

ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННЫЙ ПОДХОД К ВЫБОРУ ТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ ПСОРИАЗОМ С УЧЕТОМ РЕЗУЛЬТАТОВ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Л.Ф. ЗНАМЕНСКАЯ, Н.В. ФРИГО, С.В. РОТАНОВ, И.А. ВОЛКОВ, В.А. ВОЛНУХИН, М.Б. ЖИЛОВА

Personalized approach to the selection of therapy for patients with psoriasis based on the results of molecular and genetic tests

L.F. ZNAMENSKAYA, N.V. FRIGO, S.V. ROTANOV, I.A. VOLKOV, V.A. VOLNUKHIN, M.B. ZHILOVA

Об авторах:

Л.Ф. Знаменская — заведующая отделом дерматологии ФГУ «ГНЦД Росмедтехнологий», г. Москва, к.м.н.

Н.В. Фриго — главный научный сотрудник отдела лабораторной диагностики ИППП и болезней кожи ФГУ «ГНЦД Росмедтехнологий», г. Москва, д.м.н.

С.В. Ротанов — ведущий научный сотрудник отделения лабораторной диагностики сифилиса отдела лабораторной диагностики ИППП и болезней кожи ФГУ «ГНЦД Росмедтехнологий», г. Москва, д.м.н., доцент

И.А. Волков — научный сотрудник отдел лабораторной диагностики ИППП и болезней кожи ФГУ «ГНЦД Росмедтехнологий», г. Москва, к.б.н.

В.А. Волнухин — ведущий научный сотрудник отделения по разработке физиотерапевтических методов лечения, ФГУ «ГНЦД Росмедтехнологий», Москва д.м.н.

М.Б. Жилова — заведующая отделением физиотерапии «ГНЦД Росмедтехнологий», г. Москва, к.м.н.

Приведены результаты исследований, направленных на выявление биомаркеров клинического ответа пациентов на лечение препаратом инфликсимаб и фототерапию с применением молекулярно-генетических технологий. Установлено, что предиктором выраженного клинического ответа на лечение больных псориазом инфликсимабом является гомозиготный TT генотип в позиции 676 шестого экзона гена TNF-RII; предикторами высокой эффективности и безопасности лечения больных псориазом методами УФ-терапии (ПУВА и УФВ 311 нм) являются: гетерозиготный GA генотип в позиции 19007 гена ERCC и гомозиготный CC генотип в позиции 27945 гена XPF.

Ключевые слова: псориаз, инфликсимаб, фототерапия, протеомный анализ, персонализация лечения, генотипы в позиции 676 шестого экзона гена TNF-RII, GA в позиции 19007 гена ERCC и CC в позиции 27945 гена XPF.

The article presents the results of tests aimed at revealing biomarkers of patients' clinical response to treatment with Infliximab and phototherapy with the use of molecular and genetic technologies. The authors revealed that the predictor of evident clinical response to treatment of psoriasis patients with Infliximab is the homozygous TT genotype at the 676 locus of exon 6 of the TNF-R-II gene; predictors of high efficacy and safety of treatment of psoriasis patients with Infliximab with the use of ultraviolet therapy (PUVA and mid-wavelength ultraviolet therapy (311 nm)) are: heterozygous GA genotype at the 19007 locus of the ERCC gene and homozygous CC genotype at the 27945 locus of the XPF gene.

Key words: psoriasis, infliximab, phototherapy, proteome analysis, personalization of treatment, genotypes at the 676 locus of exon 6 of the TNF-R-II gene, GA at the 19007 locus of the ERCC gene and CC at the 27945 locus of the XPF gene.

По современным представлениям псориаз относят к иммуноопосредованным заболеваниям. Иммунопатологические реакции при псориазе начинаются с активации клеток кожи (кератиноцитов, тучных клеток, фибробластов, дендритных клеток, эндотелиоцитов) и миграции антигенпредставляющих клеток в регионарные лимфатические узлы, где происходит презентация антигена Т-лимфоцитам и запускаются процессы активации и пролиферации CD4+ лимфоцитов. Активированные лимфоциты, имеющие на своей поверхности рецепторы кожно-

лимфоцитарного антигена (CD4+CLA+), направляются в кожу, где и выполняют свою эффекторную функцию. Все указанные клетки в активированном состоянии вырабатывают фактор некроза опухоли альфа (tumor necrosis factor, TNF- α) и другие цитокины, участвующие в формировании псориазных бляшек [1].

