

Петрова Елена Александровна

**КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ПРОГНОЗИРОВАНИЕ
ТЕЧЕНИЯ ВУЛЬГАРНОГО ПСОРИАЗА У ПАЦИЕНТОВ
С ПОЛИМОРФИЗМОМ ГЕНОВ TOLL-РЕЦЕПТОРОВ
4 И 9 ТИПОВ**

14.01.10 – кожные и венерические болезни

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Новосибирск – 2014

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Омская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор **Охлопков Виталий Александрович**

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, доцент **Матусевич Сергей Львович**

(Тюменская государственная медицинская академия, заведующий кафедрой кожных и венерических болезней)

доктор медицинских наук, доцент **Дмитрук Вадим Степанович**

(Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, доцент кафедры дерматовенерологии и косметологии)

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Уральский научно-исследовательский институт дерматовенерологии и иммунопатологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «___» _____ 2014 года в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.062.06, созданного на базе Новосибирского государственного медицинского университета (630091, Новосибирск, Красный проспект, д. 52; тел (383) 229-10-83)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Новосибирского государственного медицинского университета (630091, Новосибирск, Красный проспект, 52; <http://www.ngmu.ru/dissertation/328>)

Автореферат разослан «___» _____ 2014 года

Ученый секретарь

диссертационного совета

Т.Б. Решетникова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Псориаз – один из наиболее распространенных хронических дерматозов, составляющий от 12 до 15 % всех кожных заболеваний. Псориазом страдает до 3 % всего населения земного шара (Кубанова А.А. с соавт., 2010), при этом его распространенность меняется в зависимости от этнической принадлежности и географического размещения популяции. Несмотря на многочисленные исследования отечественных и зарубежных ученых, многие аспекты этиологии и патогенеза псориаза до сих пор остаются невыясненными (Хобейш М.М., 2006; Молочков В.А., 2007; Sabat R. et al., 2007).

Псориаз – пример мультифакториального заболевания; формирование его клинической картины и течение определяются влиянием большого числа генетических и внешне-средовых факторов (Connolly D.J., O'Neill L.A., 2012), причем генетические факторы доминируют над средовыми, играя значительную роль в развитии заболевания (Bowcock A.M., 2005; Пирузян Ан.Л., Абдеев Р.М., 2006; Катунина О.Р., 2009; Хайрутдинов В.Р., 2011; Галимова Э.С., 2012). Идентификация полиморфных участков генов (SNP), повышающих риск развития заболевания, с применением молекулярно-генетических методов является актуальной задачей мировой практики научных исследований.

Недостаточная изученность этиопатогенеза псориаза, с одной стороны, и отсутствие адекватных, основанных на научно доказанных данных алгоритмов вероятностной оценки совокупности симптомов и признаков данной патологии – с другой, затрудняют врачебную оценку признаков склонности к частому рецидивированию и прогнозирование эффекта от назначаемого лечения, в связи с чем возрастает роль вероятностных методов оценки клинических данных.

Чувствительные патоген-ассоциированные виды молекул (PAMPs), а также различные виды рецепторов распознавания (PRRs) кожи реализуют функции врожденного иммунитета, в норме обеспечивая защиту без воспаления. Особое внимание привлекает семейство Toll-подобных рецепторов (TLRs), играющее центральную роль в системе иммунной защиты кожи (Симбирцев А.С., 2005; Sandor F., Buc M., 2005). Активация TLRs приводит через различные внутриклеточные сигнальные пути к образованию провоспалительных стимулов и считается сигналом опасности, который трансформирует кожу в функциональное состояние защиты (Снарская Е.С., 2012). Toll-подобные рецепторы также

участвуют в гомеостазе и восстановлении ткани. Поверхностно экспрессируемые TLRs (например, 4-го типа) особенно активны против компонентов клеточной стенки бактерий, инициируют фагосомные сигналы и сигналы созревания. Внутриклеточные рецепторы (в частности - TLR 9-го типа) распознают вирус-ассоциированный характер молекул и ответственны за индуцирование антивирусных генов.

Влияние полиморфизмов TLR4 (C6898A) и TLR9 (A2848G) на течение псориатической болезни и её клиническую картину является недостаточно изученным, что определило актуальность настоящего исследования.

Цель исследования. Оценка влияния полиморфизма генов TLR4 (C6898A) и TLR9 (A2848G) на формирование клинической картины, течение и прогноз у пациентов с вульгарным псориазом для повышения эффективности терапии и снижения частоты рецидивов.

Задачи исследования

1. Дать клиническую характеристику вульгарного псориаза у пациентов и установить особенности анамнеза и клинической картины, имеющие прогностическое значение.

2. Изучить частоты генотипов и аллелей полиморфизмов генов TLR4 (C6898A) и TLR9 (A2848G) и оценить их вклад в формирование клинической симптоматики у пациентов с вульгарным псориазом.

3. Определить информативность анамнестических и клинических признаков и полиморфизма генов TLR4 (C6898A) и TLR9 (A2848G) для прогнозирования течения псориаза и эффективности терапии.

4. Разработать оптимальный алгоритм дообследования и ведения пациентов с вульгарным псориазом для повышения эффективности терапии и снижения частоты рецидивов.

Научная новизна и теоретическая значимость работы. Установлено, что частоты аллелей полиморфизмов C6898A (TLR4) и A2848G (TLR9) у больных вульгарным псориазом составили: TLR4, аллель С ($89,2 \pm 1,1$) %, аллель А ($10,8 \pm 1,1$) %; TLR9 (A2848G), аллель А ($77,4 \pm 1,4$) %, аллель G ($22,6 \pm 1,4$) % и не отличались от таковых у здоровых людей.

Определены ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов 6898C/A гена TLR4 и 2848G/A гена TLR9 с формированием следующих особенностей

клинической картины заболевания: большая склонность к частому рецидивированию (на 11,9 %), экссудации (на 8,1 %), формированию псориатической артропатии (на 6,5 %), увеличению площади поражения кожных покровов и меньшей динамики индекса PASI в процессе лечения.

