев обострения дерматоза происходило

при контакте с аэроаллергенами, а в группе сравнения – только 2,2% случаев ($p < 0,05$).

В группе сравнения больных АтД у 22% больных сопутствующим диагнозом является крапивница, в основной группе крапивница в анамнезе наблюдалась в 33,2% случаев. У 13,2% пациентов группы сравнения сопутствующим диагнозом был ангиоотек, в основной группе ангиоотек отмечался у 16,7% пациентов. В группе сравнения отягощенный анамнез по бронхиальной астме выявлен у 2,2% пациентов, а у больных основной группы анамнез был отягощен сопутствующей бронхиальной астмой в 16,7% случаях ($p < 0,05$). Сопутствующий аллергический ринит встречался в группе сравнения в 5,5% случаев, а в основной группе – в 16,7% случаев.

При исследовании анамнеза у 15 пациентов (16,5%) из группы сравнения с диагнозом АтД выявлено наличие atopических заболеваний у ближайших родственников, в основной группе наследуемые аллергические заболевания установлены в 50% случаев (3 пациента).

При анализе по шкале SCORAD в группе сравнения показатели индекса варьировали от 23 до 83,5, в среднем индекс составил $38,4 \pm 10$. В основной группе индекс колебался от 33,2 до 82,9 и в среднем составил $47,7 \pm 18,9$. По степени тяжести больные в основной группе распределены следующим образом: у 4 пациентов (66,7%) отмечена средняя тяжесть АтД, у 2 пациентов (33,3%) выставлен диагноз АтД тяжелой степени.

У больных АтД в основной группе процесс носил диффузный характер у 1 пациента (16,7%) ($p < 0,05$), распространенный характер процесса наблюдался у 2-х человек (33,3%) и ограниченно-локализованный – у 3-х больных (50%). В группе сравнения у 53 (58,3%) пациентов отмечался распространенный характер процесса, у 31 (34,1%) человека процесс носил ограниченно-локализованный характер и у 7 (7,7%) больных наблюдался диффузный процесс.

При анализе наличия мутаций в гене *FLG* среди больных алергодерматозами мутации *c.2282del4* и *p.Arg501X* выявлены у 5-ти больных крапивницей. Средний возраст больных составил $38,2 \pm 15$.

У двух больных (1,92%) с крапивницей была идентифицирована в гетерозиготном состоянии мутация *c.2282del4*, аллельная частота мутации составила 0,96%. Трое пациентов с крапивницей (2,88%) оказались гетерозиготными носителями мутации *p.Arg501X*, аллельная частота мутации составила 1,44%.

Для анализа клинической картины и анамнестических данных больных крапивницей с мутациями в гене филаггрина все пациенты также были поделены на две группы. Группа сравнения включала всех больных с диагнозом крапивница без мутаций в гене филаггрина, основную группу составили все пациенты с крапивницей с найденными мутациями *c.2282del4*, *p.Arg501X* в гене филаггрина.

В 8,1% случаев больные группы сравнения связывали обострение крапивницы с нарушениями в диете, в основной группе случаев обострения болезни в связи с изменением характера питания не выявлено. В группе сравнения около 6% больных связывали обострение кожного процесса с психоэмоциональным стрессом, в основной группе – 20% пациентов. Около 20% случаев обострения крапивницы в основной группе происходили при контакте с аллергенами, тогда как в группе сравнения лишь 5,8% пациентов отмечали связь с этим фактором. При анализе выявлено 20% случаев обострения крапивницы в основной группе в результате приема лекарственных препаратов, в группе сравнения число случаев лекарственной аллергии составило 14,1%. Достоверных различий влияния провоцирующих факторов на развитие крапивницы в основной группе и группе сравнения не выявлено.

В общей выборке пациентов с диагнозом крапивница сопутствующая алергопатология встречалась в 45 случаях (45,5%). Наиболее часто сопутствующим аллергическим заболеванием был ангиоотек – в 19,2% случаев у больных в группе сравнения и в 20% случаев в основной группе. У 31,1% пациентов в группе сравнения выявлена сопутствующая бронхиальная астма, а в основной группе в анамнезе бронхиальная астма встречалась в 20% случаев (табл. 3). В группе сравнения у больных крапивницей встречался сопутствующий аллергический ринит в 6,1% случаев, atopический дерматит – в 6,1% случаев, а в основной группе данные сопутствующие заболевания не выявлены.

При исследовании анамнеза, у 3-х пациентов (3%) из группы сравнения с диагнозом крапивница выявлено наличие аллергических заболеваний у ближайших родственников, в основной группе наследуемые аллергические заболевания выявлены в 20% случаев ($p < 0,05$).

