

УДК 577.214

# Изучение молекулярных механизмов патогенеза иммуноопосредованных воспалительных заболеваний на примере псориаза

Э.С. Пирузян<sup>1\*</sup>, В.В. Соболев<sup>1</sup>, Р.М. Абдеев<sup>2</sup>, А.Д. Золотаренко<sup>1</sup>, А.А. Николаев<sup>1</sup>,  
М.К. Саркисова<sup>1</sup>, М.Е. Саутин<sup>1</sup>, А.А. Ишкин<sup>1</sup>, Ан.Л. Пирузян<sup>2</sup>, С.А. Ильина<sup>2</sup>,  
И.М. Корсунская<sup>2</sup>, О.Ю. Рахимова<sup>3</sup>, С.А. Брускин<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, 119991, Москва, ул. Губкина, 3

<sup>2</sup> Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, 119991, Москва, ул. Косыгина, 4

<sup>3</sup> Городская клиническая больница № 24 Департамента здравоохранения г.Москвы, 127006, Москва, ул. Писцовая, 10

\*E-mail: eleopiru@vigg.ru

**РЕФЕРАТ** На примере псориаза приведены результаты биоинформационного, молекулярно-генетического и протеомного анализа путей патогенеза иммуноопосредованных воспалительных заболеваний. Идентифицированы общие клеточные процессы, характерные для патогенеза псориаза и болезни Крона. Обсуждается возможность новых подходов к лечению иммуноопосредованных воспалительных заболеваний.

**Ключевые слова:** псориаз, иммуноопосредованные воспалительные заболевания, экспрессия генов, протеомный анализ, сетевые взаимодействия генов, биоинформационный анализ.

## ВВЕДЕНИЕ

Псориаз (*Psoriasis vulgaris*, OMIM 177900) – хроническое воспалительное, рецидивирующее, иммуноопосредованное заболевание кожи с вовлечением в процесс ряда органов и систем. Псориаз является сложной генетически обусловленной патологией, в проявлении которой задействованы большие группы генов [1].

Основной клинической симптоматикой псориаза является появление четко разграниченных эритематозных бляшек, покрытых серебристо-белыми чешуйками. Пораженная кожа характеризуется эпидермальной гиперплазией и воспалением вследствие гиперпролиферации и ненормальной дифференцировки кератиноцитов, а также инфильтрации антигенпрезентирующих клеток, активации Т-хелперных клеток и освобождения провоспалительных цитокинов [1, 2]. Визуально «непораженная» (unaffected) или «невовлеченная» (uninvolved) псориазическая кожа морфологически и гистологически бессимптомна. Однако профили генной экспрессии свидетельствуют о существенных изменениях как в пораженной, так и в «непораженной» коже больного псориазом по сравнению с кожей здорового человека [3].

Полагают, что мультигенная природа псориаза связана с наличием локусов, чувствительных к проявлению за-

болевания, обозначаемых как PSORS1-PSORS9 (Psoriasis Susceptibility), расположенных, по крайней мере, на 9 хромосомах. В пределах каждой из этих областей картирован целый ряд генов-кандидатов на участие в патологическом процессе [4–6]. Кроме этого, на развитие различных форм псориаза возможно влияние еще ряда геномных локусов [7–9]. По данным на 2008 г. гены – кандидаты на развитие псориазического процесса локализованы на 10 локусах (PSORS1-PSORS10) [10]. Строгую генетическую основу наследования псориаза подтверждают результаты семейного и близнецового анализа – высокие значения наследуемости псориаза (до 80 %) и повышенная конкордантность у монозиготных близнецов (около 70 %) по сравнению с дизиготными (до 30 %) [8]. Однако, как и любое другое многофакторное заболевание, псориаз обуславливается не только генетической предрасположенностью, но и влиянием внешних факторов. Многие факторы внешней среды играют существенную роль в патофизиологии псориаза, являясь триггерами развития заболевания у генетически чувствительных (или предрасположенных) к нему индивидуумов. Провоцирующими агентами могут быть механические воздействия, травматические повреждения кожи, которые могут привести к эффекту Кебнера (возникновению очагов псориаза на месте повреждения эпидермиса), хирургиче-

ские вмешательства, УФ-облучение, повышенный индекс массы тела, избыточное употребление алкоголя и курение; различного рода стрессовые факторы, включая физиологические, холодовые и психоэмоциональные стрессы [6].

Роль инфекционной этиологии в запуске развития псориаза хорошо известна в случаях бактериальных, вирусных и грибковых инфекций [11, 12]. Лекарственные препараты, например, β-блокаторы [13], ингибиторы ангиотензин-конвертирующего фермента [14], антималярийные препараты [15] и литий [16], также могут провоцировать развитие заболевания. Подсчитано, что эмоциональные стрессы являются триггерами псориаза у 23 % пациентов; лекарственные препараты – у 16 %; физические травмы (феномен Кебнера) – у 43 %, инфекции в целом – у 14 % [17]. Остальные 4 %, возможно, составляют другие триггерные факторы.

Таким образом, причина псориаза остается до сегодняшнего дня неизвестной, но очевидно, что это заболевание является результатом комбинированного взаимодействия генетических факторов, факторов окружающей среды и индивидуальных особенностей индивида (подверженность психоэмоциональным стрессам, вредные привычки и т.д.). Профилирование генной экспрессии при псориазе свидетельствует о том, что псориаз является иммуноопосредованным воспалительным заболеванием, при котором дисбаланс в эпидермальной клеточной структуре, росте и дифференцировке клеток возникает из-за молекулярных стрессовых сигналов, инициирующих искаженные иммунные ответы [3].

Изучение молекулярных механизмов развития псориазического процесса проводится нами на клиническом, биоинформационном, молекулярно-генетическом и протеомном уровнях с учетом этнической компоненты у больных псориазом и результатов сравнительного анализа молекулярно-генетических основ его развития с патогенетическими путями других заболеваний многофакторной природы, в частности болезни Крона и атеросклероза.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Забор биоптатов кожи больных псориазом *Psoriasis vulgaris* (раннего типа) из пораженного и непораженного участков кожи проводили под местной анестезией с помощью дер-

матологического пробойника (4 мм). Пациенты не получали какой-либо системной или PUVA/UV терапии в течение одного месяца до взятия биопсии кожи (табл. 1). Биопсии из непораженных участков кожи брали на расстоянии около 3 см от пораженной кожи [3, 18, 19]. Исследование одобрено Локальным комитетом по этике при Институте общей генетики РАН и соответствует принципам, изложенным в декларации Хельсинкского соглашения.

Для оценки состояния псориаза использовали Индекс охвата и тяжести псориаза PASI (Psoriasis Area and Severity Index). При его расчете для каждой части тела вычисляется локальный PASI = Доля × Охват × (Краснота + Шелушение + Толщина). Суммарный итоговый PASI равен сумме локальных и может изменяться в диапазоне от 0 до 72. Максимальное значение индекса PASI в данной группе составило 11.4, минимальное 1.8, т.е. все больные отнеслись к группе с легким течением заболевания. Наличие или отсутствие сопутствующего псориазу псориазического артрита обозначено в графе PsA (табл. 1).

Забор атеросклеротических аутопсий проводили из постмортального материала. Для этого из брюшной аорты с признаками атеросклероза, из бляшек в стадии атероматоза выделяли интимальный слой. Аутопсии из визуально здоровой части сосуда в долипидной стадии извлекались по той же схеме. Забор производился у пациентов, проходивших лечение по различным диагнозам (табл. 2).

**Выделение РНК** из биопсий проводили с помощью набора компании Qiagen по протоколу производителя. Для очистки препаратов РНК от примесей ДНК проводили обработку ДНазой Qiagen®.

**Обратную транскрипцию** проводили с помощью обратной транскриптазы M-MLV (Promega) по протоколу производителя.

**ПЦР в реальном времени** проводили с использованием меченных флуоресцентными агентами олигонуклеотидных проб. Реакцию проводили с использованием реактивов компании «Евроген». Праймеры и пробы были синтезированы фирмой «ДНК-Синтез». Экспрессию генов-мишеней нормализовали на ген домашнего хозяйства GAPDH. Для анализа результатов использовались данные реакции ПЦР со следующими параметрами: эффективность реакции не менее 95 %; коэффициент корреляции не менее 0.99; наклон кривой (slope)  $-3.4 \pm 0.2$ . Обработку результатов полимеразной цепной реакции проводили методом  $2^{-\Delta\Delta CT}$ , согласно [20].

Для изучения **протеомных профилей** использовались биоптаты пораженной и визуально непораженной кожи больных псориазом. Экстрагированные белки изучали методом двумерного электрофореза. Пятна на геле были визуализированы при помощи окрашивания серебром. Изображения анализировали с использованием программы Melanie III (GeneBio, Switzerland). Идентификацию белков проводили при помощи методов MALDI-TOF масс-спектрометрии и nanoLC-MS/MS масс-спектрометрии в Протеомном центре Института биомедицинской химии РАН.