Предложен комплекс дополнительных прогностических клинико-генетических критериев оценки тяжести вульгарного псориаза: наличие генотипа G/G полиморфизма A2848G гена TLR9, наличие генотипа C/A ОНП C6898A гена TLR4, наличие сопутствующих заболеваний аллергической природы, форма псориаза с преимущественным поражением ладоней и подошв, площадь поражения кожи более 30 %; индекс PASI в первые сутки 20 и более, наличие склонности к экссудации псориатических элементов.

Обоснованы подходы к вероятностной оценке клинически значимой информации о пациенте для оценки риска частого рецидивирования и прогнозирования эффекта от назначаемого лечения, базирующиеся на байесовской оценке информативности анамнестических данных, клинических симптомов и признаков и данных генотипирования.

Практическая значимость. Наличие ассоциативных связей полиморфизма генов TLR4 (C6898A) и TLR9 (A2848G) с анамнестическими и клиническими данными у пациентов с вульгарным псориазом определяет необходимость генотипирования для индивидуализированного подбора терапии и оценки прогноза течения заболевания при первичном обращении.

На основе изучения информативности анамнестических и клинических признаков у пациентов с вульгарным псориазом, в зависимости от результатов генотипирования полиморфизмов генов TLR4 (C6898A) и TLR9 (A2848G), разработан алгоритм вычислений, позволяющий оценивать риск развития патологического процесса с частым рецидивированием и недостаточной эффективностью лечения, который может использоваться в виде компьютерной программы.

Положения, выносимые на защиту

1. Частоты аллелей генов TLR 4-го типа (C6898A) и 9-го типа (A2848G) у пациентов с вульгарным псориазом не отличаются от таковых у здоровых людей, но наличие у больного хотя бы одного полиморфного варианта увеличивает на 1 – 4 % вероятность проявлений таких особенностей клинической картины

заболевания, как большая склонность к частому рецидивированию, экссудации, формирование псориатической артропатии, увеличение площади поражения кожных покровов.

2. Носительство аллеля А полиморфизма 6898С/А гена TLR4 у пациентов с псориазом ассоциировано с каплевидной формой вульгарного псориаза, наличием псориаза у близких родственников пациента, наличием сопутствующих инфекционных заболеваний, низкими показателями дерматологического индекса качества жизни, частым рецидивированием патологического процесса, в то время как носительство аллеля G полиморфизма A2848G гена TLR9 ассоциировано со склонностью к экссудации псориатических элементов, большим показателем PASI до начала лечения, меньшей динамикой его снижения в период лечения.

3. Разработанный алгоритм расчета вероятности частого рецидивирования, снижения эффективности стандартной терапии позволяет определять прогноз течения заболевания еще на этапе назначения лечения, облегчая принятие обоснованных решений по расширению или изменению терапии.

Апробация работы. Основные положения диссертации доложены и обсуждены на научно-практической конференции дерматовенерологов и косметологов Сибирского федерального округа (СФО), посвященной 90-летию кафедры дерматовенерологии и косметологии ОмГМА (Омск, 2011), на III конференции дерматологов и косметологов СФО (Новосибирск, 2013), на заседании Омского отделения Российского общества дерматовенерологов и косметологов (24.05.2013 г.).

Внедрение результатов исследования. Результаты исследования использованы при подготовке методических рекомендаций для врачей «Клиническая оценка и прогнозирование течения вульгарного псориаза с учетом данных генотипирования» (В.А. Охлопков, Е.А. Петрова и др. Омск : ОмГМА, 2013. 40 с.), утвержденных Министерством здравоохранения Омской области, внедрены и используются в деятельности Клинического кожно-венерологического диспансера (г. Омск), внедрены в учебный процесс Омской государственной медицинской академии.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 5 печатных работ, в том числе 5 статей в научных журналах и изданиях, которые включены в перечень российских рецензируемых научных журналов для публикаций материалов диссертации.

Объем и структура диссертации. Работа изложена на 135 страницах машинописного текста, иллюстрирована 29 таблицами, 12 рисунками. Диссертация состоит из введения, литературного обзора, главы, описывающей материалы и методы исследования, двух глав собственных исследований, выводов, практических рекомендаций. Библиографический указатель содержит 278 источников, в том числе 115 зарубежных авторов.

Диссертация выполнена в соответствии с планом научно-исследовательской работы ОмГМА, номер государственной регистрации 01201151569. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ОмГМА (прот. № 51 от 10.10.2012 г.).

Личный вклад. Сбор первичных материалов исследования проведен совместно с работниками учреждений здравоохранения, ОмГМА (г. Омск), обработан и проанализирован лично автором.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Набор клинического материала проводился на кафедре дерматовенерологии и косметологии ОмГМА и в дерматологическом отделении Омского областного клинического кожно-венерологического диспансера. Генетические исследования проводились на кафедре патологической анатомии, на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории ОмГМА (г. Омск), а также в лаборатории фармакогеномики Института химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения РАН (г. Новосибирск).

Наблюдалось 425 неродственных пациентов (335 мужчин и 90 женщин) в возрасте 18 – 80 лет (медиана возраста 46,0 [29,0-55,0] лет) с различными клиническими вариантами вульгарного псориаза в прогрессирующей стадии на момент включения и в стационарной и регрессирующей стадиях в процессе исследования, 355 (83,5 %) из них относились к европеоидной расе.

Количество пациентов, необходимых для исследования, было рассчитано с помощью приложения StatCalc программы Epi Info (версия 6) с учетом 95-процентной надежности, 80-процентного уровня статистической мощности, ожидаемого уровня распространенности изучаемого явления (вульгарный псориаз). Минимальное число пациентов в группе составило по расчету 279 человек, однако для организации вложенных исследований типа «случай-контроль» численность группы увеличена до 420.

