

# Поиск новых молекулярных мишеней для антицитокиновой терапии больных иммунозависимым заболеванием кожи — псориазом

А.А. Кубанов, Н.В. Фриго, С.В. Ротанов, Р.Ф. Хайруллин, Л.Ф. Знаменская, С.И. Свищенко

Search for new molecular targets for anticytokine therapy of patients, suffering from the immune dependent skin disease — psoriasis

A.A. KUBANOV, N.V. FRIGO, S.V. ROTANOV, R.F. HAYRULLIN, L.F. ZNAMENSKAYA, S.I. SVISHTCHENKO

об авторах:

А.А. Кубанов — д.м.н., профессор, заместитель директора по научной работе ФГБУ «ГНЦДК» Минздравсоцразвития России, Москва  
 Н.В. Фриго — д.м.н., заместитель директора по научно-образовательной работе ФГБУ «ГНЦДК» Минздравсоцразвития России, Москва  
 С.В. Ротанов — д.м.н., доцент, главный научный сотрудник ФГБУ «ГНЦДК» Минздравсоцразвития России, Москва  
 Р.Ф. Хайруллин — к.х.н., научный сотрудник ФГБУ «ГНЦДК» Минздравсоцразвития России, Москва  
 Л.Ф. Знаменская — к.м.н., заведующий отделом дерматологии ФГБУ «ГНЦДК» Минздравсоцразвития России, Москва  
 С.И. Свищенко — врач-дерматовенеролог отделения клинической дерматологии ФГБУ «ГНЦДК» Минздравсоцразвития России, Москва

Приведены результаты исследования, направленного на поиск новых молекулярных мишеней для антицитокиновой терапии больных псориазом. Обследовано 26 больных псориазом, получавших лечение иммунобиологическими препаратами инфликсимаб, устекинумаб, адалимумаб, и 10 здоровых добровольцев. С использованием иммуноферментного анализа и мультиплексной технологии xMAP проведен качественный и количественный анализ спектра белковых молекул цитокинов (IL-4, -6, -17, TNF- $\alpha$  и IL-20, -22, -31, -12, -11, -18), а также молекул VEGF и ICAM-1 у больных, получавших терапию иммунобиологическими препаратами, — до и после лечения. Изучена корреляционная взаимосвязь уровня экспрессии цитокинов, с одной стороны, и распространенности и давности заболевания — с другой. Полученные данные позволяют заключить, что потенциальной (новой, дополнительной) молекулярной мишенью для антицитокиновой терапии больных иммунозависимым заболеванием кожи — псориазом может являться спектр молекул провоспалительных цитокинов IL-6, -20, -22, а также молекулы VEGF и ICAM-1, для которых в результате проведенного исследования была установлена патогенетическая значимость при псориазе.

**Ключевые слова:** псориаз, цитокины, антицитокиновая терапия, инфликсимаб, устекинумаб, адалимумаб.

The authors describe the results of a study aimed at searching for new molecular targets for anticytokine therapy of patients with psoriasis. The authors examined 26 patients with psoriasis who were treated with such immune biologic substances as infliximab, ustekinumab, adalimumab and 10 healthy volunteers. They performed a quality and quantity analysis of the spectrum of protein molecules of cytokines (L-4, IL-6, IL-17, TNF- $\alpha$  and IL-20, IL-22, IL-31, IL-12, IL-11, IL-18) as well as VEGF and ICAM-1 molecules in patients receiving the therapy with immune biologic substances before and after treatment using the methodology of the immune enzyme analysis and xMAP multiplex technology. The authors studied the correlation between the level of cytokine expression, on the one hand, and the occurrence and limitation of the disease, on the other hand. The obtained data are sufficient to conclude that the spectrum of molecules of IL6, IL20, IL22 anti-inflammatory cytokines as well as VEGF and ICAM-1 molecules, for which pathogenic importance in case of psoriasis was revealed as a result of the study, may serve as a potential (new, additional) molecular target for anticytokine therapy of patients suffering with such an immune-dependent skin disease as psoriasis.

**Key words:** psoriasis, cytokines, anticytokine therapy, infliximab, ustekinumab, adalimumab.

■ Работа выполнена в рамках Федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007—2013 годы» при поддержке гранта Министерства науки и образования Российской Федерации «Выявление новых молекулярных мишеней для антицитокиновой терапии иммунозависимых заболеваний кожи» (Государственный контракт от 12.07.2011 г. № 16.512.11.2247).

Псориаз является хроническим воспалительным заболеванием кожи, при котором происходит гиперпролиферация эпидермиса, усиление ангиогенеза, воспаление и инфильтрация кожи Т-клетками и нейтрофилами.

Многочисленные исследования указывают на мультифакторную природу псориаза [1—9], при этом многие зарубежные и отечественные авторы отмечают ведущую роль иммунных механизмов в патогенезе этого заболевания [1, 3, 10, 11].

Передача сигналов о межклеточном взаимодействии осуществляется при помощи специальных молекул-медиаторов, называемых **цитокинами**. Ряд цитокинов обладает провоспалительной активностью и играет важную роль в патогенезе псориаза. В настоящее время созданы лекарственные препараты, представляющие собой рекомбинантные моноклональные антитела, специфически инактивирующие в организме цитокиновые молекулы-мишени. Эти препараты назначаются для лечения больных со среднетяжелыми и тяжелыми формами псориаза, при непереносимости или недостаточной эффективности других методов системной терапии [1, 12]. Средняя стоимость лечения одного пациента составляет около 1 млн руб. в год.

Первым антицитокиновым препаратом, зарегистрированным в России для лечения больных псориазом и псориатическим артритом, является инфликсимаб — химерное моноклональное антитело, избирательно ингибирующее трансмембранную и растворимую формы провоспалительного цитокина — фактора некроза опухоли альфа (ФНО- $\alpha$ ; TNF- $\alpha$ ), который играет ключевую роль в развитии иммунного воспаления при псориазе [1, 10].

Препарат адалимумаб, представляющий собой гуманизированное моноклональное антитело, состоящее из иммуноглобулинов человека класса G1, селективно связывается с растворимым ФНО- $\alpha$  и блокирует его взаимодействие с поверхностными клеточными рецепторами [12, 13].

Адресное блокирование нескольких молекулярных мишеней, участвующих в патогенезе заболевания, может быть значительно более эффективным, чем «выключение» единственного белка, ответственного за развитие воспалительной реакции, и открывает новые возможности для модуляции цитокинового каскада при псориазе [14]. К препаратам, воздействующим на несколько молекулярных мишеней, относится устеки-

нумаб, который является полностью человеческим моноклональным антителом, блокирующим активность интерлейкина (IL) -12 и -23 за счет связи с их общей субъединицей p40 [1, 15].