**Для биоинформационных исследований** мы использовали базу данных GEO DataSets (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>), в которой в виде электронных таблиц собраны результаты экспериментов по оценке уровня экспрессии

Таблица 1. Информация о пациентах

	Пол	Возраст	Тип псориаза	PASI	PsA	Наследственность
1	М	22	<i>P. vulgaris</i>	4.0	нет	Отрицает
2	М	36	<i>P. vulgaris</i>	7.2	нет	Псориаз у отца
3	М	23	<i>P. vulgaris</i>	1.8	нет	Псориаз у брата и отца
4	М	51	<i>P. vulgaris</i>	9.4	нет	Псориаз у матери
5	М	38	<i>P. vulgaris</i>	2.1	нет	Отрицает
6	М	57	<i>P. vulgaris</i>	4.2	нет	Псориаз у отца
7	М	51	<i>P. vulgaris</i>	2.1	нет	Отрицает
8	М	40	<i>P. vulgaris</i>	2.8	нет	Псориаз у отца
9	М	34	<i>P. vulgaris</i>	3.2	нет	Псориаз у матери
10	М	49	<i>P. vulgaris</i>	11.4	нет	Отрицает

Таблица 2. Патологоанатомический диагноз пациентов с атеросклерозом сосудов

Пациент	Возраст	Пол	Диагноз
1	80	ж	Дисциркуляторная энцефалопатия. Атрофия больших полушарий головного мозга, внутренняя гидроцефалия. Стенозирующий атеросклероз артерий головного мозга. Сахарный диабет 2-го типа. Склероз, липоматоз поджелудочной железы.
2	70	ж	Ишемический инфаркт правой височной доли головного мозга. Атеросклероз артерий головного мозга со стенозом просвета до 50 %. Сахарный диабет 2-го типа. Артериальная гипертония. Атеросклероз артерий сердца со стенозом просвета до 75 %.
3	77	м	Инфаркт головного мозга в бассейне средней мозговой артерии. Сахарный диабет 2-го типа. Гипертоническая болезнь 3 ст. Ишемическая болезнь сердца: атеросклеротический кардиосклероз.
4	67	ж	Хроническая язва желудка. Хроническая язва 12-перстной кишки. Диффузный мелкоочаговый кардиосклероз. Постинфарктный кардиосклероз. Атеросклероз коронарных артерий сердца со стенозом просвета на 70 %. Сахарный диабет 2-го типа. Атеросклероз мозговых артерий со стенозом их просвета на 30 %.
5	75	ж	Рак молочной железы. Флеботромбоз вен правой голени. Тромбоэмболия легочной артерии. Дисциркуляторная энцефалопатия. Атеросклероз артерий мозга со стенозом просвета на 25 %. Хронический обструктивный бронхит, диффузный сетчатый пневмосклероз, обструктивная эмфизема легких. Атрофический гастрит.
6	80	м	Крупноочаговый, постинфарктный кардиосклероз, атеросклероз коронарных артерий сердца со стенозом просвета на 75 %. Вторичная артериальная гипертония. Двусторонний пиелонефритический нефросклероз. Хроническое венозное полнокровие. Хроническая почечная недостаточность.
7	64	м	Хроническая алкогольная интоксикация. Двусторонняя нижнедолевая очагово-сливная бронхопневмония. Ишемическая болезнь сердца: атеросклероз коронарных сосудов со стенозом просвета на 40 %.
8	87	м	Крупноочаговый постинфарктный кардиосклероз. Атеросклероз коронарных артерий сердца со стенозом просвета на 50 %. Гипертония малого круга кровообращения по смешанному типу. Атеросклероз артерий головного мозга со стенозом просвета на 30–50 %.

генов на биочипах. В качестве инструмента обработки табличных данных использовали программный продукт MetaCore® компании GeneGo Inc (США). Расклад процессов по приоритетам производится программой MetaCore® исходя из того, что чем меньше значение p-value, тем больше вероятность того, что гены, попавшие в конкретный процесс, включены туда не случайно. Изначально порог для p-value мы выставляли равный 0.05.

**РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ**

**РОЛЬ ЭТНИЧЕСКОЙ КОМПОНЕНТЫ В ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К РАЗВИТИЮ ПСОРИАЗА**

В течение последних десятилетий накоплены многочисленные свидетельства того, что наряду с индивидуальными различиями в метаболизме лекарственных препаратов и в реакциях на лекарство – как в отношении их терапевтического эффекта, так и в отношении отрицательных реакций на них организма, имеются индивидуальные отличия и в предрасположенности к определенным заболеваниям. Изучение факторов индивидуальной предрасположенности человека к различным заболеваниям и индивидуального ответа пациента на применение лекарственных препаратов с учетом этнической принадлежности индивидуума было начато в 70-е годы прошлого столетия под руководством академика Л.А. Пирузяна [21, 22]. Так, отмечалась необходимость учета кинетики метаболических превращений при взаимодействии химических соединений с биообъектами [23].

Этническая компонента также играет существенную роль в развитии сложных заболеваний, в частности псориаза. В среднем 2–3 % популяции людей во всем мире болеют псориазом, однако эти данные колеблются в широком диапазоне в зависимости от различных стран, географических регионов и этнической принадлежности больных псориа-

зом [24]. Отмечается значительная географическая вариативность в частоте заболеваемости псориазом (рис. 1) [25]. Существенная разница в распространенности псориаза, в частности в Азии и в Европе, свидетельствует о четкой этнической компоненте в развитии псориаза. Таким образом, четкая регионально-этническая дифференциация в уровнях заболеваемости псориазом является очевидной [7, 8, 26]. Сведения о популяционных частотах псориаза, тем не менее, противоречивы, что может быть обусловлено применением в разных странах различных методов оценки. Для устранения противоречий в исследовании и стандартизации методов оценки распространенности заболевания, а также получения унифицированных характеристик нами была предложена Индивидуальная информационная карта (ИИК), включающая более 50 параметров [27, 28]. Проведенный нами анализ генетической структуры дагестанской выборки по данным ИИК и родословных семей показал высокую обособленность этнических групп, что является

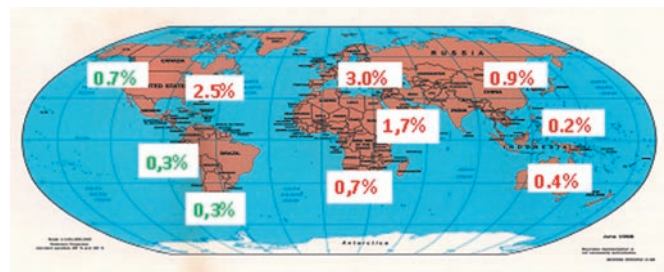


Рис. 1. Распределение частот заболеваемости псориазом в различных регионах мира [24, 25]. Зеленым цветом отмечены проценты заболеваемости псориазом у аборигенов



Рис. 2. Список 40 наиболее измененных процессов при псориазе (по мере убывания значимости) в коже больных псориазом в сравнении с кожей здоровых волонтеров (А) и 20 наиболее измененных процессов в пораженной коже больных псориазом в сравнении с неповрежденной кожей (Б)

результатом ограниченного числа межэтнических браков. Следствием этого является более высокая степень эндогамии, которая приводит к увеличению степени гомозиготности в популяции. Кроме этого, изученные родословные включают достаточное число многолетних семей для того, чтобы проследить за родственной структурой отдельной семьи (3–4 поколения). Так, у аварцев, даргинцев, лезгинов, лакцев, азербайджанцев и ногайцев среднее число детей в семьях составляет 3 ребенка, у кумыков, табасаранцев и агулов – 4, а в семьях русских – 1. Важно также отметить, что несколько поколений большинства семей проживают в территориальной близости и, следовательно, находятся в одних и тех же условиях внешней среды.

Проведенное нами исследование показало существенные различия в наличии осложнений и длительности заболевания в зависимости от типа псориаза (Тип I – ранний, Тип II – поздний) в различных этнических группах Дагестана. Полученные данные показали важную роль этнической компоненты в наследуемости такой сложной патологии, как псориаз, а также продемонстрировали возможность использовать ИИК и модельную популяцию Дагестана для изучения типа наследования при псориазе с учетом этнической компоненты [29].

Анализ генов предрасположенности к развитию псориаза в республиках Башкортостан и Хакасия на выборке пациентов русской, татарской, башкирской и хакасской

принадлежности показал, что полиморфные локусы генов HLA-C и HCR являются основными маркерами предрасположенности к псориазу в изученных регионах вне зависимости от формы заболевания и этнической принадлежности [30].

Для исследования распространенности псориаза и изучения профилей генной экспрессии существенным является выравнивание данных по всем изучаемым параметрам. Так, некоторые различия между профилями генной экспрессии с помощью Affimetrix-чипов у японских пациентов с псориазом и результатами, полученными тем же методом у четырех других исследовательских групп, указывают на вариабельность генной экспрессии у индивидуальных пациентов на основе их возраста, этнической принадлежности, пола и воздействия факторов окружающей среды [3, 31, 32, 33, 34].