Поскольку иммунные механизмы занимают центральное место в патогенезе псориаза, все участники иммунопатологических процессов: активированные клетки кожи, иммунной системы, а также синтезируемые ими цитокины являются потенциальными мишенями для терапевтического воздействия, в частности назначения биологических препаратов, модифицирующих иммунный ответ.

В настоящее время для лечения больных все более широкое применение находят принципиально новые, так называемые биологические генно-инженерные препараты, которые дают достаточно быстрый терапевтический эффект, позволяют добиться длительной ремиссии, обеспечивая тем самым длительный контроль за заболеванием, предотвращают инвалидизацию у ранее некурабельных больных и в большинстве случаев отличаются хорошей переносимостью.

Создание биологических препаратов явилось значительным достижением в терапии воспалительных заболеваний. Особенностью этих лекарственных средств является избирательное влияние на специфические молекулярные структуры, ответственные за развитие болезни (в отличие от глюкокортикостероидов, цитостатиков и иммунодепрессантов, которые вызывают неселективное подавление иммунных реакций). Таким образом, прогресс биомедицинских технологий привел к эре целенаправленной (таргетной) терапии, которая позволяет эффективно устранить клинические проявления заболевания. Биологические генно-инженерные препараты составляют значительную и быстро растущую часть рынка фармацевтической продукции.

Однако необходимо учитывать, что в ряде случаев у части пациентов не удается достичь желаемого клинического эффекта; при этом у некоторых больных лечение генно-инженерными препаратами может сопровождаться непереносимостью или развитием побочных эффектов. Это обстоятельство с учетом высокой стоимости препаратов требует разработки новых молекулярно-биологических технологий, позволяющих прогнозировать терапевтическую эффективность данных лекарственных средств, определять показания и целесообразность их применения, что в свою очередь поможет снизить материальные затраты на терапию.

Установлено, что ответ организма на лечение генетически детерминирован, при этом доля влияния генетических факторов составляет от 20 до 95%. В отличие от многих других факторов наследственная детерминированность ответа остается постоянной в течение жизни.

Как известно, даже незначительные изменения в экспрессии генов способны оказывать влияние на течение метаболических процессов и, следовательно, на весь фенотип организма. Современные отрасли медико-биологических знаний, такие как фармакогеномика, транскриптомика, метаболомика, протеомика, обладают огромным потенциалом для разработки инновационных направлений для персонализации лекарственной терапии.

Предметом изучения фармакогеномики является полиморфизм генов, определяющий вариабельность ответа разных индивидуумов на прием лекарственного препарата [2]. Для диагностики заболеваний и выбора оптимального лечения в фармакогеноми-

ке используют различные биологические маркеры: различия в структуре нуклеиновых кислот ДНК и РНК, аллелей разных генов, полиморфизм единичных нуклеотидов [3].

Несмотря на то что внедрение фармакогеномики в повседневную практику представляется достаточно отдаленным будущим, при некоторых заболеваниях ее использование для персонализированного лечения стало уже реальностью. Так, с учетом фармакогеномных исследований в мировой практике успешно применяются противоопухолевые средства для лечения пациентов с хроническим миелоидным лейкозом и раком молочной железы, мишенью для которых являются молекулярные аномалии или видоизмененные гены, поддерживающие процесс опухолевого роста. Например, применение препарата герцептина для лечения рака молочной железы оказалось эффективным у женщин, опухолевые клетки которых несут рецепторы HER2. Действующее вещество герцептина — трастузумаб представляет собой моноклональные антитела к данным рецепторам. Целесообразность лечения пациента герцептином определяется по результатам соответствующего лабораторного исследования — Hercept-теста. Повышенная экспрессия рецепторов HER2 на клетках опухоли служит маркером, позволяющим предсказать эффективность терапии трастузумабом при его применении как в режиме монотерапии, так и в комбинации с химиопрепаратами [4].

Наиболее изученный в настоящее время генно-инженерный препарат инфликсимаб применяется в лечении пациентов не только с псориазом, но и с болезнью Крона, ревматоидным артритом и другими заболеваниями.