Однако, несмотря на высокую эффективность антицитокиновой терапии, у части пациентов регистрируют неудачи лечения [16], что вызывает необходимость поиска новых и/или дополнительных мишеней для антицитокиновой терапии больных псориазом.

**Целью** настоящего исследования явилось определение белковых молекул, блокирование которых может повысить противовоспалительную активность антицитокиновой терапии больных псориазом.

### Материал и методы

Под наблюдением находилось 26 больных псориазом (17 мужчин и 9 женщин) в возрасте от 28 до 76 лет (средний возраст  $50,19 \pm 2,96$  года; медиана 50,5) с длительностью заболевания от 1 года до 50 лет. Пациенты были разделены на три группы: 1-я группа — 7 пациентов (6 мужчин и 1 женщина), получающих терапию препаратом устекинумаб (Стелара); 2-я группа — 7 пациентов (4 мужчины и 3 женщины), получающих инфликсимаб (Ремикейд); 3-я группа — 12 пациентов (6 мужчин и 6 женщин), получающих терапию препаратом адалимумаб (Хумира). У 15 больных отмечалось наличие псориатического артрита.

Группу сравнения составили 10 здоровых добровольцев (8 женщин и 2 мужчин) в возрасте от 23 до 45 лет.

Критериями включения больных в исследование были: наличие среднетяжелой или тяжелой формы псориаза (индекс PASI  $\geq 10$ ), возраст старше 18 лет, отсутствие беременности и лактации, неэффективность ранее проводимой системной терапии или противопоказания для ее проведения.

Критериями исключения были: возраст менее 18 лет, беременность, лактация, гиперчувствительность к составляющим препарата, хронические заболевания внутренних органов в стадии декомпенсации и тяжелые инфекции, включая туберкулез.

Перед началом исследования все пациенты подписывали информированное согласие об участии в исследовании.

До включения пациентов в исследование изучали клинико-anamnestические данные с учетом ранее проводившихся методов системной терапии, ее эффективности, сведений о перенесенных и сопутствующих заболеваниях. Из сопутствующих заболеваний в исследуемой группе пациентов наиболее часто отмечались гипертоническая болезнь, болезни желудочно-кишечного тракта, болезни эндокринной системы.

До начала лечения пациентам проводилось лабораторное обследование, включавшее клинический и биохимический анализ крови, общий анализ мочи, исследование методом иммуноферментного (ИФА) на сифи-

лис, гепатиты В, С, ВИЧ-инфекцию. Обязательным условием включения больных в исследование было проведение реакции Манту (или диаскин тест, квантифероновый тест), рентгенографии легких в двух проекциях с последующей консультацией фтизиатра и выдачей им заключения об отсутствии данных, свидетельствующих о наличии туберкулеза, в том числе латентного.

Пациенты 1-й группы получали лечение препаратом устекинумаб в дозе 45 мг на 0, 4, 16 и 28-й неделях. Препарат вводился подкожно в область живота, верхней части бедра или плеча в места, свободные от псориатических высыпаний.

Пациенты 2-й группы получали терапию препаратом инфликсимаб в дозе 5 мг на 1 кг массы тела на 0, 2, 6 и 14-й неделях в виде внутривенных инфузий продолжительностью не менее 2 ч.

Пациенты 3-й группы получали терапию препаратом адалимумаб в дозе 40 мг подкожно в область бедра или живота в места, свободные от псориатических высыпаний, на 0, 1, 3, 5, 7, 9 и 11-й неделях, причем на 0-й неделе препарат вводили в дозе 80 мг подкожно (по 40 мг в разные места введения).

Для оценки динамики кожного процесса у больных до и после лечения использовали индекс PASI.

Индекс PASI в общей группе больных до лечения составлял от 10 до 47,4 (среднее значение 24,7), после лечения — от 0 до 32,4 (среднее значение 6,32); в 1-й группе больных — соответственно от 11 до 35,4 (среднее значение 23,5) и от 1,2 до 5,3 (среднее значение 2,5); во 2-й группе — соответственно от 9,9 до 47,4 (среднее значение 33,5) и от 1,2 до 32,4 (среднее значение 11,9); в 3-й группе — от 10 до 33,6 (среднее значение 20,3) и от 0 до 17,4 (среднее значение 5,29).

Объектом исследования в биообразцах крови больных псориазом и здоровых добровольцев служили про- и противовоспалительные цитокины IL-4, -6, -17, TNF- $\alpha$ , IL-20, -22, -31, -12, -11, -18, а также молекулы внутрисосудистого фактора роста VEGF и адгезии ICAM-1, которые, по данным современной литературы, играют и/или могут играть патогенетическую роль в развитии псориаза [17—31].

Содержание белковых молекул цитокинов в биообразцах крови больных псориазом и здоровых добровольцев исследовали с использованием ИФА (для цитокинов IL-4, -6, -17, TNF- $\alpha$  и IL-20, -22, -31, -12, -11, -18, а также молекулы VEGF) и мультиплексной технологии xMAP (для белковых молекул IL-12 (p40), IL-17A/CTLA8, IL-20, IL-22/IL-TIF, IL-31, IL-4, IL-6, TNF- $\alpha$ , VEGF-A, ICAM-1). Перечень белковых молекул цитокинов, определяемых методом ИФА, несколько отличался от перечня цитокинов, определяемых методом xMAP, в связи с тем что часть молекул цитокинов (IL-11, -18) нельзя определить методом xMAP, другие молекулы (ICAM-1) нельзя определить методом ИФА ввиду отсутствия разработанных коммерческих наборов реагентов.

Образцы венозной крови, полученные от пациентов, подвергали разделению на лабораторных центрифугах в течение 10 мин. при скорости вращения ротора 3000 об./мин., сыворотку/плазму крови отделяли и сохраняли в индивидуальных маркированных пробирках с крышками типа «Эппендорф» в замороженном состоянии при температуре  $-78$ — $-80$  °С. Перед исследованием необходимое количество аликвот сыворотки/плазмы крови извлекали из низкотемпературного холодильника и размораживали при комнатной температуре в течение 30 мин., на вортексе обеспечивали тщательное перемешивание проб в микропробирке, не допуская вспенивания образцов.