Все больные прошли стационарное лечение. В историях болезни пациентов

отражались факторы, имеющие значение в течении псориаза: начало и последующая динамика заболевания, предполагаемые причины его возникновения, условия труда и быта, наследственность, национальность, перенесенные заболевания, состояние здоровья в момент обращения и во время лечения, результаты общеклинических и параклинических исследований.

Клинически-значимые результаты оценивались по индексу PASI до лечения и после лечения (на 21-й день). Результаты терапии оценивались по степени очищения кожи от псориатических высыпаний (PASI) и средней длительности лечения. За *клиническое выздоровление* принималось полное очищение кожного покрова от псориатических высыпаний. *Значительное улучшение* регистрировалось при снижении индекса PASI на 75 %, что соответствовало регрессу 80 % высыпаний. За *улучшение* принимались результаты, когда удавалось лишь остановить прогрессирование псориатического процесса, добиться прекращения патологического шелушения и некоторого уменьшения очагов поражения при снижении индекса PASI на 25 % – 75 %. За *незначительное клиническое улучшение* принималось снижение индекса PASI менее чем на 25 %, когда удавалось лишь остановить прогрессирование псориатического процесса. Лечение считалось *безрезультатным* в том случае, если больные выписывались в прогрессирующей или стационарной стадии псориатического процесса. Оценивался также дерматологический индекс качества жизни (ДИКЖ) (Кочергин Н.Г., 2006).

Критериями включения в исследование являлись наличие у пациента вульгарного псориаза в прогрессирующей стадии, возраст старше 18 лет, информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии исключения: развитие побочных эффектов на получаемую терапию, нарушение режима лечения, алкоголизм, наркомания, прием лекарственных препаратов, которые могут влиять на течение основного заболевания. В генетических исследованиях критерием исключения также являлась этническая принадлежность пациента к неевропеоидной расе.

Контрольная группа, включенная в генетическое исследование, была представлена 225 взрослыми неродственными донорами крови (175 мужчин и 50 женщин) в возрасте 18-60 лет (медиана возраста 44 [28,0 – 53,0] года), не страдающими псориазом. Критериями исключения, помимо указанных в Приказе

Министерства здравоохранения РФ от 14.09.2001 г. N 364 «Об утверждении порядка медицинского обследования донора крови и ее компонентов», явились хронические заболевания в стадии обострения, применение лекарственных средств.

Полиморфизм гена TLR9 (+2848 G/A; rs352140) исследован методом ПЦР с использованием диагностических наборов научно-производственной фирмы «Литех» (Россия). Этапы выделения и амплификации ДНК выполнялись в соответствии с требованиями, указываемыми производителем. Полиморфизм гена TLR4 (C/A; rs11536898) исследован с помощью ПЦР в режиме реального времени с использованием TaqMan-зондов.

Описание количественных признаков проводилось с использованием параметрических и непараметрических методов. Статистический анализ осуществлялся с использованием пакета STATISTICA-6. Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости «р» принимался равным 0,05. Проверка нормальности распределения производилась с использованием критериев Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилки, проверка гипотез о равенстве генеральных дисперсий – с помощью критерия Левене.

Средние выборочные значения количественных признаков приведены в тексте в виде $M \pm SD$, где M – среднее выборочное, SD – стандартное отклонение. В случае наличия распределения значений в ряду отличного от нормального, указывалась также медиана (P_{50}), 25-й (P_{25}) и 75-й процентиль (P_{75}). Для экстенсивных показателей, выражаемых в процентах, указывалась стандартная ошибка показателя (Власов В.В., 2004). Для оценки различий в долях двух выборок использован метод углового преобразования Фишера. Для сравнения числовых данных двух связанных групп использовался критерий ранговых знаков Вилкоксона (T), числовых данных двух независимых групп – U -критерий Манна-Уитни, числовых данных более чем двух групп – критерий Краскела-Уоллиса (H). Применялись анализ таблиц сопряженности, корреляционный и дисперсионный анализ. Оценивались значения информационной статистики Кульбака (2I-статистика; Закс Л., 1976). При построении прогностических вероятностных моделей использовали многофакторный логистический регрессионный анализ.

Информативность диагностических признаков и субъективные меры вероятности оценивали при помощи теоремы Байеса (Ластед Л., 1971).

Основная формула Байеса: $P(D|S) = [P(S|D) * P(D)] / P(S)$, при условии, что

величины $P(D)$ и $P(S) \neq 0$. $P(D|S)$ – конечная, или апостериорная, вероятность развития клинически значимого состояния, $P(S|D)$ – вероятность того, что данные симптомы будут обнаружены, если клинически значимое состояние действительно имеет место. Наиболее важную информацию при вычислениях по формуле Байеса несет отношение правдоподобия (L), характеризующее информативность симптома для данного заболевания. При $L < 1$ анализируемый признак скорее нехарактерен для данного состояния.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Клиническая характеристика пациентов с вульгарным псориазом с позиций прогнозирования особенностей его течения. В процессе клинического наблюдения за пациентами была поставлена задача выяснения особенностей клинической картины и выявления прогностически значимых симптомов и признаков. По результатам простого описательного исследования клинико-анамнестических признаков группы исследования установлено, что мужчины составили $78,8 \% \pm 2,0 \%$, женщины – $21,2 \% \pm 2,0 \%$. Первые клинические признаки псориаза у наблюдаемых нами больных наиболее часто отмечались в возрасте 25 – 30 лет. Значительное количество больных страдало псориазом в течение продолжительного периода времени. Средняя продолжительность болезни у обследуемых составила 11 [5-22] лет. Поражение лиц в трудоспособном возрасте (18-60 лет) отмечено в 88,0 % случаев. Первый тип псориаза («наследственный») встречался у $76,9 \% \pm 2,0 \%$ пациентов, второй – у $23,1 \% \pm 2,0 \%$.

Факторы, провоцирующие обострение заболевания, достаточно часто остаются неустановленными, что придает большое значение разработке научно-обоснованных способов клинического прогноза течения псориаза. Среди них наиболее часто встречались: психотравмирующий фактор – 31,3 %, инфекционный фактор – 7,1 %; около 55 % пациентов причину, обостряющую патологический процесс, не указали.