Данные современной литературы свидетельствуют, что низкая эффективность терапии инфликсимабом пациентов с болезнью Крона ассоциирована с полиморфизмом в позиции 676 шестого экзона гена рецептора второго типа фактора некроза опухоли альфа (*TNF-RII*, мутантный аллель 196Arg в белке) и в позиции 317 первого экзона гена рецептора первого типа фактора некроза опухоли (*TNF-RI*). Эффективность лечения инфликсимабом больных ревматоидным артритом наблюдалась при комбинации аллеля 676T гена *TNF-RII* и аллеля -857C гена *TNF-α* в гомозиготных состояниях [5–7]. Эти данные явились основанием для изучения генотипов рецепторов *TNF-α* у больных псориазом [8].

В связи с тем что механизм действия инфликсимаба затрагивает белковые взаимодействия, протеомные исследования также можно считать адекватным подходом к решению проблем, связанных с резистентностью к этому препарату. Исследования спектра белков кожи пациентов, отвечающих на инфликсимаб или резистентных к нему, могут выявить биомаркеры лекарственной устойчивости.

Протеомика является перспективным направлением, позволяющим расширить знания о моле-

кулярных механизмах патогенеза псориаза, обнаружить потенциальные мишени для воздействия лекарственных средств, а также биомаркеры для оценки индивидуального ответа пациента на лекарственные препараты и тем самым оптимизировать терапию заболевания.

Преимуществом протеомного профилирования по сравнению с исследованиями генома пациентов является то обстоятельство, что за конечную реализацию основных биохимических функций организма отвечают именно белки, и поэтому изменения в белковом профиле могут быть непосредственно связаны с патофизиологическими процессами. Кроме того, белки, модифицированные или меняющие концентрацию при болезни, являются потенциальными мишенями лекарственных препаратов [9]. Протеомика объединяет постгеномные технологии, направленные на инвентаризацию в биологическом образце белковых продуктов, совокупность которых составляет протеом. Чаще всего протеомные технологии направлены на сравнение протеомов биологических образцов в присутствии или в отсутствие какого-либо воздействия, стимула или заболевания. В этом случае белки, уровень экспрессии которых изменился при заболевании, могут считаться биомаркерами и являются кандидатами для дальнейшей валидации на предмет практического применения.

Протеомные технологии позволяют получать информацию сразу о больших совокупностях белков и сравнивать наблюдаемые изменения в различных выборках пациентов, например, у больных с выраженным и недостаточным ответом на лечение.

Число исследований с применением методов протеомики в изучении псориаза ограничено и посвящено в основном сопоставлению белковых профилей у больных и здоровых лиц. Так, В. Vonpekoh и соавт. (2007) изучали действие биологического препарата эфализумаб. В качестве субстрата для исследования использовались биоптаты кожи больных псориазом, полученные до и после лечения эфализумабом. В результате работы были продемонстрированы различия в концентрации ряда белков в образцах пациентов до и после воздействия данным препаратом, а также у больного с резистентностью к терапии эфализумабом [10, 11].

В настоящее время широкое применение в терапии больных псориазом как в Российской Федерации, так и за рубежом нашли методы фототерапии. Наиболее распространенными и эффективными методами ультрафиолетовой терапии псориаза являются фотохимиотерапия (ПУВА-терапия), заключающаяся в сочетании применении длинноволнового УФ-излучения (УФА, длина волны 320—400 нм) и фотосенсибилизаторов группы псораленов, и узкополосная средневолновая УФ-терапия с длиной волны 311 нм (УФВ-терапия 311 нм). Методы УФ-терапии высокоэффективны при лечении

больных псориазом, однако могут вызывать ряд побочных эффектов (зуд, сухость кожи, эритема, развитие новообразований и преждевременное старение кожи) [12]. Однако канцерогенный потенциал УФА- и УФВ-излучения, а также комбинированного их применения с фотосенсибилизаторами окончательно не выяснен. Одним из важнейших биологических механизмов защиты от развития рака кожи является система репарации повреждений ДНК, возникающих под влиянием УФ-излучения. Известно, что УФ-индуцированные повреждения ДНК эффективно устраняются системой нуклеотидной эксцизионной репарации (NER), в которую вовлечены более 20 генов [13].