**АНАЛИЗ ДАННЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ МИКРОЧИПОВ**

В настоящее время стали широко использоваться программные продукты, позволяющие концентрировать и систематизировать большие объемы генетической информации, выстраивать гипотезы генных сетевых взаимодействий. Одной из таких программ является программный продукт MetaCore® компании GeneGo Inc. (США). В результате информационного анализа экспрессии около 12 000 генов на биологических микрочипах с помощью программы MetaCore® нами было установлено, что число генов, изменивших свою экспрессию более чем в 1.5 раза при псориазе, составляет 7563 [35]. На рис. 2 нами представлены списки измененных при псориазе процессов. Основными измененными процессами в коже при псориазе являются иммунный ответ, клеточный цикл, воспаление, пролиферация и др. В процессе развития заболевания задействован ряд иммунных клеток, таких как Т-лимфоциты (Th1, Th17), антигенпрезентирующие клетки (АРС) – дендритные клетки, клетки Лангерханса, макрофаги и естественные киллеры (NK) [36]. Передачу сигнала между собой они осуществляют благодаря сигнальным молекулам – цитокинам и непосредственным взаимодействием различных рецепторов с лигандами. Так, например, рецепторы TLR (Toll-like receptors) принадлежат к семейству рецепторов, вызывающих иммунный ответ на микробное или вирусное воздействие. Эти рецепторы экспрессируются не только на иммунных клетках (моноциты, макрофаги, дендритные клетки и гранулоциты), но и на клетках эпителия дыхательных путей и кожи – важных участках взаимодействия хозяина и патогена [37]. В семейство TLR входят 11 рецепторов, а их лигандами являются липопротеины, одноцепочечная или двуцепочечная РНК, липополисахариды, флагеллин, неметилированная ДНК [38]. После стимуляции данных рецепторов они активируют целый комплекс сигнальных каскадов, в состав которых входят три группы белков: NF- $\kappa$ B/Rel, IRF и MAPK – ERK, JNK и p38. Так, MAPK индуцирует экспрессию семейства AP-1 транскрипционных факторов, таких как Fos и Jun, и активирует транскрипционную активность белков комплекса AP-1, запуская различные процессы, приводящие к воспалению [39]. В результате индуцируется экспрессия провоспалительных цитокинов (IL-6, IFN- $\gamma$ , IL-12 и TNF- $\alpha$ ), а так-

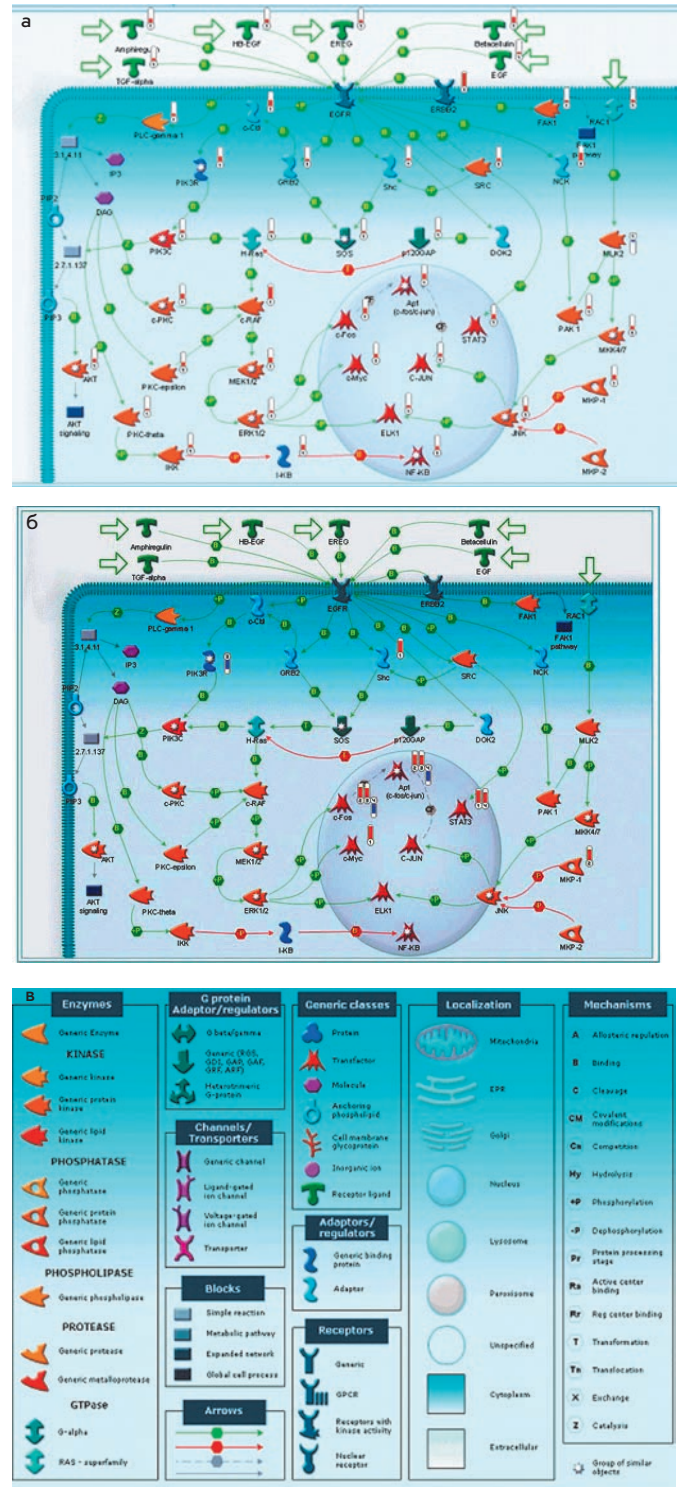


Рис. 3. Путь передачи сигнала от EGF (Epidermal Growth Factor) к AP-1 и изменение экспрессии некоторых генов, отвечающих за данный процесс в коже при псориазе (а – в коже больных по сравнению с кожей здоровых волонтеров, б – в пораженной коже по сравнению с непораженной кожей больных псориазом, в – условные обозначения). На картах используются также обозначения, характеризующие степень изменения уровня экспрессии того или иного гена: столбик вниз (↓) обозначает уменьшение экспрессии, столбик вверх (↑) – увеличение экспрессии

же костимулирующих молекул, таких как CD80 и CD86, активирующих иммунный ответ [40, 41]. Учитывая то, что вирусы и бактерии являются одними из основных триггеров псориаза, эти рецепторы выполняют важную роль в инициации заболевания [38, 42].

Из всего обширного семейства рецепторов хемокинов при псориазе высокий уровень экспрессии отмечен у CCR4, CCR5, CCR6, CCR10, CXCR3. Хемокины принадлежат к группе провоспалительных цитокинов и обеспечивают приток клеток Th1 в участки воспаления [43]. Экспрессия рецепторов CCR4 и CCR10 характерна для CD4+ и CD8+ Т-клеток памяти с CLA+ фенотипом (cutaneous lymphocyte antigen), который определяет миграцию лимфоцитов в лимфатические узлы [44]. У рецептора CCR4 лиганд CCL17 экспрессируется на эндотелии сосудов дермы и совместно с лигандом CCL27 обеспечивает миграцию лейкоцитов в кожу [45]. У рецептора CCR10 повышение конститутивного уровня экспрессии лиганда CCL27 отмечено на кератиноцитах под воздействием провоспалительных цитокинов IL-1 и TNF-α. Таким образом, взаимодействие CCR10–CCL27 вовлекает Т-клетки в воспалительный процесс кожи [46]. Механизм регуляции экспрессии хемокинов можно наблюдать на примере CXCL16 при атеросклерозе. Экспрессия данного хемокина индуцируется посредством IL-18 через сигнальный путь: MyD88 → IRAK1-IRAK4-

TRAF6 (tumor necrosis factor receptor – associated factor 6) → c-Src → PI3K → Akt → JNK → AP-1 [47].

Как видно из этих данных, общим звеном сигнальных путей регуляции TLR-рецепторов и хемокинов является транскрипционный фактор AP-1.

### АНАЛИЗ СЕТЕВЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ ГЕНОВ ПРИ ПСОРИАЗЕ

Особенности взаимодействий различных генов при псориазе можно рассматривать на примере передачи сигнала от рецептора EGF (Epidermal Growth Factor) внутрь клетки, что продемонстрировано на рис. 3, а и б. Из обоих рисунков видно, что гены, кодирующие транскрипционные факторы, такие как c-Fos, c-Myc, c-Jun и ELK1, активируются путем передачи сигнала от EGFR через GRB2 и Shc к SOS, а затем через путь h-Ras → c-RAF → MEK1/2 → ERK1/2 → транскрипционные факторы. Несмотря на то что уровень экспрессии изменяется только у некоторых генов, кодирующих соответствующие медиаторы сигнала (GRB2, Shc, SOS, h-Ras, c-RAF, MEK1/2), как, например, у c-RAF (рис. 3, а), экспрессия транскрипционных факторов c-Fos, c-Myc, c-Jun, ELK1 и STAT3 оказалась значительно выше в случае пораженной кожи по сравнению с непораженной кожей больных псориазом, чем в коже больных по сравнению с кожей здоровых волонтеров [35].