Наибольший удельный вес среди всех пациентов занимали больные, имеющие одно-два обострения в год – 329 (77,4 %), 32 человека отмечали более двух обострений в год (7,5 %), еще у 8,9 % пациентов имелось непрерывно-рецидивирующее течение заболевания. У большинства больных рецидивы заболевания наблюдались в осенне-весеннее время.

Клиническая картина тяжести заболевания и его динамика оценивалась по индексу площади и тяжести псориатического процесса, или PASI, который варьировал от 3 до 64 единиц. Медиана значения PASI на 1-е сутки исследования составила 22,3 [14,9-28,1] (табл. 1). На 21-й день показатель PASI существенно снижался и составил 6,6 [4,2-9,6], снизившись за время лечения на 67 % [60-76].

Важным показателем является ДИКЖ, применяемый для оценки степени негативного влияния кожного заболевания на различные аспекты жизни больного. Величина ДИКЖ, оцениваемая при поступлении, приведена в таблице 1, а на рисунке 1 – в зависимости от стажа болезни. Отмечена четкая тенденция к ухудшению показателя ДИКЖ с увеличением длительности заболевания.

Таблица 1 – Некоторые показатели пациентов группы наблюдения

Показатель, ед. измерения	M	SD	SE	P25	P50	P75
PASI 1-е сутки	23,03	11,17	0,54	14,9	22,3	28,1
PASI 21-е сутки	7,79	5,32	0,26	4,2	6,6	9,6
Динамика PASI, %	66,91	11,99	0,58	60,0	67,0	76,0
ДИКЖ	10,78	4,42	0,21	7,0	11,0	14,0

Псориатическая артропатия выявлена у $28,0 \% \pm 2,2 \%$, склонность к экссудации псориатических элементов – у $6,1 \% \pm 1,2 \%$. Сопутствующие заболевания сердечно-сосудистой системы имелись у $15,1 \% \pm 1,7 \%$, инфекционные (бактериальные, вирусные, грибковые) – у $14,6 \% \pm 1,7 \%$, болезни эндокринной системы – у $12,7 \% \pm 1,6 \%$, аллергические заболевания (поллинозы, бронхиальная астма и др.) – у $2,9 \% \pm 0,7 \%$ (рис. 2.).

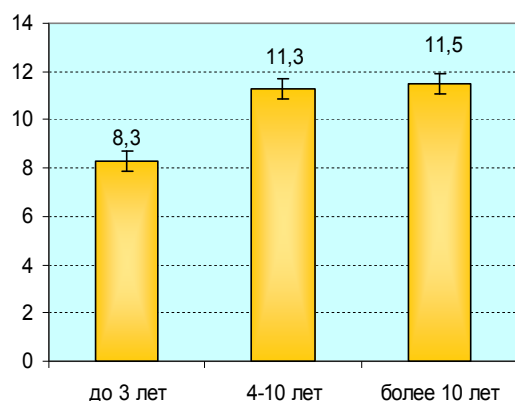


Рис. 1. Дерматологический индекс качества жизни у пациентов в зависимости от стажа заболевания (ед.).

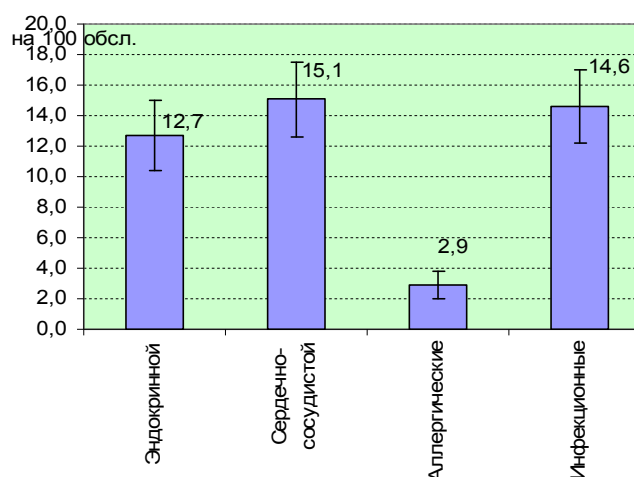


Рис. 2. Сопутствующие заболевания у пациентов (частота на 100 обследованных)

Проявления псориаза у $13,6 \% \pm 1,7 \%$ человек имели ограниченный характер, поражая не более 30 % кожного покрова. У остальных больных патологический процесс носил распространенный характер ($81,6 \% \pm 1,9 \%$), превышающий 30 % поверхности кожи, или генерализованный ($4,7 \% \pm 1,0 \%$).

Проведен анализ клинико-анамнестических данных с формированием групп «случай – контроль» по признакам: наличие частого рецидивирования псориатического процесса, значительного улучшения после лечения, тип псориаза, пол, проявления псориатической артропатии, склонность к экссудации псориатических элементов, псориаз у родственников.

В частности, в группах, выделенных по наличию или отсутствию частых рецидивов, имелись статистически значимые различия по полу (установлены связи признака «частое рецидивирование» с женским полом пациента (на 23,2 % чаще, относительный риск $OR = 3,28 [2,13 - 5,06]$), преимущественно молодым возрастом ($r_s = -0,15$; $p = 0,002$), наличием сопутствующих заболеваний аллергической природы (на 5,2 % чаще, $OR = 3,47 [1,67 - 7,22]$), спектру провоцирующих факторов начала заболевания, величине ДИКЖ, эффекту от ранее проводимого лечения, площади поражения кожи. Возрастание риска недостаточной эффективности стандартной терапии коррелировало с возрастом начала заболевания (старше 40 лет) ($r_s = 0,12$; $p = 0,011$). Риск развития псориатической артропатии повышался с возрастом ($r_s = 0,37$; $p < 0,001$), стажем заболевания ($r_s = 0,35$; $p < 0,001$), площадью поражения кожи ($r_s = 0,16$; $p = 0,001$), наличием сопутствующих эндокринных (на 12,6 %) и инфекционных заболеваний (на 12,4 %).