Исследование методом ИФА образцов плазмы крови осуществляли с использованием наборов реагентов: «Интерлейкин-4-ИФА-Бест» производства фирмы «Вектор-Бест» (Новосибирск, Россия), «Интерлейкин-6-ИФА-Бест» производства фирмы «Вектор-Бест» (Новосибирск, Россия); Human VEGF Immunoassay Kit Cat № KHG0112/KHG0111 производства фирмы BioSource International, Inc. (Калифорния, США); «Интерлейкин-17-ИФА-Бест» производства фирмы ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск, Россия); «Альфа-ФНО-ИФА-БЕСТ» производства фирмы ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск, Россия); Human IL-18 Platinum ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay for the quantitative detection of human Interleukin 18) производства фирмы Bender MedSystems GmbH (Австрия); Human Interleukin 11 (IL-11) ELISA KIT производства фирмы Cusabio Biotech Co., LTD (Китай); Quantikine® ELISA Human IL-20 производства фирмы R&D SYSTEMS (США); Quantikine® ELISA Human IL-22 производства фирмы R&D SYSTEMS (США); Human IL-31 DuoSet Kit производства фирмы R&D SYSTEMS (США); Human IL-12 Quantikine ELISA Kit производства фирмы R&D SYSTEMS (США).

Постановка ИФА осуществлялась при ручном внесении реагентов в реакционные лунки иммунологических планшетов с использованием одно- и восьмиканальных пипеточных дозаторов марки «Колор» производства фирмы «Ленпипет» с погрешностью измерения не более 3%.

Промывание иммунологических планшетов в процессе ИФА осуществляли в автоматическом режиме с применением аппарата для автоматического промывания иммунологических планшетов марки PW40 производства фирмы Bio-Rad (США).

Результаты исследования регистрировали на спектрофотометре для ИФА марки Multiskan Ascent фирмы Thermo Labsystems (Финляндия) с построением калибровочных кривых с помощью программного сопровождения к указанному аппарату.

Исследования методом xMAP проводились с помощью набора PROCARTA фирмы Affymetrics. Набор представляет собой смесь реагентов для мультиплексного детектирования цитокинов в широком диапазоне концентраций.

Исследование с использованием метода xMAP образцов сыворотки крови осуществлялось в специальном 96-луночном микропланшете с мембранным дном производства фирмы BioRad (США), позволяющем проводить удаление излишков жидкости путем вакуумной фильтрации. Размороженные сыворотки крови разводили в соотношении 1:1 разбавителем для сывороток BioPlex Human Serum Diluent Kit (BioRad, США). Фильтрация образцов осуществлялась с использованием вакуумного коллектора для микропланшетов Aurum (BioRad, США) и медицинского отсасывателя OM-1 (ОАО «Утес»), обеспечивающего необходимое для фильтрации разрежение. Перед использованием системы для вакуумного фильтрования производилась проверка создаваемого вакуума для предотвращения повреждения мембран микропланшета. Внесение необходимых компонентов в лунки микропланшета осуществлялось в соответствии с инструкцией производителя в следующем порядке: буфер для промывки, микросферы, образцы и стандарты, детектирующие антитела, стрептавидин-фикоэритрин (все производства BioRad), с инкубацией на шейкере и промывкой буфером на соответствующих этапах.

Измерение концентрации исследуемых цитокинов проводилось на анализаторе BioPlex 200 согласно инструкции производителя (BioRad, США).

Прибор калибровался в день проведения исследования с использованием калибраторов (суспензии микросфер со стабильной интенсивностью флуоресценции) в режиме Low PMT (низкого напряжения фотумножителя). Для детекции содержания интерлейкинов в образцах сыворотки крови применяли следующие параметры: объем образца (Sample volume) — 100 мкл, регион микросфер (Bead region) — 100, интервал для дискриминации агрегации микросфер (DD Gate): — 5000—25 000.

Построение калибровочных кривых и расчет содержания аналитов в образцах осуществлялись с помощью программы Bio-Plex Manager 5.0 (BioRad, США). Для оценки содержания цитокинов в анализах использовалась логарифмическая логистическая модель с пятью параметрами (5PL), построенная на основании анализа концентраций серии разведений стандартного образца. Для каждого определяемого цитокина строилась отдельная калибровочная кривая, содержание цитокинов определялось путем интерполяции из калибровочной кривой. Анализ полученных данных и сравнение содержания исследованных цитокинов в разных группах проводилось в программе BioPlex Data Pro (версия 1.0.0.06) фирмы BioRad, после чего данные экспортировались в программу Excel.

Для анализа результатов исследования использовали пакет прикладных программ Statistica 6. Оценка корреляционных связей осуществлялась с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

Результаты качественного определения белковых молекул цитокинов в крови больных псориазом и здоровых добровольцев методом ИФА приведены в табл. 1.

Как следует из табл. 1, у значительного процента больных псориазом (от 29 до 100%) цитокины IL-4, -22, -31 и фактор TNF- $\alpha$  в сыворотке крови методом ИФА не определялись. В группе здоровых лиц у большинства обследованных (90—100%) указанные медиаторы клеточного обмена также не определялись. Аналитическая чувствительность метода ИФА оказалась недостаточной для определения в обследованных группах (как больных псориазом, так и здоровых добровольцев) цитокинов IL-17, -31, -12. Вместе с тем у большинства больных псориазом до лечения определялись в значимых концентрациях: IL-4 (у 68% больных, диапазон концентраций 0,05—2,59 пг/мл), IL-6 (у 89% больных, 1,44—66,26 пг/мл), IL-11 (у 54% больных, 7,92—385,24 пг/мл), IL-18 (у 89% больных, 52,57—700,00 пг/мл) и VEGF (у 71% больных, 83,70—1446,32 пг/мл); определялись также следовые значения IL-20 (у 89% в концентрации 0,01—0,17 пг/мл).

С целью выяснения патогенетической значимости молекул цитокинов при псориазе было проведено сравнение содержания цитокинов, определявшихся в значимых концентрациях у больных псориазом до начала лечения антицитокиновыми препаратами и у здоровых добровольцев; у больных псориазом до и после лечения антицитокиновыми препаратами инфликсимаб, устекинумаб и адалимумаб; у больных псориазом после окончания лечения в сравнении со здоровыми добровольцами (табл. 2, 3).

У больных псориазом в сравнении со здоровыми лицами были установлены статистически достоверные различия в содержании IL-4 ( $p < 0,001$ ), IL-6 ( $p < 0,001$ ), IL-11 ( $p = 0,05$ ), VEGF ( $p < 0,05$ ): содержание данных цитокинов в плазме крови больных псориазом было повышено в сравнении со здоровыми; содержание остальных детектируемых методом ИФА цитокинов (IL-18, -20) у больных псориазом и здоровых достоверно не различалось (см. табл. 2).