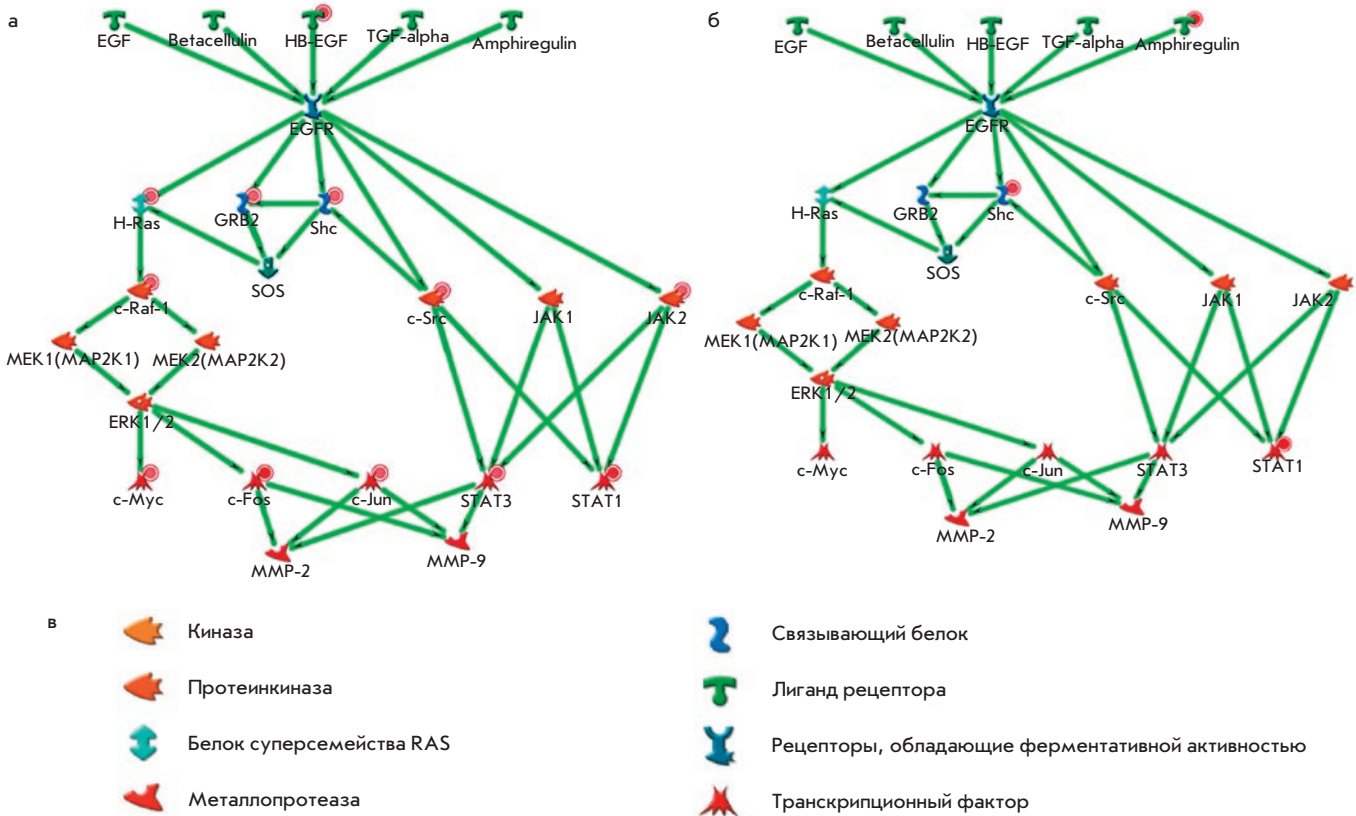


Рис. 4. Степень изменения экспрессии генов сигнального пути EGF в коже больных псориазом: а) по сравнению с кожей здоровых людей; б) в пораженной коже по сравнению с фенотипически нормальной кожей тех же пациентов; в) условные обозначения. Повышенная экспрессия генов показана при помощи красных кружков возле символов объектов. Оттенок красного зависит от конкретного значения изменения уровня экспрессии (чем больше изменение, тем насыщеннее оттенок)

На рис. 4 отражена степень изменения экспрессии генов сигнального пути EGF в коже больных псориазом. Мы сравнили пороговое изменение (Fold Change) генной экспрессии в псориазических бляшках относительно нормальной кожи (рис. 4, а) и фенотипически здоровой кожи некоторых пациентов (рис. 4, б). Пороговое изменение экспрессии (FC) установлено как 2. Рисунки 4, а и 4, б демонстрируют некоторые сетевые белок-белковые взаимодействия, входящие в состав сигнальных путей, запускаемых эпидермальным фактором роста (EGF) и его лигандами. Зеленые стрелки показывают последовательную активизацию белковых взаимодействий, происходящую либо через связывание, либо через фосфорилирование. Можно отметить, что экспрессия некоторых EGFR-лигандов повышена в коже, пораженной псориазом (HВ-EGF и амфирегулин – увеличение экспрессии в 5.77 и 4.96 раза соответственно). Рисунок 4, а показывает, что каждый ген, кодирующий каждый из белков сигнального пути, апрегулирован, например, с-Raf киназа с FC = 4.46 и с-Src с FC = 3.96. Более того, сами по себе транскрипционные факторы оказались значительно апрегулированы. Так, экспрессия с-Мус повышена в 6, 15; с-Jun – в 3.35; STAT1 – в 17; STAT3 – в 6.1 и с-Jun – в 34 раза. Общая картина изменений генной экспрессии на рис. 4, б является наиболее четкой – показана только апрегуляция STAT3 в 8.6 раза. Вышеупомянутый рисунок позволяет заключить, что клетки, задействованные в патологическом процессе, характеризуются значительным изменением в уровне генной экспрессии, вовлекая в процесс множество молекулярных путей и связанных с ними транскрипционных факторов. Сверхэкспрессия последних заслуживает особого внимания ввиду того, что в нормальном состоянии транскрипционные факторы не проявляют таких резких изменений уровня экспрессии. Невовлеченная, т.е. визуально нормальная, кожа больных псориазом находится в промежуточном состоянии между нормой (кожей здорового индивида) и состоянием воспаления (псориазическая бляшка), поскольку разница между образцами пораженной кожи и визуально непораженной

кожи больного псориазом хотя и является существенной, но намного менее выраженной, чем различия между пораженной кожей больного псориазом и кожей здорового индивида.

Проанализировав карты генных взаимодействий при псориазе, мы пришли к выводу, что во всех исследуемых процессах в качестве основных транскрипционных факторов, изменивших свою экспрессию при псориазе, присутствуют только компоненты транскрипционного фактора AP-1 и транскрипционного фактора NF-kB. Фактор NF-kB, как известно, активируется при иммунных ответах. В данной работе мы рассматривали роль компонентов именно транскрипционного фактора AP-1 [48].

### ТРАНСКРИПЦИОННЫЙ АНАЛИЗ

Большой интерес для нас представляло сравнение уровней экспрессии генов в пораженной части кожи больных псориазом по отношению к экспрессии тех же генов в визуально непораженной части кожи, находящейся на расстоянии не более 3 см от пораженной кожи одного и того же больного псориазом. Такое сравнение, принятое и в ряде зарубежных лабораторий [3, 18, 19], позволяет максимально исключить влияние побочных факторов на чистоту эксперимента. Для всех генов был установлен порог изменения уровней экспрессии, равный 2. На основании произведенного нами анализа литературных данных и баз данных мы идентифицировали ряд генов, которые представляются важными для экспериментального исследования. В число этих генов входят гены, кодирующие транскрипционный фактор AP-1 (C-JUN, JUNB, JUND, C-FOS, FOSB, FRA-1, FRA-2 и др.).