Таким образом, в результате проведенного нами исследования мутаций в гене филаггрина у пациентов с АтД из г. Уфы, мутации *c.2282del4* и *p.ARG501X* были обнаружены у 6-ти человек (6,19%). При этом

гетерозиготами по делеции *c.2282del4* оказались 5,15% обследуемых, а гетерозиготами по мутации *p.ARG501X* – 1,03%. Сравнительный анализ частоты встречаемости мутации *c.2282del4* в гене *FLG* у больных АтД из г. Уфы с данными исследований из других популяций показал, что эта мутация в изучаемой нами группе больных встречается с более низкой частотой, чем у больных АтД из некоторых стран Европы. Она была выявлена у 26,9% больных АтД ирландского происхождения, у 20,8% больных АтД англичан, 16,1% больных АтД датчан, 13,6% больных АтД австрийского и немецкого происхождения [2, 3, 8]. В нашей стране было проведено исследование по выявлению мутаций *c.2282del4* и *p.ARG501X* в гене *FLG* у пациентов с АтД из Западной Сибири. По результатам исследования, мутации *c.2282del4* и *p.ARG501X* в гене филаггрина были обнаружены у 17 человек (11,8%), при этом гетерозиготами по делеции *c.2282del4* оказались 9,1% обследуемых, а гетерозиготами по мутации *p.ARG501X* – 2,1% [3]. Обнаруженная нами частота встречаемости мутации *p.Arg501X* у больных АтД сопоставима с таковой у больных АтД из Западной Сибири, а также с пациентами из Польши (у 1,5% больных), чаще выявляется у больных австрийского и немецкого (6,3% больных), а также датского происхождения (6,5%) [2, 3]. В отличие от исследуемой нами группы больных, мутация *p.ARG501X* с высокой частотой встречается у ирландцев (у 38,5% больных АтД, в основном гетерозигот по мутации) и англичан (у 25,7% больных АтД) [2, 8].

В результате проведенного исследования нами также впервые определена частота встречаемости мутаций в гене *FLG* у больных крапивницей. У двух больных (1,92%) с крапивницей была идентифицирована мутация *c.2282del4* в гетерозиготном состоянии, трое пациентов с крапивницей (2,88%) оказались гетерозиготными носителями мутации *p.Arg501X*. По данным литературы, ранее подобные исследования при крапивнице не проводились, в связи с чем не представляется возможным проведение сопоставления встречаемости мутаций *c.2282del4* и *p.Arg501X* в гене филаггрина у больных крапивницей из других популяций мира.

Выводы

Таким образом, у одиннадцати (5,47%) больных аллергодерматозами выявлены мутации *c.2282del4* и *p.Arg501X* в гене филаггрина. Мутация *c.2282del4* обнаружена у пяти (5,15%) больных АтД, мутация *p.Arg501X* – у одного больного АтД

(1,03%). У двух больных (1,92%) с крапивницей в гетерозиготном состоянии была идентифицирована мутация *c.2282del4*, трое пациентов с крапивницей (2,88%) являлись гетерозиготными носителями мутации *p.Arg501X*. Контакт с бытовыми аллергенами как провоцирующий фактор обострения отмечали 33,3% пациентов основной группы с АтД, являющихся гетерозиготными носителями мутаций *c.2282del4* и *p.Arg501X* в гене филаггрина, и только 5,5% пациентов из группы сравнения ($p < 0,01$). Обострение АтД при контакте с аэроаллергенами отмечали 16,7% больных в основной группе ($p < 0,05$) и 2,2% пациентов в группе сравнения, что, вероятно, связано с повышенным проникновением аллергенов в связи с нарушением барьерной функции кожи у носителей изученных мутаций. Кроме того, выявлена высокая вероятность наследования АтД в группе больных с наличием мутаций в гене филаггрина (16,7%) и сочетания АтД с бронхиальной астмой (33,3%), чем среди больных без наличия данных мутаций ($p < 0,05$).

Результаты проведенного нами исследования свидетельствуют о клинико-генетической значимости мутаций в гене *FLG* в развитии таких распространенных аллергодерматозов, как атопический дерматит и крапивница, и подчеркивают необходимость своевременной ДНК-диагностики этих мутаций с целью назначения персонализированной терапии атопического дерматита.

Список литературы

1. Горячкина Л.А., Кашкина К.П. Клиническая аллергология и иммунология. – М.: Миклош, 2009. – 432 с.
2. Карунас А.С., Хуснутдинова Э.К. Генетика аллергических заболеваний. – Уфа: Гилем, Башк.энцикл., 2013. – 304 с.
3. Саликова Т.И. Мутации в гене филаггрина как predisposing фактор развития атопического дерматита / Т.И. Саликова, В.Н. Максимов, Ю.В. Максимова // Клиническая дерматология и венерология. – 2010. – № 3. – С. 4–7.
4. Хаитов Р.М., Ильина Н.И. Аллергология и иммунопатология. Национальное руководство. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2009. – 649 с.
5. Bieber T. Atopic Dermatitis // NEngl J Med. – 2008. – P. 1483–1494.
6. Baurecht H. Toward a major risk factor for atopic eczema: meta-analysis of filaggrin polymorphism data/ Irvine AD, Novak N. // J Allergy Clin Immunol. – 2007. – P. 1406–1412.
7. Fallon P.G. A homozygous frameshift mutation in the mouse Fig gene facilitates enhanced percutaneous allergen priming / P.G. Fallon, T. Sasaki, A. Sandilands, L.E. Campbell et al. // Nature Genetics. – 2009. – P. 602–608 p.
8. Palmer Smith, Sandilands A., O'Regan G.M., Liao H., et al. Prevalent and rare mutations in the gene encoding filaggrin cause ichthyosis vulgaris and predispose individuals to atopic dermatitis // J Invest Dermatol. – 2006. – P. 1770–1777.
9. Saeki, H., Furue, M., Furukawa, F., Hide, M., Ohtsuki, M., Katayama, I., et al. Guidelines for management of atopic dermatitis // Journal of Dermatology. – 2009. – P. 563–577.