Изучение динамики уровня цитокинов под влиянием лечения было проведено в общей группе пациентов, получавших данный вид терапии, а также у пациентов, получавших лечение определенным препаратом (инфликсимаб, устекинумаб, адалимумаб).

Сравнение показателей в общей группе больных псориазом, получавших лечение антицитокиновыми препаратами, выявило достоверное снижение после лечения антицитокиновыми препаратами уровня только IL-6 ( $p < 0,05$ ) и IL-20 ( $p = 0,05$ ); уровень остальных детектируемых методом ИФА белковых молекул после окончания лечения достоверно не изменился (см. табл. 3). После завершения терапии антицитокиновыми препаратами оставался достоверно повышен-

ТАБЛИЦА 1

Результаты качественного определения белковых молекул методом ИФА, % биообразцов с определяемым (> 0) и неопределяемым (= 0) уровнем показателя

Показатель	Диапазон концентраций, пг/мл	Уровень показателя	Больные псориазом		Здоровые
			до лечения	после лечения	
IL-4	—	0	32	64	100
	0,05—3,40	> 0	68	36	0
IL-6	—	0	11	46	30
	0,29—66,26	> 0	89	54	70
IL-17	—	0	100	100	100
	—	> 0	0	0	0
TNF-α	—	0	96	96	100
	7,01—10,03	> 0	4	4	0
VEGF	—	0	29	32	10
	19,28—1446,32	> 0	71	68	90
IL-20	—	0	11	46	10
	0,01—0,17	> 0	89	54	90
IL-22	—	0	71	100	100
	0,02—2,7	> 0	29	0	0
IL-31	—	0	100	100	100
	—	> 0	0	0	0
IL-12	—	0	100	100	100
	—	> 0	0	0	0
IL-18	—	0	11	0	0
	52,57—>500	> 0	89	100	100
IL-11	—	0	46	54	30
	1,82—385,24	> 0	54	46	70

ТАБЛИЦА 2

Содержание цитокинов (в пг/мл) в крови больных псориазом в сравнении со здоровыми лицами (метод ИФА;  $M \pm m$ )

Показатель	Больные псориазом	Здоровые
IL-4	0,33 ± 0,10**	0,00
IL-6	10,83 ± 2,97**	0,46 ± 0,29
IL-11	46,03 ± 15,42*	13,12 ± 5,14
IL-18	253,36 ± 37,82	264,79 ± 59,54
IL-20	0,025 ± 0,01	0,026 ± 0,02
VEGF	314,98 ± 67,02*	125,97 ± 35,42

Примечание. Достоверность различий между больными и здоровыми: \*  $p \leq 0,05$ ; \*\*  $p < 0,001$ .

ТАБЛИЦА 3

 Содержание цитокинов (в пг/мл) в крови больных псориазом до и после лечения антицитокиновыми препаратами (метод ИФА) ( $M \pm m$ )

Показатель	Общая группа больных псориазом, получивших антицитокиновую терапию		Инфликсимаб		Устекинумаб		Адалимумаб		Здоровые
	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения	
IL-4	0,33 ± 0,10	0,20 ± 0,17	0,29 ± 0,11	0,24 ± 0,10	0,69 ± 0,33	0,54 ± 0,48	0,14 ± 0,07	0,02 ± 0,01	0,00
IL-6	10,83 ± 2,97*	2,84 ± 1,21	14,31 ± 5,93	5,11 ± 1,67	19,21 ± 8,93	2,75 ± 0,77	4,30 ± 1,27	1,75 ± 1,40	0,46 ± 0,29
IL-11	46,03 ± 15,42	21,25 ± 8,36	78,16 ± 10,65*	41,15 ± 11,04	97,16 ± 54,43	38,47 ± 16,14	4,40 ± 2,10	2,69 ± 1,94	13,12 ± 5,14
IL-18	253,36 ± 37,82	217,79 ± 41,63	279,70 ± 79,86	207,41 ± 44,44	364,90 ± 88,70	292,76 ± 79,90	184,42 ± 42,23	185,49 ± 37,01	264,79 ± 59,54
IL-20	0,03 ± 0,01*	0,01 ± 0,00	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,02	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,02	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,026 ± 0,02
VEGF	314,98 ± 67,02	256,51 ± 78,11	457,78 ± 114,43	406,84 ± 104,53	348,05 ± 187,22	142,30 ± 103,63	224,69 ± 73,71	238,45 ± 79,22	125,97 ± 35,42

Примечание. Достоверность различий до и после лечения: \*  $p \leq 0,05$ .

ным в сравнении с показателями у здоровых лиц уровень цитокинов IL-4, -11, -6, VEGF ( $p < 0,05$ ).

После окончания лечения больных псориазом препаратом инфликсимаб были установлены статистически достоверные изменения уровня IL-11 ( $p < 0,05$ ). Заметного изменения уровня других белковых молекул после лечения инфликсимабом отмечено не было.

Также не выявлено статистически достоверных различий в содержании цитокинов в образцах крови больных псориазом до и после лечения препаратом устекинумаб и у больных группы сравнения, получавших адалимумаб.

Результаты качественного определения белковых молекул цитокинов методом xMAP приведены в табл. 4.

Как следует из табл. 4, во всех исследованных пробах содержание цитокинов IL-31 и -17A оказалось ниже диапазона детекции (<0,9 пг/мл для IL-31 и <1,8 пг/мл для IL-17A), что могло быть обусловлено недостаточно высокой аналитической чувствительностью метода xMAP для детекции данных видов белковых молекул у обследованных больных псориазом и здоровых добровольцев.

У значительного процента больных псориазом (от 21,75 до 60,9%) и здоровых (от 25 до 75%) цитокины IL-12(p40), IL-20, IL-22/IL-TIF, IL-4, IL-6, TNF- $\alpha$ , VEGF-A также не выявлялись. Вместе с тем у больных псориазом в значимых концентрациях определялись: IL-12 (у 100%; диапазон концентраций 0,8—8,82 пг/мл), IL-20 (у 56,5%; 0,32—92,45 пг/мл), IL-22/IL-TIF (у 73,9%; 8,28—87,45 пг/мл), IL-4 (у 73,9%; 0,16—9,24 пг/мл); IL-6 (у 80,25%; 0,31—6,16 пг/мл), фактор VEGF (100%; 1,1—17,42 пг/мл), ICAM-1 (у 100%; 0,45—0,10 мкг/мл).

Проведено сравнение среднего уровня экспрессии интерлейкинов, определявшихся в значимых концен-

трациях, в группах больных псориазом и здоровых (табл. 5).