Используя метод полимеразной цепной реакции в реальном времени, нами был проведен анализ уровня экспрессии 12 генов в пораженной псориазом коже в сравнении с визуально непораженной у одного и того же пациента (данные не приведены). Результаты проведенного эксперимента показали, что практически у всех больных экспрессия более чем в 2 раза в пораженной псориазом коже в сравнении с визуально непораженной стабильно увеличена только

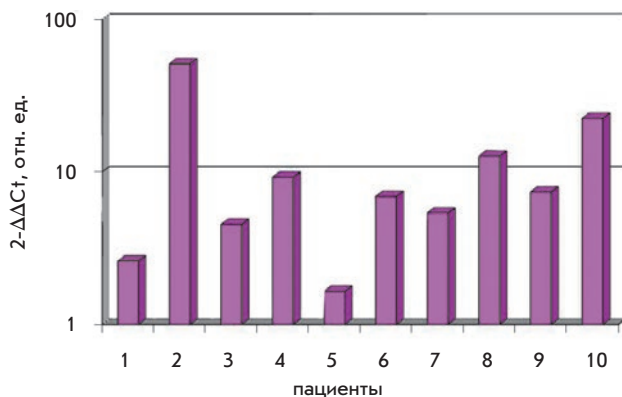


Рис. 5. Изменение экспрессии гена FRA-1 в пораженной псориазом коже относительно визуально непораженной кожи одних и тех же пациентов (1 – отсутствие изменения экспрессии; < 1 – уменьшение экспрессии в пораженных образцах; > 1 – увеличение экспрессии в пораженных образцах)

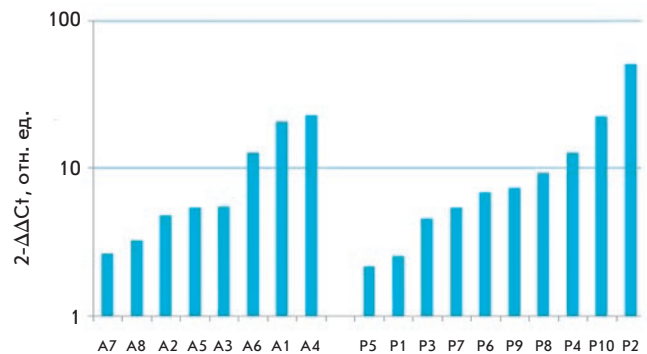


Рис. 6. Изменение экспрессии гена FRA-1 в пораженных атеросклерозом сосудах по сравнению с визуально непораженными (A1–A8), и пораженной псориазом коже по сравнению с непораженной (P1–P10): 1 – отсутствие изменения экспрессии; < 1 – уменьшение экспрессии в пораженных образцах; > 1 – увеличение экспрессии в пораженных образцах

у гена *FRA-1* (рис. 5). Все остальные гены отличались разнонаправленной экспрессией.

Для сравнения нами был проведен анализ уровня экспрессии гена *FRA-1* в образцах, полученных от больных атеросклерозом.

Результаты, полученные с помощью метода ПЦР в реальном времени, свидетельствуют об увеличении экспрессии гена *FRA-1* у всех пациентов, как в пораженной атеросклерозом части сосуда, так и в пораженной псориазом коже (рис. 6). В свою очередь, патологическая активация экспрессии гена *FRA-1*, как компонента транскрипционного комплекса AP-1, может приводить к усилению экспрессии гена *IL-2* и последующей стимуляции аутореактивных цитотоксических Т-лимфоцитов, повышению выработки провоспалительных цитокинов и аутоантител и, в конечном итоге, усиливать развитие местного воспалительного процесса, что является общей чертой в формировании и развитии псориазических и атеросклеротических бляшек [49, 50]. Повышенная экспрессия гена *FRA-1* также может приводить к усилению экспрессии гена *IL-18*, который, в свою очередь, индуцирует транскрипцию и экспрессию MMP9 (matrix metalloproteinase 9) и стимулирует продукцию активной формы MMP9. Данная стимуляция приводит к усилению миграции гладкомышечных клеток, что является одним из важных этапов образования атеросклеротической бляшки [51]. Таким образом, можно сделать вывод о возможной ключевой роли гена *FRA-1* в патогенезе псориаза и атеросклероза.

Таким образом, с помощью биоинформационных исследований были проанализированы генные сети псориаза на наличие относительно замкнутых подпроцессов и выделены основные гены – регуляторы транскрипционного комплекса AP-1. Транскрипционное профилирование псориаза на основе РНК 6 отобранных для анализа генов (*C-JUN*, *JUNB*, *JUND*, *C-FOS*, *FRA-1* и *FRA-2*) показало разнона-

правленную разрегулированность этих генов при псориазе (данные не приведены). Среди изученных генов, кодирующих белки комплекса AP-1, ген *FRA-1* выделяется устойчивой сверхэкспрессией (что отражено на рис. 5). Более того, изменение экспрессии этого гена до и после лечения выявило четкую тенденцию к снижению уровня мРНК этого гена после успешного лечения, что совпадало с положительной динамикой состояния больных (данные не представлены). Следовательно, транскрипционная активность гена *FRA-1* комплекса AP-1 может являться своего рода индикатором эффективности лечения на молекулярном уровне.

### ПРОТЕОМНЫЙ АНАЛИЗ

Конечной целью наших исследований является изучение изменений в метаболических путях, которые приводят к патогенезу, поскольку именно на этом уровне могут быть выявлены новые мишени для лекарственных препаратов и разработаны новые подходы к фармакотерапии.

С помощью протеомного анализа образцов псориазической кожи нами были установлены 10 маркерных белков, присутствующих только в пораженной коже и отсутствующих в непораженной коже у больных псориазом (табл. 3) [52]. Среди них наибольший интерес представляли белки нескольких семейств.

S100 семейство включает в себя не менее 13 белков, а гены, их кодирующие, локализованы в виде кластера на 1-й хромосоме (1q21), что совпадает с локусом чувствительности к псориазу PSORS4. Известно, что этот белок сильно экспрессирован в пораженной псориазом коже, однако в настоящее время этот ген не рассматривается как ген – кандидат на развитие псориазического процесса. Точная функция белка на данный момент неизвестна.

Белки SCCA1 и SCCA2 принадлежат к семейству ингибиторов сериновых протеиназ. В работе [53] показано,

Таблица 3. Идентифицированные белки, различающиеся в пораженной и непораженной псориазом коже [52]

Пятно, номер	Название белка	%Vol	
		Пораженная кожа	Непораженная кожа
1	Кератин 17	1.97 ± 0.92	0.18 ± 0.06
	Кератин 14		
	Кератин 16		
2	SCCA2/SCCA1	0.28 ± 0.09	0.066 ± 0.02
3	Антиген чешуйчатой клеточной карциномы; SCC antigen	0.35 ± 0.18	0.03 ± 0.01
4	Енолаза 1	0.87 ± 0.22	0.40 ± 0.14
5	Супероксиддисмутаза [Mn]	0.22 ± 0.03	0.11 ± 0.02
6	Галлектин 7; Gal-7	1.14 ± 0.41	0.19 ± 0.01
7	Белок S100-A9	0.54 ± 0.03	0
8	Белок S100-A9	0.15 ± 0.07	0
9	Белок S100-A7 (Псориазин, Psoriasin)	0.51 ± 0.16	0
10	Белок S100-A7 (Псориазин, Psoriasin)	1.36 ± 0.37	0.02 ± 0.03



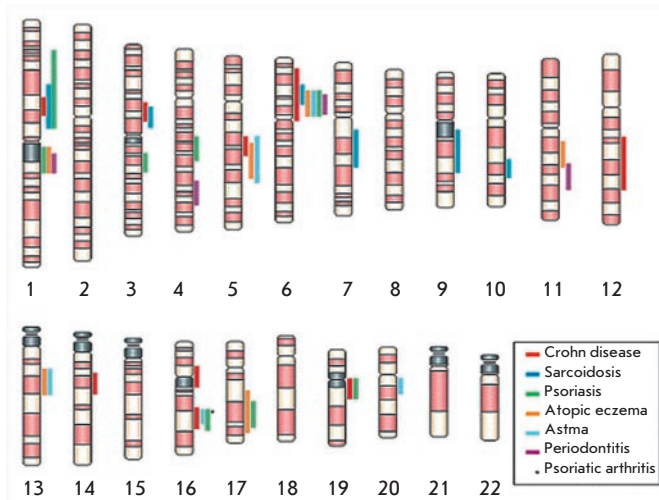


Рис. 7. Локализация групп сцепления генов, ответственных за развитие ряда воспалительных барьерных заболеваний, на различных участках хромосом [55]

что белок SCCA1 экспрессируется в нормальной коже, при псориазе его экспрессия увеличена приблизительно в 2 раза.

Белок SCCA2 в норме не обнаруживается, а при псориазе наблюдается его экспрессия на уровне, сопоставимом с уровнем экспрессии SCCA1.