Установленные особенности клинической картины явились основанием для поиска прогностически важных (информативных) факторов, на основании изучения которых возможно прогнозировать клинически значимые состояния.

Распространенность и вклад полиморфных вариантов генов TLR4 (C6898A) и TLR9 (A2848G) в формирование клинической симптоматики у пациентов с псориазом. Структура пациентов с псориазом по генотипам и частоты аллелей была следующей: TLR4 (C6898A): C/C $78,8 \% \pm 2,0 \%$, C/A $20,7 \% \pm 2,0 \%$, A/A $0,5 \% \pm 0,3 \%$; TLR9 (A2848G) A/A $65,2 \% \pm 2,3 \%$, A/G $24,5 \% \pm 2,1 \%$, G/G $10,4 \% \pm 1,5 \%$ (табл. 2).

При исследовании частот аллелей и генотипов у пациентов с псориазом и в

контрольной группе достоверных различий не обнаружено [по TLR4 (C6898A) ОР (относительный риск) = 1,075 (доверительный интервал CI_{0,95}: 0,94-1,23), ОШ (отношение шансов) = 1,22 (0,86-1,73); по TLR9 (A2848G) ОР = 1,082 (CI_{0,95}: 0,98-1,19), ОШ = 1,246 (CI_{0,95} : 0,96-1,62)].

Таблица 2 – Распределение частот аллелей и генотипов генов TLR4 (C6898A) и TLR9 (A2848G) у больных псориазом и лиц контрольной группы

Полиморфизм	Аллель	Частота аллеля, %	Генотип	Частота генотипа, %
Пациенты с псориазом				
TLR4 (C6898A)	C	89,2 ± 1,1	C/C	78,8 ± 2,0
	A	10,8 ± 1,1	C/A	20,7 ± 2,0
			A/A	0,5 ± 0,3
TLR9 (A2848G)	A	77,4 ± 1,4	A/A	65,2 ± 2,3
	G	22,6 ± 1,4	A/G	24,5 ± 2,1
			G/G	10,4 ± 1,5
Контрольная группа				
TLR4 (C6898A)	C	87,1 ± 1,6	C/C	74,7 ± 2,9
	A	12,9 ± 1,6	C/A	24,9 ± 2,9
			A/A	0,4 ± 0,4
TLR9 (A2848G)	A	73,3 ± 2,1	A/A	60,4 ± 3,3
	G	26,7 ± 2,1	A/G	25,8 ± 2,9
			G/G	13,8 ± 2,3

Оценка влияния имеющегося генотипа на формирование клинической картины и данных анамнеза проводилась с помощью дисперсионного анализа. У пациентов с псориазом установлены ассоциативные связи наличия аллеля А гена TLR4 с наличием каплевидной формы псориаза (сила влияния 3,84 %, $p < 0,001$); наличием псориаза у близких родственников пациента (сила влияния 1,53 %, $p < 0,05$); наличием сопутствующих инфекционных заболеваний (сила влияния 2,11 %, $p < 0,05$) и рядом других признаков. Установленные ассоциативные связи наличия аллеля G гена TLR9 приведены в таблице 3.

Подходы к повышению эффективности терапии пациентов и снижению частоты рецидивов вульгарного псориаза с учетом данных генотипирования и вероятностной оценки риска. Большое значение в вопросах прогнозирования течения имеют методы, позволяющие оценивать риск возникновения клинически значимых состояний в ближайшем будущем на основании обобщения и анализа частоты таких явлений у аналогичных групп пациентов.

Таблица 3 – Установленные показатели силы влияния полиморфизма генов TLR4 (C6898A) и TLR9 (A2848G) у больных псориазом на некоторые клинические и анамнестические признаки (%)

Признак	TLR4 (C6898A)				TLR9 (A2848G)			
	Fфакт	Fкрит	p	Сила влияния, %	Fфакт	Fкрит	p	Сила влияния, %
Псориаз обыкновенный / каплевидный или с преимущественным поражением ладоней и подошв	8,43	7,10	<0,001	3,84	0,21	3,02	-	-
Пол	0,59	3,02	-	-	4,28	3,02	<0,05	1,99
Склонность к экссудации псориатических элементов	0,11	3,02	-	-	5,13	4,66	<0,01	2,38
Псориаз у родственников	3,28	3,02	<0,05	1,53	1,24	3,02	-	-
Сопутствующие инфекционные и (или) паразитарные заболевания	4,54	3,02	<0,05	2,11	1,54	3,02	-	-
ДИКЖ	5,31	4,66	<0,01	2,46	0,59	3,02	-	-
Частота рецидивов	6,18	4,66	<0,01	2,84	0,89	3,02	-	-
Эффект от терапии	1,50	3,02	-	-	6,50	4,66	<0,01	2,99
Площадь поражения кожи, %	0,14	3,02	-	-	6,13	4,66	<0,01	2,82
PASI в 1-е сутки	1,53	3,02	-	-	4,34	3,02	<0,05	2,01
Динамика PASI %	0,78	3,02	-	-	7,87	7,10	<0,001	3,60
Возраст	1,62	3,02	-	-	6,46	4,66	<0,01	2,97

С применением метода логистической регрессии предложены уравнения для прогнозирования клинически значимых признаков (табл. 4). Все предлагаемые модели проверялись на работоспособность.