Механизмы эксцизионной репарации реализуются с помощью набора ферментов, которые кодируются соответствующими генами (XP-гены). Мутации, или полиморфизмы, возникающие в XP-генах, потенциально могут явиться причиной нарушений в функционировании этой системы, способствовать развитию побочных реакций фототерапии и влиять на ее эффективность. Анализ изменчивости XP-генов у больных псориазом под воздействием УФ-излучения и отбор среди них клинически значимых мутаций (полиморфизмов), связанных с возникновением побочных эффектов и длительностью курса УФ-терапии, может явиться важным аспектом при прогнозировании ее эффективности и безопасности [14].

Выявление генетических особенностей больных с помощью молекулярно-генетических исследований позволяет врачу-клиницисту выбирать из существующего арсенала терапевтических средств наиболее эффективные и безопасные для данного пациента методы лечения, а также прогнозировать продолжительность их применения

В связи с развитием современного направления, связанного с персонализацией терапии больных дерматозами, в ГНЦД в течение 2008—2010 гг. проводились исследования, направленные на разработку и научное обоснование методов персонализации терапии больных псориазом на основе использования молекулярно-генетических технологий.

Научно-исследовательская работа выполнялась в соответствии с Государственными контрактами Федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007—2012 гг.» Федерального агентства по науке и инновациям Министерства образования в рамках двух грантов: «Разработка молекулярных методов повышения эффективности лечения псориаза препаратами биологических модификаторов иммунного ответа» (Государственный контракт 02.512.11.2199 от 12.05.2008 г.) и «Разработка метода оценки эффективности и безопасности ультрафиолетовой терапии больных псориазом на основе изучения мутаций генов, ассоциированных с эксци-

зионной системой репарации ДНК» (Государственный контракт 02.512.11.2323 от 05.05.2009 г.).

Целью исследований явилось изучение молекулярных маркеров эффективности и безопасности терапии больных псориазом биологическим модификатором иммунного ответа инфликсимабом (первый грант) и УФ-терапии различных спектральных диапазонов (второй грант) и разработка рекомендаций по персонализированной терапии больных псориазом.

Для обоснования выбора генов для исследования в рамках выполнения научно-исследовательской работы был осуществлен анализ мировой научной литературы. По итогам проведенного анализа у больных, получавших лечение инфликсимабом, для изучения были отобраны: ген *TNFA*, кодирующий цитокин *TNF- α* , являющийся молекулярной мишенью инфликсимаба [15], а также фрагменты двух генов, кодирующих рецепторы *TNF- α* : первый экзон *TNF-RI* и полиморфизм в позиции 676 шестого экзона гена *TNF-RII*, для которых, согласно данным литературы, установлены ассоциации с эффективностью терапии больных ревматоидным артритом и болезнью Крона [16].

Объектом изучения у больных, получавших УФ-терапию, стали фрагменты 5 генов, ассоциированных с эксцизионной системой репарации ДНК, в том числе: фрагмент 15-го экзона гена *XPC* с нуклеотидной заменой, ассоциированной с высоким риском образования рака кожи [17, 18]; 9-й и 23-й экзоны гена *XPB*, кодирующие функциональный домен DEAH-Box, ответственный за работу репарационного аппарата [19, 20], 11-й экзон гена *XPD*, кодирующий белок *XPD*, отвечающий за надрезание молекулы ДНК и удаление межнитевых поперечных сшивок молекулы ДНК в процессе эксцизионной репарации нуклеотидов [21, 22]; ген *XRCC1* (полиморфизм G28152A), кодирующий белок *XRCC1*, являющийся важным регулятором системы репарации ДНК [23], ген *ERCC1* (полиморфизм G19007A), белковый продукт которого принимает участие в работе эксцизионной репарации и отвечает за устранение повреждений ДНК, вызванных УФ-облучением [23]. Молекулярная структура генов изучалась методом секвенирования (изучение нуклеотидных последовательностей выбранных генов).

С целью поиска биомаркеров резистентности и чувствительности больных псориазом к терапии инфликсимабом был изучен протеомный состав биоптатов кожи. Протеомные исследования проводились с использованием двумерного электрофореза и жидкостной хроматографии с последующей тандемной масс-спектрометрией.