Данные белки могут рассматриваться как потенциальные мишени действия фармакологических препаратов при лечении псориаза [54]

### СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПАТОГЕНЕЗА ПРИ ПСОРИАЗЕ И БОЛЕЗНИ КРОНА

Многоплановое изучение молекулярных механизмов патогенеза при псориазе может рассматриваться как модель для изучения путей патогенеза других иммуноопосредованных воспалительных заболеваний (IMID – Immune-mediated inflammatory disorders), которые характеризуются острыми или хроническими воспалительными состояниями, чаще несколькими. Наиболее распространенными IMID-фенотипами являются болезнь Крона, анкилозный спондилит, ревматоидный артрит, псориаз, увеит, псориазический артрит. Центральную роль в этих, на первый взгляд различных, заболеваниях играет цитокин TNF- $\alpha$  (фактор некроза опухолей альфа). На рис. 7 приведена локализация групп сцепления генов, ответственных за развитие этих заболеваний [55]. Болезнь Крона и язвенный колит являются хроническими, рецидивирующими заболеваниями, обозначаемыми как воспалительные кишечные заболевания IBD (inflammatory bowel disease). Результаты близнецовых исследований и увеличение частоты воспалительных заболеваний кишечника уже в первой степени родства пробандов указывают на генетическую основу этих заболеваний. Стремительное возрастание количества таких больных в Европе и Северной Америке, начиная со

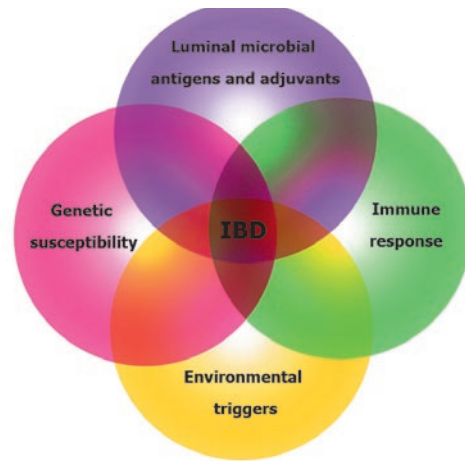


Рис. 8. Взаимодействие различных факторов (генетическая предрасположенность, антигены, иммунный ответ, факторы внешней среды), вызывающих хронический воспалительный процесс в кишечнике [56]

второй половины 20-го столетия, свидетельствует о сильном влиянии факторов внешней среды при относительно низком уровне конкордантности у монозиготных близнецов (~ 50 % для болезни Крона и 10 % для язвенного колита). Хотя работы на животных дают некоторые представления о патогенезе, этиология болезни Крона, тем не менее, остается загадкой [55, 56].

Наиболее широко распространенной гипотезой о патогенезе IBD является существование отягощенных T-клеточных иммунных ответов у генетически предрасположенных индивидов на определенные патогенные энтеробактерии и определенные факторы внешней среды, ускоряющие начало или реактивацию заболевания. На рис. 8 показано включение четырех отдельных компонентов, сочетание которых на различных этапах развития болезни необходимо для ее клинического проявления. Значительный вклад в расшифровку молекулярных механизмов патогенеза при болезни Крона, на наш взгляд, может внести сравнительное изучение генетических факторов, вовлеченных в патогенетические пути при псориазе и болезни Крона. Проведенный нами сравнительный биоинформационный анализ на основании обработки данных биологических микрочипов базы данных GEO Data Sets позволил составить общий список генов и измененных клеточных процессов для обоих заболеваний.

### ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНОВ, ИЗМЕНИВШИХ ЭКСПРЕССИЮ ПРИ ДВУХ ПАТОЛОГИЯХ – ПСОРИАЗЕ И БОЛЕЗНИ КРОНА

Наш анализ был направлен на выявление списков дифференциально экспрессированных генов в каждом наборе данных по отдельности и дальнейшее сравнение этих списков на системном уровне. Такой подход к анализу диктуется свойствами экспрессионных данных (высокий уровень шума, большой объем анализируемых данных)

Таблица 4. Список генов, общих для патогенеза псориаза и болезни Крона [56]

Ген	Идентификационный номер	Локализация	Ген	Идентификационный номер	Локализация
GNA15	2769	19p13.3	CBX3	11335	7p15.2
GPM6B	2824	Xp22.2	UGT1A6	54578	2q37
IFI44	10561	1p31.1	DEGS1	8560	1q42.11
OAS2	4939	12q24.2	PSME2	5721	14q11.2
FOXC1	2296	6p25	TRAK2	66008	2q33
ZNF207	7756	17q11.2	DNAJC7	7266	17q11.2
IFI35	3430	17q21	CSNK1D	1453	17q25
STAT3	6774	17q21.31	TRIM22	10346	11p15
TXNDC1	81542	14q22.1	IRF9	10379	14q11.2
MRPL9	65005	1q21	UBE2L6	9246	11q12
CASP4	837	11q22.2-q22.3	ETS2	2114	21q22.2
MECP2	4204	Xq28	QPCT	25797	2p22.2
LONRF1	91694	8p23.1	SFPQ	6421	1p34.3
CG018	90634	13q12-q13	UGT1A4	54657	2q37
VKORC1	79001	16p11.2	H2AFY	9555	5q31.3-q32
MIB1	57534	18q11.2	HMG1	3150	21q22.2
RFK	55312	9q21.13	CTSC	1075	11q14.1-q14.3
SOSTDC1	25928	7p21.1	SERPINB5	5268	18q21.3
KIAA1033	23325	12q24.11	IER2	9592	19p13.13
SYNCRIP	10492	6q14-q15	S100A8	6279	1q21
RARG	5916	12q13	ARMET	7873	3p21.1
DDOST	1650	1p36.1	FGFR2	2263	10q26
CDC42EP1	11135	22q13.1	RBPMS	11030	8p12-p11
S100A9	6280	1q21	JUNB	3726	19p13.2
PHGDH	26227	1p12			

и свойствами конкретных сетей данных, взятых для анализа (они выполнены на различных типах микрочипов, содержащих различное количество проб, и поэтому не могут сравниваться напрямую) [57].

Набор данных по **псориазу** исходно содержал информацию об уровне экспрессии 12 626 проб для восьми экспериментов (4 образца пораженной кожи и 4 образца здоровой кожи тех же пациентов). После отсева проб с плохо детектированной экспрессией размер данных сократился до 5076 проб. Размер списка проб со статистически значимыми отличиями в экспрессии между пораженной и здоровой тканью составил 410 проб при уровне значимости 0.1.

Набор данных по **болезни Крона** содержал информацию об уровне экспрессии 24 016 проб для 21 эксперимента (10 образцов эпителия кишечника здоровых индивидуумов и 11 образцов пораженного эпителия). Размер списка проб со статистически значимыми отличиями в экспрессии между пораженной и здоровой тканью составил 3850 проб при уровне значимости 0.1. Такое большое различие в размерах списков генов связано с тем, что алгоритм контроля уровня ошибок 1-го рода (FDR) зависит от размера входного набора. Чем больше генов в исходном списке, тем больше генов, при одинаковом распределении *p*-value, пройдут контроль FDR; в нашем случае число анализируемых проб в наборе данных по болезни Крона превосходит таковое для псориаза почти пятикратно.

Полученные списки дифференциально экспрессированных генов были загружены в MetaCore®. Поскольку микрочипы содержат пробы не только для генов, но и для большого количества EST с неопределенной функцией, на этом этапе размеры списка генов изменились за счет того, что не все пробы имеют соответствующий ген в базе данных MetaCore®, и за счет того, что некоторые пробы соответствуют более чем одному гену. Размер списков распознанных генов составил 425 генов для псориаза и 2033 для болезни Крона.

Размер пересечения этих списков генов оказался равным 49, что является достаточно значимым пересечением (*p*-value =  $4.94 \cdot 10^{-2}$ ). Оценка значимости производилась при помощи теста Фишера; за полную выборку генов принято множество из 9017 генов, присутствующих в обоих исследованных массивах данных (идентификация этого множества генов проводилась при помощи сопоставления полных списков генов для обоих микрочипов в MetaCore®). Списки генов с измененной экспрессией также были сокращены до подмножества генов, присутствующих в обоих массивах данных.

Таким образом, для дальнейшего анализа были выбраны именно эти 49 генов, представленных в *табл. 4*. Представляло интерес определить, с какими молекулярно-генетическими процессами в клетках ассоциированы «общие» гены псориаза и болезни Крона. С помощью про-

граммных методов MetaCore® в табл. 5 сведены наиболее вероятные клеточные процессы с участием генов, представленных в табл. 4. Процессы, представленные в табл. 5, можно подразделить на участвующие в воспалении и в регуляции клеточного цикла. Действительно, как при псориазе, так и при болезни Крона основным патологическим очагом является очаг воспаления. Клеточный цикл и апоптоз существенно нарушены при псориазе. Кератиноциты в очаге воспаления благодаря усиленной пролиферации не успевают уходить в апоптоз, формируя бляшки на коже. Подобные процессы происходят и в кишечнике пациентов с болезнью Крона.