Таблица 4 – Параметры уравнений логистической регрессии для прогнозирования клинически значимых признаков

А (свободный член уравнения)	В1	В2	В3	В4	Стат. значимость
Прогнозирование частого рецидивирования псориатического процесса					
-0,5796	-0,286 ¹	1,744 ²	0,1512 ³	0,0303 ⁴	$X^2 = 17,28$, $df = 4$, $p = 0,0017$
-1,4674	-0,269 ¹	2,049 ²	0,8341 ⁵	-0,239 ⁶	$X^2 = 15,95$, $df = 4$, $p = 0,0031$
-3,7463	1,5023 ⁷	0,9199 ⁵	-0,084 ⁶	-0,023 ⁴	$X^2 = 41,29$, $df = 4$, $p = 0,0000$
Прогнозирование склонности к экссудации псориатического процесса					
21,99	-25,257 ⁷	0,1463 ³	- 0,12 ⁸	-	$X^2 = 15,00$, $df = 3$, $p = 0,0018$
21,2275	-0,1344 ⁵	-24,55 ⁶	0,0379 ⁹	-	$X^2 = 12,84$, $df = 3$, $p = 0,0050$
Прогнозирование слабого клинического улучшения после курса стандартной терапии					
-0,3807	0,9814 ⁷	0,2632 ⁵	-0,371 ⁶	-0,025 ⁴	$X^2 = 40,14$, $df = 4$, $p = 0,0000$
Примечания: 1 – наличие псориаза у родственников; 2 – наличие сопут. аллерг. заболеваний; 3 – площадь поражения кожных покровов; 4 – возраст; 5 – наличие аллеля А гена TLR4 (C6898A); 6 – генотип по TLR9 (A2848G); 7 – пол; 8 – изменения в общем анализе крови (лейкоцитоз, билирубинемия); 9 – показатель PASI в 1 сутки.					

Одним из методов прогнозирования также является байесовский подход, позволяющий на основе различий в частоте отдельных симптомов рассчитывать величины отношений правдоподобия, которые фактически являются мерой информативности того или иного симптома при изучаемом заболевании.

Были определены субъективные меры вероятности, шансы и отношения правдоподобия для отдельных (субъективных) симптомов у пациентов с частыми рецидивами псориаза (более 2 в год) (табл. 5).

Для прогнозирования частого рецидивирования псориатического процесса наиболее информативными признаками являлись: наличие сопутствующих заболеваний аллергической природы (БА, поллинозы и др.), $L(D_1;S) = 5,631$ (хотя данная патология встречалась нечасто ($P(S|D_1) = 0,0625$ или у 6,25 % пациентов группы с наличием частых рецидивов), давность заболевания более 10 лет, $L(D_1;S) = 3,108$, наличие формы псориаза с преимущественным поражением ладоней и подошв, $L(D_1;S) = 2,811$; распространенность псориатического

процесса, $L(D_1;S) = 2,150$, и другие признаки (табл. 5). С применением аналогичных подходов была проведена оценка информативности симптомов и признаков для прогнозирования риска снижения эффективности стандартной терапии (табл. 6). В данной ситуации наиболее информативными признаками являлись: наличие генотипа G/G TLR9 (A2848G), $L(D_1;S) = 2,455$; псориаз с преимущественным поражением ладоней и подошв, $L(D_1;S) = 2,182$.

Значимые отличия в группах, выделенных по генотипу TLR 4, отмечены лишь по стажу заболевания и показателю ДИКЖ. Статистически значимые отличия в группах, выделенных по генотипу TLR 9, отмечены по динамике PASI в процессе лечения, возрасту пациента и стажу заболевания. При наличии генотипа TLR9 (A2848G) G/G динамика снижения PASI была менее выражена.

Таблица 5 – Субъективные меры вероятности, шансы и отношения правдоподобия для отдельных (субъективных) симптомов у пациентов с частыми рецидивами псориаза (более 2 в год)

Симптом, признак	$P(S D_1)$ частые рецидивы	$P(S D_2)$ нет частых рецидивов	Шанс для пациентов с частыми рецидивами	Отношение правдоподобия для пациентов с частыми рецидивами $L(D_1;S)$
Процесс распространенный	0,1163	0,2500	0,333	2,150
Давность заболевания - более 10 лет	0,516	0,166	0,476	3,108
Псориаз каплевидный	0,1250	0,0775	0,143	1,613
Псориаз с преимущественным поражением ладоней и подошв	0,0312	0,0111	0,032	2,811
Наличие псориаза у родственников	0,2813	0,3102	0,391	0,907
Сопутствующие заболевания аллергической природы	0,0625	0,0111	0,067	5,631
Возраст начала заболевания до 30 л.	0,6560	0,5820	1,907	1,127
Площадь поражения кожи 30% и более	0,5630	0,4790	1,288	1,175
TLR4 (C6898A): генотип C/C	0,6563	0,8116	1,910	0,809
TLR4 (C6898A): генотип C/A	0,3382	0,1829	0,511	1,849
TLR9 (A2848G): генотип A/A	0,2813	0,2382	0,391	1,181
TLR9 (A2848G): генотип A/G	0,6563	0,6510	1,910	1,008
TLR9 (A2848G): генотип G/G	0,0625	0,1108	0,067	0,564

Таблица 6 - Субъективные меры вероятности, шансы и отношения правдоподобия для отдельных (субъективных) симптомов у пациентов со слабым клиническим улучшением после лечения

Симптом, признак	P(S D ₁) слабое улучшение или нет эффекта от лечения	P(S D ₂) хороший эффект от лечения (контроль)	Шанс для пациентов со слабым улучше- нием	Отношение правдоподобия для пациентов со слабым улучшением L(D ₁ ;S)
Пол – мужской	0,8550	0,6670	5,897	1,282
Частота рецидивов в год не более 2	0,8760	0,8000	7,065	1,095
Давность заболевания - более 10 лет	0,5531	0,5067	1,238	1,092
Псориаз обыкновенный	0,9127	0,8800	10,458	1,037
Псориаз с преимущественным поражением ладоней и подошв	0,0218	0,0100	0,022	2,182
Наличие псориатической артропатии	0,2730	0,2930	0,376	0,932
Наличие склонности к экссудации псориатических элементов	0,0650	0,0530	0,070	1,226
Наличие псориаза у родственников	0,3200	0,2800	0,471	1,143
Сопутствующие заболевания аллергической природы	0,0218	0,0133	0,022	1,636
Площадь поражения кожи 30 и более %	0,4980	0,4800	0,992	1,038
TLR4 (C6898A): C/C	0,8036	0,7600	4,093	1,057
TLR4 (C6898A): C/A	0,1891	0,2337	0,233	0,809
TLR4 (C6898A): A/A	0,0073	0,0063	0,007	1,161
TLR9 (A2848G) A/A	0,2182	0,2933	0,279	0,744
TLR9 (A2848G) A/G	0,6509	0,6533	1,865	0,996
TLR9 (A2848G) G/G	0,1309	0,0533	0,151	2,455
PASI в первые сутки 20 и более	0,6440	0,5200	1,809	1,238