Отбор пациентов в исследование проводился в соответствии с критериями включения/исключения. Всего под наблюдением находились 115 больных со среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза, 28 из них получали лечение инфликсимабом,

84 — методами фототерапии (ПУВА-терапия или УФВ-терапия 311 нм). Трое пациентов, длительно получавших УФ-терапию, в связи с развитием серьезных побочных эффектов (крапчатой пигментации и плоскоклеточного рака кожи) были исключены из исследования. Для объективной характеристики клинической картины кожного процесса использовали индекс PASI (Psoriatic area and severity index), отражающий степень тяжести и распространенности кожных проявлений. Эффективность терапии оценивали на основании динамики индекса PASI после лечения (Δ PASI). Клинически значимым показателем высокой эффективности проводимой терапии считалось снижение индекса PASI на 75% и более; при лечении больных инфликсимабом эффективность терапии определяли перед каждой инфузией препарата.

Результаты изучения молекулярных маркеров эффективности и безопасности терапии больных псориазом биологическим модификатором иммунного ответа инфликсимабом. Лечение инфликсимабом было проведено 28 пациентам, 13 из которых к настоящему времени продолжают лечение этим препаратом по месту жительства, другие больные по разным причинам терапию прекратили. Терапию инфликсимабом проводили в течение 14 нед.; большинство наблюдавшихся пациентов получили по 4 инфузии препарата. Шести больным из-за побочных реакций, наблюдавшихся во время третьей инфузии препарата (снижение артериального давления, тошнота, рвота, боли в животе, крапивница, артралгия, гипертермическая реакция), и развития гнойно-воспалительных осложнений лечение инфликсимабом было прекращено. Одна больная отказалась от продолжения лечения после третьей инфузии из-за отсутствия клинического эффекта. В связи с недостаточным финансированием медицинской помощи в регионах 8 пациентов прекратили лечение после четвертой инфузии.

В результате лечения отмечалась значительная положительная динамика кожного процесса: до лечения среднее значение PASI составляло $30,90 \pm 2,89$; перед второй инфузией препарата — $20,53 \pm 2,62$, перед третьей — $9,33 \pm 2,29$, перед четвертой — $3,00 \pm 0,68$. В зависимости от динамики индекса PASI в процессе лечения (Δ PASI) все больные были разделены на две группы. Первую группу (15 человек) составили пациенты с выраженным положительным эффектом от лечения, у которых величина Δ PASI была $\geq 75\%$. Вторую группу (13 человек) составили пациенты с частичным или незначительным эффектом, у которых величина Δ PASI составила менее 75%.

Установлено, что генотип в положении 676 шестого экзона гена *TNF-RII* может быть ответственным за различный клинический ответ на инфликсимаб у пациентов с псориазом: частота встречаемости гомозиготного TT генотипа гена в положении 676

у больных с выраженным положительным ответом на инфликсимаб была достоверно выше ($p < 0,05$), чем у пациентов с недостаточно выраженным ответом на препарат или отсутствием ответа, в то время как частота встречаемости гомозиготного GG генотипа гена в положении 676 была достоверно выше ($p < 0,01$) у больных с недостаточным ответом на инфликсимаб в сравнении с больными с выраженным положительным ответом на данный препарат.

Значимым критерием, позволяющим прогнозировать эффективность терапии препаратом инфликсимаб, явился также уровень интерлейкина-10 (IL-10) в сыворотке крови больных псориазом, высокие значения которого до лечения ($> 2,7$ пг/мл) позволяют прогнозировать высокую эффективность лечения, а низкие значения ($< 1,0$ пг/мл) — слабую эффективность лечения препаратом. Данный результат был получен при использовании современной технологии xMAP, обладающей высокой аналитической чувствительностью. Уровень других цитокинов и рецепторов в биоптатах кожи (TNF- α , sTNF-RI и sTNF-RII) и сыворотке крови (TNF- α , IL-6, IL-8, IL-10) не имел прогностического значения в оценке эффективности и безопасности терапии больных инфликсимабом.

На основании полученных результатов нами разработаны молекулярно-генетические критерии прогнозирования терапевтической эффективности инфликсимаба при лечении больных псориазом: высокая эффективность лечения — при выявлении у пациентов гомозиготного генотипа TT в позиции 676 шестого экзона гена *TNF-RII* и высокого ($> 2,7$ пг/мл) содержания IL-10 в сыворотке крови больных; низкая эффективность лечения — при выявлении гомозиготного генотипа GG в позиции 676 шестого экзона гена *TNF-RII* и низкого ($< 1,0$ пг/мл) содержания IL-10 в сыворотке крови. По итогам проведенной работы оформлена заявка на патент «Способ прогнозирования эффективности лечения больных псориазом генно-инженерным препаратом инфликсимаб» и составлен проект технического задания на опытно-конструкторские работы по созданию набора реагентов для определения генотипа в позиции 676 шестого экзона гена *TNF-RII* у больных псориазом.