У больных псориазом в сравнении со здоровыми установлены статистически достоверные различия в содержании IL-4 ( $p < 0,001$ ), IL-6 ( $p < 0,01$ ), IL-20 ( $p < 0,001$ ), IL-22 ( $p < 0,001$ ), TNF- $\alpha$  ( $p < 0,01$ ), ICAM-1 ( $p < 0,01$ ); содержание данных цитокинов в сыворотке крови больных псориазом было повышено.

Также проведено сравнение уровня экспрессии белковых молекул методом xMAP в сыворотке крови больных псориазом до и после лечения антицитокиновыми препаратами (табл. 6 и 7).

Сравнение показателей в общей группе больных псориазом, получавших лечение антицитокиновыми препаратами, выявило достоверное снижение после лечения уровня только IL-6 ( $p < 0,05$ ); уровень остальных белковых молекул после окончания лечения достоверно не изменялся (см. табл. 6). Следует отметить, что уровень цитокинов IL-6, -20, -22, TNF- $\alpha$ , IL-4 после окончания лечения больных псориазом антицитокиновыми препаратами продолжал оставаться достоверно более высоким ( $p < 0,05$ ), чем у здоровых.

После окончания лечения больных псориазом препаратом инфликсимаб были установлены статистически достоверные изменения уровня IL-20 ( $p < 0,05$ ), IL-22 ( $p < 0,001$ ) и IL-4 ( $p < 0,05$ ) (см. табл. 7). Заметного изменения уровня других белковых молекул, включая ключевую молекулу-мишень инфликсимаба — TNF- $\alpha$ , отмечено не было. Уровень цитокинов IL-20, -22, -4, -6, TNF- $\alpha$  после окончания лечения больных псориазом антицитокиновыми препаратами продолжал оставаться достоверно более высоким ( $p < 0,05$ ), чем у здоровых.

ТАБЛИЦА 4

Результаты качественного определения экспрессии белковых молекул методом xMAP, % биобразцов с определяемым (> 0) и неопределяемым (= 0) уровнем показателя

Показатель	Диапазон концентраций	Уровень показателя	Больные псориазом		Здоровые
			до лечения	после лечения	
IL-12(p40)	—	0	0	0	0
	0,8—8,82	>0	100	100	100
IL-17A/CTLA8	—	0	100	100	100
	—	>0	0	0	0
IL-20	—	0	43,5	60,9	75
	0,32—92,45	>0	56,5	39,1	25
IL-22/IL-TIF	—	0	26,1	60,9	100
	8,28—87,45	>0	73,9	39,1	0
IL-31	—	0	100	100	100
	—	>0	0	0	0
IL-4	—	0	26,1	21,75	37,5
	0,16—9,24	>0	73,9	78,25	62,5
IL-6	—	0	21,75	60,9	62,5
	0,31—6,16	>0	80,25	39,1	37,5
TNF-α	—	0	43,5	39,15	62,5
	0,4—12,04	>0	56,5	60,85	37,5
VEGF-A	—	0	0	0	0
	1,1—17,42	>0	100	100	100
ICAM-1	—	0	0	0	0
	0,45—0,10	>0	100	100	100

Примечание. Здесь и в табл. 5—7: концентрация цитокинов в пг/мл, ICAM-1 — в мкг/мл.

ТАБЛИЦА 5

Результаты количественного определения экспрессии белковых молекул в группах больных псориазом и здоровых (метод xMAP;  $M \pm m$ )

Показатель	Больные псориазом	Здоровые
IL-12(p40)	2,85 ± 0,42	1,95 ± 0,19
IL-20	17,99 ± 1,44**	9,20 ± 1,12
IL-22/IL-TIF	40,49 ± 5,04**	0,00 ± 0,00
IL-4	4,05 ± 0,52**	1,24 ± 0,30
IL-6	1,34 ± 0,22*	0,56 ± 0,13
TNF-α	2,50 ± 0,47*	0,76 ± 0,18
VEGF-A	5,43 ± 0,51	6,32 ± 1,10
ICAM-1	0,26 ± 0,02*	0,17 ± 0,02

Примечание. Достоверность различий между больными и здоровыми: \*  $p < 0,01$ ; \*\*  $p < 0,001$ .

**ТАБЛИЦА 6**
**Результаты количественного определения экспрессии интерлейкинов в общей группе больных псориазом до и после лечения антицитокиновыми препаратами (метод xMAP;  $M \pm m$ )**

Показатель	Больные псориазом		Здоровые
	до лечения	после лечения	
IL-12(p40)	2,85 ± 0,42	2,07 ± 0,24	1,95 ± 0,19
IL-20	17,99 ± 1,44	16,21 ± 6,15	9,20 ± 1,12
IL-22/IL-TIF	40,49 ± 5,04	33,16 ± 7,58	0,00 ± 0,00
IL-4	4,05 ± 0,52	3,60 ± 0,64	1,24 ± 0,30
IL-6	1,34 ± 0,22*	0,74 ± 0,15	0,56 ± 0,13
TNF-α	2,50 ± 0,47	2,0 ± 0,47	0,76 ± 0,18
VEGF-A	5,43 ± 0,51	4,57 ± 0,44	6,32 ± 1,10
ICAM-1	0,26 ± 0,02	0,22 ± 0,01	0,17 ± 0,02

Примечание. Достоверность различий между больными до и после лечения: \*  $p \leq 0,05$ .

**ТАБЛИЦА 7**
**Результаты количественного определения экспрессии белковых молекул в сыворотке крови больных псориазом до и после терапии препаратом инфликсимаб (метод xMAP;  $M \pm m$ )**

Показатель	Больные псориазом		Здоровые
	до лечения	после лечения	
IL-12(p40)	7,59 ± 3,39	2,09 ± 0,59	1,95 ± 0,19
IL-20	45,04 ± 15,33*	8,89 ± 8,03	9,20 ± 1,12
IL-22/IL-TIF	35,84 ± 7,97**	0,91 ± 0,90	0,00 ± 0,00
IL-4	2,53 ± 0,81*	0,58 ± 0,26	1,24 ± 0,30
IL-6	9,30 ± 5,00	1,34 ± 1,28	0,56 ± 0,13
TNF-α	0,66 ± 0,27	0,53 ± 0,22	0,76 ± 0,18
VEGF-A	15,27 ± 4,95	7,44 ± 2,15	6,32 ± 1,10
ICAM-1	0,30 ± 0,037	0,23 ± 0,02	0,17 ± 0,02

Примечание. Достоверность различий между больными до и после лечения: \*  $p \leq 0,05$ ; \*\*  $p < 0,001$ .