Результаты исследований являются основанием для дополнения алгоритма обследования и ведения пациентов с вульгарным псориазом. В частности, при первичном обращении пациента для уточнения прогноза течения заболевания и предупреждения низкой эффективности лечения целесообразно рекомендовать использование генотипирования для оценки имеющихся генотипов TLR4 (C6898A) и TLR9 (A2848G). Необходимо установление триггерных факторов,

индуцирующих развитие псориаза. К числу таких факторов относят стресс, стрептококковые инфекции, злоупотребление алкоголем, лекарственные средства (литий, бета-адреноблокаторы, хлорохин и др.).

Для объективизации прогнозирования течения псориатического процесса, выявления риска частого рецидивирования, риска снижения эффективности стандартной терапии целесообразно рассчитывать субъективные меры вероятностей, шансы и отношения правдоподобия для клинических симптомов и признаков у пациентов с вульгарным псориазом. На основе теоремы Байеса предложена формула для расчета риска этих клинических значимых явлений с учетом данных генотипирования. Проверка операционных характеристик данного теста показала, что диагностическая чувствительность алгоритма составила 88,9 % [80,4-97,4], специфичность – 78,6 % [67,5-89,6], диагностическая эффективность 83,6 % [73,7-93,6], прогностическая ценность положительного результата 80,0 % [69,2-90,8]. Реализовать алгоритм оценки риска удобнее в виде разработанного приложения к офисному пакету MS Excel для применения в практике в условиях поликлинического приема и в случае госпитализации пациента. В случае, если риск, рассчитанный с помощью программы, составляет 5 – 15 % (расценивается как «низкий»), рекомендуется диспансерное наблюдение. При величине риска свыше 15 % (характеризуется как «неприемлемый», или «высокий») рекомендуется диспансерное наблюдение, активные мероприятия по обследованию пациента с выявлением очагов хронической инфекции, назначение (по результатам обследования) дополнительного лечения.

Использование алгоритма начинается при первом обращении пациента, в дальнейшем с изменением задействованных в прогнозе клинико-анамнестических данных прогноз пересчитывается. Пациентам с наличием неблагоприятных клинико-анамнестических и генетических факторов показано противорецидивное лечение. Таким образом, внедрение программы позволит своевременно (еще на этапе первичного обращения и обследования) распознавать и проводить превентивные мероприятия у лиц с выявленным риском неблагоприятных клинических проявлений, объективно оценивать прогноз для лиц с вульгарным псориазом с учетом данных генотипирования, определять дальнейшую тактику ведения каждого конкретного пациента. Процесс принятия решения в отношении больного облегчается, а само решение при этом будет основано на достоверных

(доказательных) данных, а не только на опыте врача. Результаты генотипирования рекомендуется использовать при разработке индивидуальной программы противорецидивных мероприятий.

ВЫВОДЫ

1. Установлены связи признака «частое рецидивирование» с женским полом пациента (на 23,2 % чаще, относительный риск ОР = 3,28 [2,13 – 5,06]), наличием сопутствующих заболеваний аллергической природы (встречались на 5,2 % чаще, ОР = 3,47 [1,67 – 7,22]), преимущественно молодым возрастом ($r_s = -0,15$; $p = 0,002$). Возрастание риска недостаточной эффективности стандартной терапии коррелировало с возрастом начала заболевания (старше 40 лет) ($r_s = 0,12$; $p = 0,011$), а риск развития псориатической артропатии повышался с возрастом ($r_s = 0,37$; $p < 0,001$), стажем заболевания ($r_s = 0,35$; $p < 0,001$), площадью поражения кожи ($r_s = 0,16$; $p = 0,001$), наличием сопутствующих эндокринных (на 12,6 %) и инфекционных заболеваний (на 12,4 %). Наличие данных связей характеризовало особенности анамнеза и клинической картины вульгарного псориаза в наблюдаемой группе пациентов.

2. Частоты аллелей полиморфизмов генов TLRs у больных вульгарным псориазом составили: TLR4 (C6898A), аллель С 89,2 % $\pm$ 1,1 %, аллель А 10,8 % $\pm$ 1,1 %; TLR9 (A2848G), аллель А 77,4 % $\pm$ 1,4 %, аллель G 22,6 % $\pm$ 1,4 %. Структура пациентов с псориазом по генотипам была следующей: TLR4 (C6898A), C/C 78,8 % $\pm$ 2,0 %, C/A 20,7 % $\pm$ 2,0 %, A/A 0,5 % $\pm$ 0,3 %; TLR9 (A2848G) A/A 24,5 % $\pm$ 2,1 %, A/G 65,2 % $\pm$ 2,3 %, G/G 10,4 % $\pm$ 1,5 %. Данные показатели не отличались от таковых у лиц без псориаза.

3. У пациентов с наличием аллеля А гена TLR4 чаще встречались рецидивирование псориатического процесса (24,4 % $\pm$ 4,5 % и соответственно 12,5 % $\pm$ 1,8 % – без аллеля А; $p < 0,01$), формирование каплевидной формы псориаза (20,0 % $\pm$ 4,2 % и 5,4 % $\pm$ 1,2 %; $p < 0,001$), наличие псориаза у близких родственников пациента (37,8 % $\pm$ 5,1 % и 28,7 % $\pm$ 2,5%; $p = 0,063$), наличие сопутствующих инфекционных заболеваний (22,2 % $\pm$ 4,4 % и 12,5 % $\pm$ 1,8 %; $p < 0,05$), низкие показатели дерматологического индекса качества жизни (менее 10: 55,6 % $\pm$ 5,2 % и 38,2 % $\pm$ 2,7 %; $p < 0,01$).