При исследовании протеомного профиля биоптатов пораженной кожи было идентифицировано 369 белков; при этом ни в одном случае их обнаружение не сопровождалось высокой степенью корреляции с ответом на лечение инфликсимабом. В отношении 9 идентифицированных белков была установлена средняя степени корреляция с эффективностью терапии ($\gamma = 0,47$), в том числе 2 белка (S100-A8 и глутатион-S-трансфераза P) — с выраженным положительным эффектом (Δ PASI $\geq 75\%$), а 7 белков (кератин II типа цитоскелетный 5, кератин II типа цитоскелетный 80, гистон H1.3, аполипопротеин A-I, пероксиредоксин-2, АТФ-зависимая ДНК-

хеликаза 2, субъединица 1, неохарактеризованный белок C17orf68) — с недостаточным эффектом (при динамике PASI менее 75%). Данные, полученные в настоящем исследовании, являются пилотными, создающими предпосылки для направленного поиска белков-предикторов терапевтического ответа на лечение больных псориазом препаратом инфликсимаб.

Результаты разработки метода оценки эффективности и безопасности УФ-терапии больных псориазом на основе изучения мутаций генов, ассоциированных с эксцизионной системой репарации ДНК. Объектом исследования в процессе выполнения научно-исследовательской работы явились 87 больных со среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза, в том числе пациенты, ранее не получавшие методы фототерапии ($n = 24$) и получившие в течение жизни более 3 курсов фототерапии ($n = 63$). Лечение больным проводилось с использованием УФ-излучения разных спектральных диапазонов (ПУВА-терапия и УФВ-терапия 311 нм). В зависимости от эффективности фототерапии больные были разделены на две группы: 69 пациентов, у которых величина Δ PASI была $\geq 75\%$, и 15 — с динамикой индекса PASI $< 75\%$. Группы больных не различались по типам кожи, а также значению индекса PASI до лечения ($18,5 \pm 1,07$ и $29,5 \pm 4,37$ соответственно; $p = 0,050$), величина индекса PASI после лечения составляла соответственно $3,7 \pm 2,05$ и $18,2 \pm 3,95$ при $p < 0,001$.

В результате исследований установлено, что УФ-терапия (как ПУВА-терапия, так и узкополосная фототерапия 311 нм) не вызывала появления клинически значимых мутаций в генах, ассоциированных с эксцизионной системой репарации ДНК. Об этом свидетельствовало отсутствие различий генотипов пациентов до и после лечения, а также отсутствие достоверных различий в частоте выявляемых полиморфизмов между группами больных, не получавших ранее УФ-терапию и получивших 3 курса УФ-терапии и более. Вместе с тем был обнаружен ряд ассоциаций между частотой выявления полиморфизмов ряда генов (XPF, ERCC1, XPD) и выраженностью терапевтического ответа больных на УФ-терапию и развитием осложнений, в том числе:

- ассоциация между частотой распространенности гомозиготного CC генотипа гена XPF в позиции 27945 и клиническим ответом на УФ-терапию (частота регистрации указанного генотипа у больных с выраженным терапевтическим эффектом была достоверно выше, чем у пациентов с незначительным или частичным терапевтическим эффектом, у которых этот генотип не встречался), что указывало на роль данного генотипа как вероятного предиктора выраженного терапевтического ответа больных псориазом на УФ-терапию;