При сравнении содержания цитокинов в образцах больных псориазом до и после лечения препаратом устекинумаб статистически достоверных различий показателей не выявлено. Также не выявлено статистически достоверных различий при сравнении содержания белковых молекул в образцах больных псориазом группы сравнения — до и после лечения препаратом адалимумаб.

В целях подтверждения патогенетической значимости изучавшихся молекул цитокинов были изучены корреляционные взаимосвязи между уровнем экспрессии отдельных молекул цитокинов в крови больных псориазом с тяжестью и распространенностью процесса (определявшихся по индексу PASI) и дав-

ностью заболевания. Установлена значимая прямая корреляционная связь между уровнем IL-6 ( $r = 0,466$ ;  $p < 0,05$ ), IL-20 ( $r = 0,483$ ;  $p < 0,05$ ) и VEGF ( $r = 0,393$ ;  $p < 0,05$ ), определявшихся методом xMAP, и тяжестью и распространенностью псориазических высыпаний. Значимых ассоциаций уровня экспрессии цитокинов с давностью заболевания не обнаружено.

### Обсуждение

В настоящее время в терапии псориаза все большую популярность приобретают антицитокиновые препараты, которые направлены воздействовать на молекулы-мишени, играющие ключевую роль в развитии заболевания. Вместе с тем у ряда больных от-

мечаются неудачи терапии указанными препаратами. Данное обстоятельство наряду с травмированием психики пациента от неэффективного лечения приводит к значительным экономическим потерям, поскольку стоимость лечения каждого пациента составляет около 1 млн руб. в год.

Как было установлено в результате работ, проведенных ФГБУ «ГНЦДК» Минздравсоцразвития России в рамках Госконтракта 02.512.11.2199 в 2008 г. (по мероприятию 1.2 ФЦП «Исследования и разработки...» по теме «Разработка молекулярных методов повышения эффективности лечения препаратами биологических модификаторов иммунного ответа»), существуют две возможные причины невосприимчивости пациента к лечению, одна из которых обусловлена генетическими факторами, а именно — полиморфизмом кодирующих цитокины генов [31]. Другая возможная причина заключается в том, что, когда антителом блокируют один цитокин, его роль в гиперактивации иммунной системы могут взять на себя **другие провоспалительные цитокины**, вырабатываемые в организме [32, 33]. Данное обстоятельство объясняется плейотропностью и взаимозаменяемостью биологического действия цитокинов. При разработке методов лечения иммунозависимых заболеваний кожи вероятным выходом из данной ситуации может оказаться применение антицитокиновых препаратов, блокирующих синергично действующие цитокины и/или другие белковые молекулы, участвующие в патогенезе псориаза.

Настоящее исследование было проведено с целью определения белковых молекул цитокинов (а также фактора роста сосудов и молекулы адгезии), которые могут иметь патогенетическую значимость при псориазе и являться новыми и/или дополнительными молекулярными мишенями для антицитокиновой терапии иммунозависимого заболевания кожи — псориаза.

С этой целью на основании данных современной литературы для изучения был отобран спектр белковых молекул цитокинов, а также других белковых молекул (VEGF, ICAM-1), которые могут играть патогенетическую роль при псориазе, но при этом не слишком широко освещены в литературе, а препараты антицитокинового ряда для лечения псориаза на их основе еще не созданы либо находятся в стадии разработки.

Исследование проведено с использованием двух современных методов, позволяющих качественно и количественно оценить уровень экспрессии соответствующих белковых молекул в биообразцах крови обследуемых, — ИФА и хМАР. Одновременное использование двух методов оценки экспрессии цитокинов в крови больных псориазом и здоровых добровольцев было применено, во-первых, с целью оценки аналитических возможностей того и другого метода при обследовании больных псориазом и здоровых добровольцев и, во-вторых, для получения более полного представления об экспрессии изучаемых бел-

ковых молекул, так как, используя лишь один метод исследования, можно определить не все молекулы цитокинов ввиду отсутствия коммерческих наборов реагентов, разработанных для выявления отдельных молекул цитокинов.

В результате проведенного исследования установлено, что аналитическая чувствительность обоих методов (ИФА и хМАР) недостаточна для выявления IL-17 и -31 как у больных псориазом, так и у здоровых добровольцев: по-видимому, концентрации цитокинов у данных контингентов обследованных были ниже предела детекции обоими методами. В то же время аналитическая чувствительность метода хМАР в целом оказалась более высокой, так как данный метод позволил выявить в крови больных псориазом IL-12, а также IL-22, которые методом ИФА либо вообще не выявлялись (первый), либо определялись в следовых количествах (второй). Кроме того, при использовании метода ИФА в крови здоровых добровольцев не обнаруживались IL-4, -22 и TNF- $\alpha$ , содержание которых можно было определить методом хМАР.

С использованием методов ИФА и хМАР для оценки патогенетической значимости белковых молекул цитокинов при псориазе и их отбора в качестве возможных новых и/или дополнительных молекулярных мишеней для антицитокиновой терапии больных псориазом был применен ряд объективных критериев (табл. 8). Во-первых, информация о патогенетической значимости каждого из определявшихся цитокинов была получена путем сравнительного количественного анализа экспрессии белковых молекул цитокинов у больных псориазом и здоровых добровольцев (1-й критерий).

Анализ показал, что в крови больных псориазом определялось повышенное в сравнении со здоровыми добровольцами содержание следующих белковых молекул: провоспалительных цитокинов — TNF- $\alpha$  (метод хМАР), IL-6 (методы ИФА и хМАР), IL-20 (метод хМАР), IL-22 (метод хМАР); противовоспалительных цитокинов — IL-4 (метод ИФА) и IL-11 (метод ИФА), а также белковых молекул: VEGF (метод ИФА) и ICAM-1 (метод хМАР).

Во-вторых, проведен анализ динамики уровня цитокинов до и после лечения больных псориазом антицитокиновыми препаратами — инфликсимабом, устекинумабом, а также (в группе сравнения) — адалимумабом; при этом снижение уровня изначально повышенного показателя служило дополнительным подтверждением его патогенетической значимости (2-й критерий).