4. У пациентов с наличием аллеля G гена TLR9 были более выражены следующие особенности клинической картины: снижение эффективности

стандартной терапии ($67,0 \% \pm 2,6 \%$, у лиц без аллеля G – $57,7 \% \pm 3,8 \%$; $p = 0,055$), наличие склонности к экссудации псориатических элементов ($8,1 \% \pm 1,5 \%$ и $0,0 \% \pm 1,0 \%$; $p < 0,001$), большая площадь поражения кожи (более 30 % – соответственно у $50,8 \% \pm 2,5 \%$ и $44,2 \% \pm 2,3 \%$; $p = 0,09$); больший показатель PASI до начала лечения (медианы соответственно 22,8 и 21,5; $p = 0,025$) и меньшая его динамика к снижению в период лечения, что необходимо учитывать в клинической практике.

5. Для прогнозирования частого рецидивирования псориатического процесса (более 2 в год) наиболее информативными признаками являются: наличие сопутствующих заболеваний аллергической природы (величина отношения правдоподобия $L(D1;S) = 5,6$); давность заболевания более 10 лет ($L(D1;S) = 3,1$); преимущественная локализация на ладонях и подошвах; ($L(D1;S) = 2,8$); распространенность псориатического процесса ($L(D1;S) = 2,1$); наличие генотипа C/A TLR4 (C6898A) ($L(D1;S) = 1,8$); каплевидный псориаз ($L(D1;S) = 1,6$); ДИКЖ менее 10 баллов ($L(D1;S) = 1,5$); наличие генотипа A/A TLR9 (A2848G) ($L(D1;S) = 1,2$); площадь поражения кожи более 30 % ($L(D1;S) = 1,2$); дебют заболевания до 30 лет ($L(D1;S) = 1,1$).

6. Риск снижения эффективности стандартной терапии у пациентов с вульгарным псориазом более выражен в случае наличия генотипа G/G TLR9 (A2848G) ($L(D1;S) = 2,5$); формы псориаза с преимущественным поражением ладоней и подошв ($L(D1;S) = 2,2$); наличии сопутствующих заболеваний аллергической природы ($L(D1;S) = 1,6$); мужского пола ($L(D1;S) = 1,3$); величине индекса PASI в первые сутки 20 и более ($L(D1;S) = 1,2$); наличии склонности к экссудации псориатических элементов ($L(D1;S) = 1,2$); наличии генотипа A/A TLR4 (C6898A) ($L(D1;S) = 1,2$) и наличии псориаза у родственников ($L(D1;S) = 1,1$).

7. Диагностическая чувствительность разработанного алгоритма формирования прогноза течения вульгарного псориаза с учетом данных генотипирования, построенного на основе байесовской модели и уравнений логистической регрессии, составила 88,9 % [80,4-97,4], диагностическая специфичность – 78,6 % [67,5-89,6], что дает основания врачу принимать более обоснованные решения по расширению или изменению терапии.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для объективизации прогнозирования течения псориатического процесса, выявления риска частого рецидивирования, риска низкой эффективности стандартной терапии целесообразно использовать генотипирование TLR4 (C6898A) и TLR9 (A2848G).

2. В условиях поликлинического приема и при госпитализации в ЛПУ дерматологического профиля целесообразно прогнозирование течения дерматоза и эффективности терапии с использованием разработанной компьютерной программы.

3. При величине риска частого рецидивирования, рассчитанного с помощью предложенного алгоритма до 15 % (расценивается как «низкий»), рекомендуется диспансерное наблюдение. При величине риска свыше 15 % («неприемлемый», или «высокий») рекомендуются диспансерное наблюдение, активные мероприятия по обследованию пациента с выявлением очагов хронической инфекции, назначение (по результатам обследования) дополнительного лечения.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Изучение роли полиморфизма генов толл-подобных рецепторов и цитокинов в патогенезе псориаза / В.А. Охлопков, О.В. Правдина, Е.А. Петрова и др. // **Омский научный вестник**. – №1 (108). – 2012. – С. 53 – 55.

2. Прогноз течения вульгарного псориаза с использованием данных генотипирования толл-подобных рецепторов 4-го и 9-го типов / В.А. Охлопков, А.И. Новиков, Е.А. Петрова и др. // **Клиническая дерматология и венерология**. – № 4. – 2013. – С. 16 – 21.

3. Полиморфизм генов toll-рецепторов 4-го и 9-го типов у больных псориазом / В.А. Охлопков, А.И. Новиков, Е.А. Петрова и др. // **Российский журнал кожных и венерических болезней**. – 2013. – №3. – С. 26 - 29.

4. Петрова Е.А. Клиническая характеристика и прогнозирование течения вульгарного псориаза у пациентов с полиморфизмом генов toll-рецепторов 4 и 9 типов / Е.А. Петрова, В.А. Охлопков // **Фундаментальные исследования**. – 2013. – №9. – Ч. 3. – С. 435-439.

5. Петрова Е.А. Подходы к прогнозированию клинически значимых состояний у пациентов с вульгарным псориазом с использованием данных генотипирования / Е.А. Петрова, В.А. Охлопков // **Современные проблемы**

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

БА	бронхиальная астма
БУЗ	бюджетное учреждение здравоохранения
ДИКЖ	дерматологический индекс качества жизни
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
ОНП (SNP)	однонуклеотидный полиморфизм
ПЦР	полимеразная цепная реакция
РАН	Российская академия наук
$L(D1;S)$	отношение правдоподобия, информативность признака при изучаемом состоянии
PASI	psoriasis area severity index, индекс площади и тяжести псориаза
$P(S D)$	условная вероятность симптома при определенном симптомокомплексе, патологии
TLR, TLRs	толл-подобные рецепторы