- ассоциация между частотой распространенности гетерозиготного GA генотипа гена *ERCC1* в позиции 19007 и клиническим ответом на УФ-терапию (частота регистрации у этого генотипа у больных с выраженным терапевтическим эффектом была достоверно выше, чем у пациентов с незначительным или частичным терапевтическим эффектом, у которых данный генотип не встречался), что указывало на роль данного генотипа как вероятного предиктора выраженного терапевтического ответа больных псориазом на УФ-терапию;
- ассоциация между частотой распространенности гомозиготного CC генотипа гена *XPF* в позиции 27945 и развитием фототоксической эритемы в процессе УФ-терапии: нуклеотидная замена T > C в позиции 27945 гена *XPF* регистрировалась значительно реже у пациентов, у которых фототоксическая эритема развилась в процессе проведения курса УФ-терапии, по сравнению с пациентами, у которых фототоксические реакции не наблюдались, что может свидетельствовать о возможной протективной роли полиморфизма T>C в позиции 27945 гена *XPF* в развитии фототоксических реакций при проведении больным псориазом курса УФ-терапии и учитываться при выборе стратегии лечения;
- ассоциация между частотой распространенности гетерозиготного генотипа AC в положении 35931 гена *XPB* и развитием гиперпигментации в результате УФ-терапии: у пациентов с гиперпигментацией, возникшей в течение жизни на фоне фототерапии, была выявлена достоверно более высокая частота встречаемости гетерозиготного генотипа AC в положении 35931 гена *XPB* в сравнении с пациентами, у которых данное осложнение не отмечалось, что может свидетельствовать о генетической предрасположенности лиц с указанным генотипом к развитию гиперпигментации и о нецелесообразности проведения им длительной фототерапии.

На основании результатов изучения ассоциаций генов эксцизионной системы репарации ДНК с эффективностью фототерапии и развивающимися в процессе терапии осложнениями разработан метод прогнозирования эффективности и безопасности лечения больных псориазом УФ-излучением различных спектральных диапазонов путем определения молекулярного состава образца цельной крови больного псориазом до начала лечения. На основании применения данного метода при выявлении гомозиготного CC генотипа в положении 27945 гена *XPF* и гетерозиготного GA генотипа в положении 19007 гена *ERCC1* прогнозируют высокую клиническую эффективность и безопасность УФ-терапии (отсутствие раннего осложнения УФ-терапии — фототоксической эритемы).

Настоящее исследование явилось первым в России опытом разработки подходов к персонализации лечения пациентов с тяжелыми и среднетяжелыми формами псориаза путем реализации достижений молекулярной медицины и прежде всего молекулярной генетики с использованием высокоэффективных технологий. «Инструментом» персонализированного подхода к выбору метода лечения были определены результаты исследования генетических биомаркеров, позволяющих прогнозировать клинический эффект назначаемой терапии. При планировании терапии генно-инженерным препаратом инфликсимаб таким биомаркером явился генотип в позиции 676 шестого экзона гена *TNF-RII* (выраженный положительный ответ на лечение наблюдается у больных с гомозиготным генотипом TT). Для больных, которым планируется проведение УФ-терапии, целесообразно исследование генов *XPF* и *ERCC1*, ассоциированных с эксцизионной системой репарации ДНК (выраженный положительный ответ на лечение отмечается у больных с гетерозиготным GA генотипом в позиции 19007 гена *ERCC*; выраженный положительный ответ на лечение и протективное действие в отношении развития фототоксической эритемы отмечают у больных с гомозиготным CC генотипом в позиции 27945 гена *XPF*).

Установленные взаимосвязи генетических особенностей больных псориазом и результатов применения высокоэффективных терапевтических технологий позволяют дерматовенерологу целенаправленно выбирать наиболее эффективные и безопасные методы терапии пациентов с тяжелыми и среднетяжелыми формами заболевания.

Разработанный персонализированный подход к терапии больных псориазом генно-инженерным препаратом инфликсимабом и методами фототерапии (ПУВА-терапии и УФВ-терапии 311 нм) направлен на повышение качества оказания медицинской помощи населению, снижение частоты развития побочных реакций лечения, а также оптимизацию материальных затрат на дорогостоящие лечебные средства.

Литература

1. Jariwala S.P. The role of dendritic cells in the immunopathogenesis of psoriasis. *Arch Dermatol Res* 2007 Oct; 299(8): 359–66.
2. Mahlknecht U., Voelter-Mahlknecht S. Pharmacogenomics: questions and concerns. *Curr Med Res Opin* 2005; 21(7): 1041–1047.
3. Global Technology Center, Health Research Institute. Personalized Medicine. The Emerging Pharmacogenomics Revolution. Pricewaterhouse Coopers, February, 2005.
4. Sadee W. Pharmacogenomics. *BMJ* 1999; 319: 1286.
5. Mascheretti S., Hampe J., Kuhbacher T. et al. Pharmacogenetic investigation of the TNF/TNF-receptor system in patients with chronic active Crohn's disease treated with infliximab. *Pharmacogenomics J* 2002; 2 (2): 127–136.
6. Matsukura H., Ikeda S., Yoshimura N. et al. Genetic polymorphisms of TNF receptor superfamily 1A and 1B (TNFRSF1A and TNFRSF1B) affect responses to infliximab in Crohn's disease patients in Japan. *Aliment Pharmacol Ther* 2008, Jan 28.