Отмечено, что под влиянием лечения антицитокиновыми препаратами достоверно снижался уровень следующих белковых молекул: провоспалительных цитокинов — IL-6 (в общей группе больных, получавших лечение антицитокиновыми препаратами; методы ИФА и хМАР), IL-20 (в общей группе больных, получавших лечение антицитокиновыми препаратами; метод ИФА); снижение после лечения инфликсимабом; метод

**ТАБЛИЦА 8**
**Критерии оценки патогенетической значимости белковых молекул при псориазе и их отбора в качестве новых/дополнительных мишеней для антицитокиновой терапии больных псориазом**

Показатель	Противовоспалительные цитокины			Провоспалительные цитокины			Фактор роста VEGF	Молекула адгезии ICAM-1
	IL-4	IL-11	IL-6	IL-20	IL-22	TNF- $\alpha$		
Содержание выше у больных (1-й критерий)	+ ИФА	+ ИФА	+ ИФА хМАР	+ хМАР	+ хМАР	+ хМАР	+ ИФА	+ хМАР
Снижение уровня после лечения антицитокиновыми препаратами (общая группа) (2-й критерий)			+ ИФА хМАР	+ ИФА				
Снижение уровня после лечения инфликсимабом (2-й критерий)	+ хМАР	+ ИФА		+ хМАР	+ хМАР			
Уровень не нормализовался после лечения (3-й критерий)	+ ИФА хМАР	+ ИФА	+ ИФА	+ хМАР	+ хМАР	+ хМАР	+ ИФА	
Корреляция с тяжестью и распространенностью псориаза (4-й критерий)			+ ИФА	+ хМАР			+ хМАР	

хМАР), IL-22 (снижение после лечения инфликсимабом; метод хМАР); противовоспалительных цитокинов — IL-4 (снижение после лечения инфликсимабом; метод хМАР) и IL-11 (снижение после лечения инфликсимабом; метод ИФА).

Отсутствие нормализации содержания в крови больных псориазом изначально повышенного уровня белковых молекул цитокинов после лечения антицитокиновыми препаратами служило дополнительным критерием для отбора данных молекул в качестве мишеней для антицитокиновой терапии (3-й критерий). После лечения антицитокиновыми препаратами отмечено отсутствие нормализации уровня следующих белковых молекул: IL-6 (метод ИФА), IL-20 (метод хМАР); IL-22 (метод хМАР); TNF- $\alpha$  (метод хМАР); противовоспалительных цитокинов — IL-4 (метод ИФА; метод хМАР) и IL-11 (метод ИФА); не отмечено также нормализации уровня VEGF (метод ИФА).

Для оценки патогенетической значимости молекул цитокинов был проведен корреляционный анализ между уровнем цитокинов в крови больных псориазом и тяжестью и распространенностью патологического процесса, определяемого на основании объективного критерия — индекса PASI (4-й критерий). Установлена значимая прямая корреляционная связь между уровнем IL-6 ( $r = 0,466$ ;  $p < 0,05$ ), IL-20 ( $r = 0,483$ ;  $p < 0,05$ ) и VEGF ( $r = 0,393$ ;  $p < 0,05$ ), определявшихся методом хМАР, и тяжестью и распространенностью псориазических высыпаний.

Таким образом, на основании проведенных исследований был установлен ряд белковых молекул цито-

кинов, а также других белковых молекул, участвующих в межклеточных взаимодействиях, которые имеют патогенетическую значимость при псориазе, что было констатировано на основании анализа четырех использованных критериев; при этом две молекулы противовоспалительных цитокинов (IL-6 и -20) отвечали соответственно четырем и пяти критериям, что указывало на их высокую патогенетическую значимость; молекула провоспалительного цитокина IL-22, двух противовоспалительных цитокинов — IL-4 и -11, а также молекула VEGF — трем критериям; молекула TNF- $\alpha$  — двум и молекула ICAM-1 — одному критерию.

Полученные данные позволяют заключить, что потенциальными молекулярными мишенями для антицитокиновой терапии больных иммунозависимым заболеванием кожи — псориазом могут являться молекулы провоспалительных цитокинов IL-6, -20, -22, а также молекулы VEGF и ICAM-1, для которых в результате проведенного исследования была установлена патогенетическая значимость при псориазе. Вопрос о возможности использования в качестве молекулярных мишеней для антицитокинового воздействия двух молекул противовоспалительных цитокинов — IL-4 и -11 — является спорным и нуждается в дополнительном экспериментальном подтверждении, так как повышенная продукция этих цитокинов может являться ответной реакцией организма больного псориазом на избыточную продукцию провоспалительных цитокинов, и целесообразность инaktivации данных молекул вызывает сомнение, несмотря на явно установленную патогенетическую роль. ■