10. Tamari M., Tanaka S., Hirota T. Genome-wide association studies of allergic diseases // *Allergol Int.* – 2013. – P. 21–28.
11. Vercelli D. Gene-environment interaction in asthma and allergy: the end of the beginning? // *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* – 2010. – P. 145–148.
12. Weidinger S. Loss-of-function variations within the filaggrin gene predispose for atopic dermatitis with allergic sensitizations / S. Weidinger, T. Illig, H. Baurecht et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2006. – P. 214–219.
13. Zuberbier T., Bindslev-Jensen C., Canonica W. Management of urticaria: a consensus report / Zuberbier T., Greaves M.W., Juhlin L., Mark H., Stingl G., Henz B.M. // *J Invest Dermatol Symp Proc.* – 2001. – P. 128–131.
14. Fallon P.G., Sasaki A., Sandilands L.E., Campbell et al. // *Nature Genetics.* 2009. pp. 602–608.
15. Palmer, Smith, Sandilands A., O'Regan G.M., Liao H., et al. Prevalent and rare mutations in the gene encoding filaggrin cause ichthyosis vulgaris and predispose individuals to atopic dermatitis // *J Invest Dermatol.* 2006. pp. 1770–1777.
16. Saeki, H., Furue, M., Furukawa, F., Hide, M., Ohtsuki, M., Katayama, I., et al. Guidelines for management of atopic dermatitis // *Journal of Dermatology.* 2009. pp. 563–577.
17. Tamari M., Tanaka S., Hirota T. Genome-wide association studies of allergic diseases // *Allergol Int.* 2013. pp. 21–28.
18. Vercelli D. Gene-environment interaction in asthma and allergy: the end of the beginning? // *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2010. pp. 145–148.
19. Weidinger S. Loss-of-function variations within the filaggrin gene predispose for atopic dermatitis with allergic sensitizations / S. Weidinger, T. Illig, H. Baurecht et al. // *J. Allergy Clin. Immunol.* 2006. pp. 214–219.
20. Zuberbier T., Bindslev-Jensen S., Canonica W. Management of urticaria: a consensus report / Zuberbier T., Greaves M.W., Juhlin L., Mark H., Stingl G., Henz B.M. // *J Invest Dermatol Symp Proc.* 2001. pp. 128–131.

References

1. Gorjachkina L.A. Klinicheskaja allergologija i immunologija / Gorjachkina L.A., Kashkina K.P. M.: Miklosh, 2009, pp. 432.
2. Karunas A.S. Genetika allergicheskikh zabojevanij / Karunas A.S., Husnutdinova Je.K. Ufa: Gilem, Bashk.jencikl., 2013, pp. 304.
3. Salikova T.I. Mutacii v gene filaggrina kak predraspolagajushhij faktor razvitija atopicheskogo dermatita / T.I. Salikova, V.N. Maksimov, Ju.V. Maksimova // *Klinicheskaja dermatologija i venerologija: Nauchno-prakticheskij zhurnal.* 2010. no. 3. pp. 4–7.
4. Haitov R.M. Allergologija i immunopatologija. Nacional'noe rukovodstvo / Haitov R.M., Il'ina N.I. M.: GJeO-TAR-MED, 2009, p. 649;
5. Bieber T. Atopic Dermatitis / Bieber T. // *N Engl J Med.* 2008. pp. 1483–1494.
6. Baurecht H. Toward a major risk factor for atopic eczema: meta-analysis of filaggrin polymorphism data / Irvine A.D., Novak N. // *J Allergy Clin Immunol.* 2007. 1406–1412 p.
7. Fallon, P.G. A homozygous frameshift mutation in the mouse Fig gene facilitates enhanced percutaneous allergen prim-

Рецензенты:

Зулкарнеев Р.Х., д.м.н., профессор кафедры пропедевтики внутренних болезней, ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, г. Уфа;

Загидуллин Н.Ш., д.м.н., профессор кафедры пропедевтики внутренних болезней, ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, г. Уфа.

Работа поступила в редакцию 10.10.2014.