7. Shetty A., Forbes A. Pharmacogenomics of response to anti-tumor necrosis factor therapy in patients with Crohn's disease. *Am J Pharmacogenomics* 2002; 2 (4): 215–221.
8. Кубанова А.А., Лесная И.Н., Фриго Н.В., Каганова Н.Л., Знаменская Л.Ф., Кубанов А.А. и др. Молекулярные маркеры в прогнозировании клинической эффективности инфликсимаба у больных псориазом. *Вестн. дерматол.* 2010; 1: 57–66.
9. Omenn G.S. Strategies for plasma proteomic profiling of cancers. *Proteomics*. 2006; 6: 5662–5673.
10. Bonnekoh B., Bockelmann R., Pommer A.J. et al. The CD11a binding site of efalizumab in psoriatic skin tissue as analyzed by Multi-Epitope Ligand Cartography robot technology. Introduction of a novel biological drug-binding biochip assay. *Skin Pharmacol Physiol* 2007; 20: 96–111.
11. Bonnekoh B., Pommer A.J., Bockelmann R. et al. Topo-proteomic in situ analysis of psoriatic plaque under efalizumab treatment. *Skin Pharmacol Physiol* 2007; 20: 237–252.
12. Tabenkin H., Tamir A., Sperber A.D. et al. A case-control study of malignant melanoma in Israeli Kibbutzin. *Isr Med Assoc J* 1999; 1: 154–157.
13. Qiao Y, Spitz M.R., Guo Z. Rapid assessment of repair of ultraviolet DNA damage with a modified host-cell reactivation assay using a luciferase reporter gene and correlation with polymorphisms of DNA repair genes in normal human lymphocytes. *Mutat Res* 2002; 509: 165–174.
14. Жилова М.Б., Каганова Н.Л., Фриго Н.В., Знаменская Л.Ф. и др. Выбор генов, ассоциированных с эксцизионной системой репарации ДНК. Разработка протокола исследования для изучения прогнозирования эффективности и безопасности ультрафиолетовой терапии больных псориазом. *Вестн. дерматол.* 2009; 6: 59–66.
15. Saraceno R., Schipani C., Mazzotta A. et al. Effect of anti-tumor necrosis factor- α therapies on body mass index in patients with psoriasis. *Pharmacological Research*. 2008 (Apr); 57 (4): 290–295.
16. Hajeer A.H., Hutchinson I.V. TNF- α gene polymorphism: Clinical and biological implications. *Microscopy Research and Technique*. Special Issue: Biology of Tumor Necrosis Factor α . 2000; 50 (3): 216–228.
17. Zhang D., Chen C., Fu X. et al. A meta-analysis of DNA repair gene XPC polymorphisms and cancer risk. *J Hum Genet*. 2008; 53(1): 18–33.
18. Qiu L, Wang Z, Shi X, Wang Z. Associations between XPC polymorphisms and risk of cancers: A meta-analysis. *Eur J Cancer* 200; 44(15): 2241–53.
19. Baccarelli A., Calista D., Minghetti P. XPD gene polymorphism and host characteristics in the association with cutaneous malignant melanoma risk. *Br J Cancer* 2004; 90: 497–502.
20. Lehmann A.R. The xeroderma pigmentosum group D (XPD) gene: one gene, two functions, three diseases. *Genes Dev* 2001; 15: 15–23.
21. Hoeijmakers J.H.J., Wood R. D. Xeroderma pigmentosum group F caused by a defect in a structure-specific DNA repair endonuclease. *Cell* 1996; 86: 811–822.
22. Sijbers A.M., van Voorst V.P.C., Snoek J.W. et al. Homozygous R788W point mutation in the XPF gene of a patient with xeroderma pigmentosum and late-onset neurologic disease. *J. Invest. Dermatol.* 1998; 110: 832–836.
23. Povey J.E., Darakhshan F, Robertson K. et al. Melton DNA repair gene polymorphisms and genetic predisposition to cutaneous melanoma. *Carcinogenesis* 2007; 28 (5) 1087–1093.