## Литература

- Chien A.L., Elder J.T., Ellis C.N. Ustekinumab: A new option in psoriasis therapy. *Drugs*. 2009; 69: 1141—1152.
- Gottlieb A., Korman N.J., Gordon K.B., Feldman S.R., Lebwohl M., Koo J.Y., Van Voorhees A.S., Elmets C.A., Leonardi C.L., Beutner K.R., Bhushan R., Menter A. Guidelines of care for the management of psoriasis and psoriatic arthritis: Section 2. Psoriatic arthritis: overview and guidelines of care for treatment with an emphasis on the biologics. *J Am Acad Dermatol*. 2008; 58: 851—864.
- Liu Y., Helms C., Liao W., Zaba L.C., Duan S., Gardner J., Wise C., Miner A., Malloy M.J., Pullinger C.R., Kane J.P., Saccone S., Worthington J., Bruce I., Kwok P.Y., Menter A., Krueger J., Barton A., Saccone N.L., Bowcock A.M. A genome-wide association study of psoriasis and psoriatic arthritis identifies new disease loci. *PLoS Genet*. 2008; 4: e1000041.
- Nair R.P., Stuart P.E., Nistor I., Hiremagalore R., Chia N.V., Jenisch S., Weichenthal M., Abecasis G.R., Lim H.W., Christophers E., Voorhees J.J., Elder J.T. Sequence and haplotype analysis supports HLA-C as the psoriasis susceptibility 1 gene. *Am J Hum Genet*. 2006; 78: 827—851.
- Nickoloff B.J., Nestle F.O. Recent insights into the immunopathogenesis of psoriasis provide new therapeutic opportunities. *J Clin Invest*. 2004; 113: 1664—1675.
- Rahman P., Elder J.T. Genetic epidemiology of psoriasis and psoriatic arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2005; 64 Suppl 2: ii37—39; discussion ii40—31.
- Teraoka Y., Naruse T.K., Oka A., Matsuzawa Y., Shiina T., Iizuka M., Iwashita K., Ozawa A., Inoko H. Genetic polymorphisms in the cell growth regulated gene, SC1 telomeric of the HLA-C gene and lack of association of psoriasis vulgaris. *Tissue Antigens*. 2000; 55: 206—211.
- Беляев Г.М., Рыжко П.П. Псориаз. Псориаз-артрическая артропатия. МЕДпресс-информ, 2005; 1—272.
- Рахимова О.Ю., Виноградов Ю.А., Юрков М.Ю., Савицкий А.В., Митрофанова И.П. Псориаз и болезнь Крона. *Клин. мед.* 2008; 7: 70—72.
- Gottlieb A.B., Matheson R.T., Lowe N., Krueger G.G., Kang S., Goffe B.S., Gaspari A.A., Ling M., Weinstein G.D., Nayak A., Gordon K.B., Zitnik R. A randomized trial of etanercept as monotherapy for psoriasis. *Arch Dermatol*. 2003; 139: 1627—1632; discussion 1632.
- Кубанова А.А., Кисина В.И. Рациональная фармакотерапия заболеваний кожи и инфекций, передаваемых половым путем. М.: Литтерра, 2005; 365—378.
- Menter A., Tying S.K., Gordon K., Kimball A.B., Leonardi C.L., Langley R.G., Strober B.E., Kaul M., Gu Y., Okun M. Adalimumab therapy for moderate to severe psoriasis: a randomized, controlled phase III trial. *J Amer Acad Dermatol*. 2008; 58: 106—115.
- Gordon K.B., Langley R.G., Leonardi C., Toth D., Menter M.A., Kang S., Heffernan M., Miller B., Hamlin R., Lim L. Clinical response to adalimumab treatment in patients with moderate to severe psoriasis: double-blind, randomized controlled trial and open-label extension study. *J Amer Acad Dermatol*. 2006; 55: 598—606.
- Sonkoly E., Stahle M., Pivarcsi A. MicroRNAs and immunity: novel players in the regulation of normal immune function and inflammation. *Semin Cancer Biol*. 2008; 18: 131—140.
- Wittig B. Drug evaluation: CNTO-1275, a mAb against IL-12/IL-23p40 for the potential treatment of inflammatory diseases. *Current opinion in investigational drugs (London, England: 2000)*. 2007; 8: 947.
- Каратеев Д.Е. Вопросы иммуногенности биологических препаратов: теория и практика. *Соврем. ревматол.* 2009; 67—72.
- Mizutani H., Ohmoto Y., Mizutani T., Murata M., Shimizu M. Role of increased production of monocytes TNF- $\alpha$ , IL-1  $\beta$  and IL-6 in psoriasis: relation to focal infection, disease activity and responses to treatments. *J dermatol science*. 1997; 14: 145—153.
- Prens E., Hegmans J., Lien R., Debets R., Troost R., Van Joost T., Benner R. Increased expression of interleukin-4 receptors on psoriatic epidermal cells. *Amer J pathol*. 1996; 148: 1493.
- Trepicchio W.L., Ozawa M., Walters I.B., Kikuchi T., Gilleaudeau P., Bliss J.L., Schwertschlag U., Dorner A.J., Krueger J.G. Interleukin-11 therapy selectively downregulates type I cytokine proinflammatory pathways in psoriasis lesions. *J Clin Invest*. 1999; 104: 1527—1537.
- Oestreicher J., Walters I., Kikuchi T., Gilleaudeau P., Surette J., Schwertschlag U., Dorner A., Krueger J., Trepicchio W. Molecular classification of psoriasis disease-associated genes through pharmacogenomic expression profiling. *Pharmacogen J* 2001; 1: 272—287.
- Yawalkar N., Karlen S., Hunger R., Brand C.U., Braathen L.R. Expression of interleukin-12 is increased in psoriatic skin. *J Invest Dermatol* 1998; 111: 1053—1057.
- Nograles K.E., Krueger J.G. Anti-cytokine therapies for psoriasis. *Exp Cell Res*. 2011.
- Albanesi C., Scarponi C., Cavani A., Federici M., Nasorri F., Girolomoni G. Interleukin-17 is produced by both Th1 and Th2 lymphocytes, and modulates interferon- $\gamma$  and interleukin-4-induced activation of human keratinocytes. *J Invest Derm*. 2000; 115: 81—87.
- Koga C., Kabashima K., Shiraishi N., Kobayashi M., Tokura Y. Possible pathogenic role of Th17 cells for atopic dermatitis. *J Invest Derm*. 2008; 128: 2625—2630.
- Ohta Y., Hamada Y., Katsuo K. Expression of IL-18 in psoriasis. *Arch Derm Res*. 2001; 293: 334—342.
- Rich B.E., Kupper T.S. Cytokines: IL-20—a new effector in skin inflammation. *Curr Biol*. 2001; 11: R531—R534.
- Boniface K., Bernard F.X., Garcia M., Gurney A.L., Lecron J.C., Morel F. IL-22 inhibits epidermal differentiation and induces proinflammatory gene expression and migration of human keratinocytes. *J Immunol*. 2005; 174: 3695.
- Canavese M., Altruda F., Ruzicka T., Schaubert J. Vascular endothelial growth factor (VEGF) in the pathogenesis of psoriasis—a possible target for novel therapies? *J Derm Sci*. 2010; 58: 171—176.
- Das P., De Boer O., Visser A., Verhagen C., Bos J., Pals S. Differential expression of ICAM-1, E-selectin and VCAM-1 by endothelial cells in psoriasis and contact dermatitis. *Acta dermato-venereologica. Supplementum*. 1994; 186: 21.
- Terajima S., Higaki M., Igarashi Y., Nogita T., Kawashima M. An important role of tumor necrosis factor- $\alpha$  in the induction of adhesion molecules in psoriasis. *Arch Derm Res*. 1998; 290: 246—252.
- Cabrija L., Batinac T., Lenkovic M., Gruber F. The distinction between lesional and non-lesional skin in psoriasis vulgaris through expression of adhesion molecules ICAM-1 and VCAM-1. *Medical hypotheses*. 2009; 72: 327—329.
- Фриго Н.В., Кубанов А.А., Знаменская Л.В. Молекулярные маркеры в прогнозировании клинической эффективности имфликсимаба у больных псориазом. *Вестн. дерматол. и венерол.* 2010; 1: 57—66.
- Gudjonsson J.E., Johnston A., Dyson M., Valdimarsson H., Elder J.T. Mouse models of psoriasis. *J Invest Derm*. 2007; 127: 1292—1308.
- Sano S., Chan K.S., Carbajal S., Clifford J., Peavey M., Kiguchi K., Itami S., Nickoloff B.J., Digiovanni J. Stat3 links activated keratinocytes and immunocytes required for development of psoriasis in a novel transgenic mouse model. *Nature medic*. 2004; 11: 43—49.