**ДОКАЗАТЕЛЬНАЯ ФАРМАКОТЕРАПИЯ ПСОРИАЗА И ВОЗМОЖНЫЕ НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ЛЕЧЕНИЮ ИММУНОПОСРЕДОВАННЫХ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

Псориаз считается до настоящего времени рецидивирующим и неизлечимым заболеванием, лечение его направлено на увеличение периодов ремиссии и на снижение тяжести протекания болезни. Используемые препараты (циклоsporин, системные ретиноиды, фумараты) или малоэффективное лечение метотрексатом приводят лишь к временному улучшению состояния пациента. Тем не менее наметились новые подходы к лечению псориаза. Новые терапевтические агенты характеризуются более специфическим воздействием на определенные молекулы-мишени, являющиеся ключевыми факторами формирования патологических процессов при псориазе. К ним относятся модификаторы биологического ответа, такие, например, как алекапепт, эфализумаб, этарнецепт, инфликсимаб, адалимумаб, воздействующие на специфические молекулярные посредники, вовлеченные в иммунопатогенез псориаза (рецепторы и лиганды). Так, подавление активности TNF $\alpha$ , ключевого цитокина во врожденных иммунных ответах, в т.ч. и при псориазе, осуществляется тремя основными ингибиторами TNF $\alpha$  (алекапепт, этарнецепт и инфликсимаб). Этарнецепт представляет собой димерный белок, состоящий из лиганд-связывающего фрагмента рецептора TNF, связанного с Fc-фрагментом IgG1. Он связывает TNF и блокирует его взаимодействие с рецепторами на поверхности клеток, уменьшая воспалительный процесс. Инфликсимаб – человеческие моноклональные антитела к TNF $\alpha$ , связывающие и уменьшающие активность TNF $\alpha$ , что снижает выброс IL-1 и IL-6 [58]. Таким образом, новая генерация биологических подходов к лечению псориаза обозначается как адресное поражение мишеней, специфичных для опосредованных T-клетками патогенетических процессов.

Многочисленные примеры успешного лечения псориаза и псориатического артрита биомодификаторами приведены в ряде работ, начиная с 2001 г. [58, Abstract book of Third EAD International Spring Symposium, Sofia, 2005]. При болезни Крона уровень TNF $\alpha$  повышен в слизистых оболочках кишечника, поэтому ингибиторы TNF $\alpha$  применяются и при лечении данного заболевания. Такая монотерапия биомодификаторами применяется и для лечения спондилоартропатии, ревматоидного артрита [59, 60]. Тем не менее накапливаются сведения о парадоксальных побочных реакциях в ответ на анти-TNF $\alpha$  терапию, в част-

Таблица 5. Общие клеточные процессы, характерные для псориаза и болезни Крона [56]

Процессы	P-value
Воспаление: сигнальные пути интерферона	2.19E-03
Передача сигнала: сигнальные пути WNT	1.20E-02
Регуляция инициации трансляции	5.66E-02
Морфогенез кровеносных сосудов	9.76E-02
Репарация ДНК	1.17E-01
Воспаление: сигнальные пути амфотерина	1.19E-01
Протеолиз, обусловленный клеточным циклом и апоптозом	1.29E-01
Интерлейкиновая регуляция клеточного цикла в фазе G1-S	1.29E-01
Передача сигнала: сигнальные пути андрогенового рецептора	1.34E-01

ности, отмечается развитие псориатических пустулезных и эритематозных поражений на коже некоторых пациентов с болезнью Крона [60, 61, 62]. Поскольку точный механизм таких серьезных осложнений в ответ на анти-TNF $\alpha$  терапию остается неясным, необходимо дальнейшее накопление клинических данных и исследование такой ассоциации на молекулярно-генетическом уровне.

Итак, основной целью работ по расшифровке путей патогенеза иммуноопосредованных воспалительных заболеваний на молекулярном уровне становится выявление новых мишеней для фармакологического действия. Проводимое нами в настоящее время сравнительное изучение протеомных профилей пораженной псориазом кожи и пораженных болезнью Крона фрагментов кишечника позволит выявить основные общие потенциальные мишени для фармакотерапии и согласовать полученные данные с результатами проведенного нами мета-анализа путей развития этих двух иммуноопосредованных воспалительных заболеваний.

На примере псориаза показана необходимость интегрального подхода к расшифровке этапов патогенеза, заключающегося в анализе общеклинических, биоинформационных, метаболических и генетических данных, который будет способствовать разработке простых методов для индивидуальной характеристики патогенеза и выбору наиболее эффективной тактики фармакотерапии каждого индивидуума. Таким образом, псориаз, являясь типичным сложным заболеванием, может рассматриваться как адекватная модель для изучения механизмов патогенеза аналогичных по своей сложности и многофакторности социально-значимых заболеваний человека. ●

*Работа финансирована в рамках ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007-2012 годы» (ГК 02.512.11.2042), а также Президиумом Российской Академии наук в рамках Программы «Фундаментальные науки – медицине».*

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lowes M.A., Bowcock A.M., Krueger J.G. Pathogenesis and therapy of psoriasis. // *Nature*. 2007. V. 445 P. 866–873.
2. Bowcock A.M. and Krueger J.G. Getting under the skin: the immunogenetics of psoriasis. // *Nat. Rev. Immunol.* 2005. V. 5. P. 699–711.
3. Kulsky J.K., Kenworthy W., Bellgard M. et al. Gene expression profiling of Japanese psoriatic skin reveals an increased activity in molecular stress and immune response signals // *J. Mol. Med.* 2005. V. 85. P. 964–975.
4. Barker J. N. Genetic aspects of psoriasis. // *Clin. Exp. Dermatol.* 2001. V. 26. № 4. P. 321–5.
5. Prinz J.C. Psoriasis vulgaris—a sterile antibacterial skin reaction mediated by cross-reactive T cells? An immunological view of the pathophysiology of psoriasis. // *Clin. Exp. Dermatol.* 2001. V. 26. № 4. P. 326–32.
6. Bowcock A.M. and Cookson W.O. The genetics of psoriasis, psoriatic arthritis and atopic dermatitis. // *Hum. Mol. Genet.* 2004. V. 13. № 1. P. R43–55.
7. Asumalahti K., Veal C., Laitinen T. et al. Psoriasis Consortium. Coding haplotype analysis supports HCR as the putative susceptibility gene for psoriasis at the MHC PSORS1 locus. // *Hum. Mol. Genet.* 2002. V. 11. P. 589–597.
8. Sahoo G.S., Cork M.J., Patel R. et al. Genome-wide studies of psoriasis susceptibility loci: a review. // *Journal of Dermatological Science.* 2004. V. 35. P. 171–179.
9. Fun X., Yang S., Huang W. et al. Fine mapping of the psoriasis susceptibility locus PSORS1 support HLA-C as the susceptibility gene in the Han Chinese population. // *PLoS Genet.* 2008. V. 4. P. 1–10.
10. Duffin K.C., Chandran V., Krueger G.G. et al. Genetics of Psoriasis and Psoriatic Arthritis: update and future direction (GRAPPA 2007) // *J. Rheumatology.* 2008. V. 35. № 7. P. 1449–1453.
11. Duvic M., Johnson T.M., Rapini R.P. et al. Acquired immunodeficiency syndrome-associated psoriasis and Reiter's syndrome. // *Arch. Dermatol.* 1987. V. 123. P. 1622–1632.
12. Swerlick R.A., Cunningham M.W., Hall N.K. Monoclonal antibodies cross-reactive with group A streptococci and normal and psoriatic human skin. // *J. Invest. Dermatol.* 1986. V. 87. P. 367–371.
13. Gold M.H., Holy A.K., Roenigk H.H. Jr. Beta-blocking drugs and psoriasis. A review of cutaneous side effects and retrospective analysis of their effects on psoriasis. // *J. Am. Acad. Dermatol.* 1988. V. 19. P. 837–841.
14. Wolf R., Tamir A., Brenner S. Psoriasis related to angiotensin-converting enzyme inhibitors. // *Dermatologica.* 1990. V. 181. P. 51–53.
15. Baker H. Psoriasis – clinical features. // *Br. Med.* 1971. V. 3. P. 231–233.
16. Lazarus G.S., Gilgor R.S. Psoriasis, polymorphonuclear leukocytes, and lithium carbonate. An important clue. // *Arch. Dermatol.* 1979. V. 115. P. 1183–1184.
17. Asumalahti K. Molecular genetics of psoriasis. // *Helsinki university biomedical dissertation.* № 27. 2003.
18. Sonkoly E., Wei T., Janson P.C., Saaf A. et al. MicroRNAs: novel regulators involved in the pathogenesis of Psoriasis? // *PLoS ONE.* 2007. V. 2. № 7. P. 1–8.
19. Yao Y., Richman L., Morehouse C. et al. Type I Interferon: Potential Therapeutic Target for Psoriasis? // *PLoS One.* 2008. V. 3. № 7. e2737. P. 1–14
20. Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2<sup>-</sup>(Delta Delta C(T)) Method. // *Methods.* 2001. V. 25. № 4. P. 402–408.
21. Подымов В.К., Гладких С.П., Мыскин В.С., Пирузян Л.А. Полиморфизм по N-ацетилтрансферазе у больных красной волчанкой. // *Проблемы изыскания, исследования и производства новых лекарственных средств.* Швиеса, Каунас, 1979. С. 52–53.
22. Пирузян Л.А. Метаболический паспорт человека – основа новой стратегии в фармакологии. // *Вестник РАН.* 2004. Т. 74. С. 610–618.
23. Пирузян Л.А. О фармакологической метрологии. // *Изв. АН СССР. Сер. биол.* 1990. № 2. С. 302–303.
24. Gudjonsson J.E., Elder J.T. Psoriasis: epidemiology. // *Clinics in Dermatology.* 2007. V. 25. P. 535–546.
25. Пирузян А.Н., Абдеев Р.М., Саркисова М.К. Роль фармакогенетики и фармакогеномики в дерматологии. // *Клиническая дерматология и венерология.* 2005. № 3. С. 8–13.
26. Bowcock A.M. The genetics of psoriasis and autoimmunity. // *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 2005. V. 6. P. 93–122.
27. Пирузян А.Н. Докторская диссертация. 2005. С. 352.
28. Пирузян Л.А., Голденкова И.В., Корсунская И.М. и др. Научно обоснованные подходы к стандартизации ведения больных псориазом (обзор литературы). // *Проблемы стандартизации в здравоохранении.* 2006. № 6. С. 7–13.
29. Голденкова-Павлова И.В., Пирузян Э.С., Абдеев Р.М. и др. О необходимости популяционных исследований и учета этнической компоненты при изучении сложных генетически обусловленных патологий (на модели популяции Дагестана). // *Генетика.* 2006. Т. 42. № 8. С. 1137–1142.
30. Ахметова В.И., Галимова Э.С., Юсунбаев Б.Б., Хуснутдинова Э.К. Анализ генов предрасположенности к развитию псориаза в республиках Башкортостан и Хакасия. // *Медицинская генетика.* 2009. № 8. С. 29–35.
31. Bowcock A.M., Shanon W., Du F. et al. Insight into psoriasis and other inflammatory diseases from large scale gene expression studies. // *Hum. Mol. Genet.* 2001. V. 10. P. 1793–1805.
32. Oestreicher J.L., Walters I.B., Kikichi T. et al. Molecular classification of psoriasis disease-associated genes through pharmacogenomic expression profiling. // *Pharmacogenomics J.* 2001. V. 1. P. 272–287.
33. Nomura I., Gao B., Boguniewicz et al. Distinct pattern of gene expression in the skin lesions of atopic dermatitis and psoriasis: a gene microarray analysis. // *J. Allergy Clin. Immunol.* 2003. V. 112. P. 1195–1202.
34. Zhou X., Krueger J.G., Kao M.-C.J. et al. Novel mechanism of T-cell and dendritic cell activation revealed by profiling of psoriasis on the 63, 100-element oligonucleotide array. // *Physiol. Genomics.* 2003. V. 13. P. 69–78.
35. Пирузян Э.С., Никольская Т.А., Абдеев Р.М., Брускин С.А. Компоненты транскрипционного фактора AP-1 как гены-кандидаты, участвующие в развитии псориазического процесса. // *Молекулярная биология.* 2007. Т. 41. С. 1069–1080.
36. Sabat R., Philipp S., Höflich C., et al. Immunopathogenesis of psoriasis. // *Exp Dermatol.* 2007. V. 16. № 10. P. 779–98.
37. Medzhitov R., Preston-Hurlburt P., Janeway C.A. A human homologue of the Drosophila Toll protein signals activation of adaptive immunity. // *Nature.* 1997. V. 388. P. 394–397.
38. McInturf J.E., Modlin R.L., Kim J. The role of toll-like receptors in the pathogenesis and treatment of dermatological disease. // *J. Invest Dermatol.* 2005. V. 125. № 1. P. 1–8.
39. Hu X., Chen J., Wang Lu et al. Crosstalk among Jak-STAT, Toll-like receptor, and ITAM dependent pathways in macrophage activation. // *Journal of Leukocyte Biology.* 2007. V. 82. P. 237–243.
40. Schnare M., Barton G.M., Holt A.C. et al. // *Nat Immunol.* 2001. V.2. № 10. P. 947–950.
41. Schjette K.W., Thompson K.M., Nilsen N. et al. Cutting edge: link between innate and adaptive immunity: Toll-like receptor 2 internalizes antigen for presentation to CD4+T cells and could be an efficient vaccine target. // *J. Immunol.* 2003. V. 171. № 1. P. 32–36.
42. Perez-Lorenzo R., Zambrano-Zaragoza J.F., Moo-Castillo K. et al. IgG class antibodies to heat shockinduced streptococcal antigens in psoriatic patients. // *Int J. Dermatol.* 2003. V. 42. P. 110–115.
43. Krueger J.G. The immunologic basis for the treatment of psoriasis with new biologic agents. // *J. Am. Acad. Dermatol.* 2002. V. 46. № 1. P. 1–23.
44. Reiss Y., Proudfoot A.E., Power C.A. et al. CCR10 Ligand Cutaneous T Cell-attracting Chemokine (CTACK) in Lymphocyte Trafficking to Inflamed Skin. // *J. Exp. Med.* V. 194. № 10. 2001.
45. Lonsdorf A.S., Hwang S.T., Enk A.H. et al. Chemokine Receptors in T-Cell-Mediated Diseases of the Skin // *J. Invest. Dermatol.* 2009.
46. Honey B., Alenius H., Muller A. et al. CCL27–CCR10 interactions regulate T cell-mediated skin inflammation. // *Nat. Med.* 2002. V. 8. P. 157–65.
47. Chandrasekar B., Mummidi S., Valente A. et al. The Pro-atherogenic Cytokine Interleukin-18 Induces CXCL16 Expression in Rat Aortic Smooth Muscle Cells via MyD88, Interleukin-1 Receptor-associated Kinase, Tumor Necrosis Factor Receptor-associated Factor 6, c-Src, Phosphatidylinositol 3-Kinase, Akt, c-Jun N-terminal Kinase, and Activator Protein-1 Signaling. // *The Journal of biological chemistry.* 2005. V. 280. № 28. P. 26263–26277.
48. Турпаев К.Т. Роль фактора транскрипции AP-1 в интеграции внутриклеточных систем. // *Молекулярная биология.* 2006. Т. 40. № 6. С. 945–961.
49. Gonsky R., Deem R.L., Hughes C.C. et al. Activation of the CD2 pathway in lamina propria T cells up-regulates functionally active AP-1 binding to the IL-2 promoter, resulting in messenger RNA transcription and IL-2 secretion. // *J. Immunol.* 1998. V. 160. № 10. P. 4914–22.
50. Bantel H., Schmitz M.L., Raible A. et al. Critical role of NF-kappaB and stress-activated protein kinases in steroid unresponsiveness. // *FASEB J.* 2002. V. 16. № 13. P. 1832–4.
51. Chandrasekar B., Mummidi S., Mahaimathan L. et al. Interleukin-18-induced human coronary artery smooth muscle cell migration is dependent on NF-kappaB and AP-1-mediated matrix metalloproteinase-9 expression and is inhibited by atorvastatin. // *J. Biol. Chem.* 2006. V. 281. № 22. P. 15099–109.
52. Брускин С.А. Кандидатская диссертация. 2008. С. 120.
53. Takeda A., Higuchi D., Takahashi T. et al. Overexpression of serpin squamous cell carcinoma antigens in psoriatic skin. // *J. Invest. Dermatol.* 2002. V. 118, № 1. P. 147–1454.
54. Брускин С.А., Абдеев Р.М., Мошковский С.А. и др. Протономные исследования псориаза как подход к идентификации потенциальных мишеней фармакотерапии. // *Клиническая дерматология и венерология.* 2009. № 1. С. 28–31.
55. Schreiber S., Rosenstiel P., Albrecht M. et al. Genetics of Chron disease, an archetypal inflammatory barrier disease. // *Nature.* 2005. V. 6. P. 376–388.
56. Sartor B.R. Mechanisms of Disease: pathogenesis of Crohn's disease and ulcerative colitis. // *Nature Clinical Practice Gastroenterology & Hepatology.* 2006. V. 3. P. 390–407.
57. Пирузян Э.С., Ишкин А.А., Никольская Т.А. и др. Сравнительный анализ молекулярно-генетических процессов при патогенезе псориаза и болезни Крона. // *Молекулярная биология.* 2009. Т. 46. № 1. С. 175–179.
58. Chaudhari U., Romano P., Mulcahy L.D. et al. Efficacy safety of infliximab monotherapy for plaque-type psoriasis: a randomized trial. // *Lancet.* 2001. V. 357. P. 1842–1847.
59. Baeten D., Kruithof E., Van den Bosch et al. Sisitematic safety follow up in a cohort of 107 patients with spondyloarthropathy treated with infliximab: a new perspective on the role of host defence in the pathogenesis of the disease? // *Ann. Rheum. Dis.* 2003. V. 62. P. 829–834.
60. Sfrikakis P.P., Iliopoulou A., Elezoglou A. et al. Psoriasis induced by anti-tumor necrosis factor therapy: a paradoxical adverse reaction. // *Arthritis Rheum.* 2005. V. 52. P. 2513–2518.
61. Perarnique L., Puig L., Dalmau J. et al. Onset of flexural psoriasis during infliximab treatment for Crohn's disease. // *Clin. Exp. Dermatol.* 2005. V. 30. № 6. P. 713–714.
62. Umeno J., Matsumoto T., Jo Y. et al. Psoriasis during anti-tumor necrosis factor – alpha therapy for Crohn's disease. // *Inflamm. Bowel Dis.* 2007. V. 13. P. 18188–1189.