

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS

A PIKKELYSÖMÖR KLINIKAI, BIOKÉMIAI,
IMMUNOLÓGIAI ÉS GENETIKAI
JELLEGZETESSÉGEINEK VIZSGÁLATA

Dr. Gyulai Rolland



Pécsi Tudományegyetem, ÁOK

Bőr-, Nemikórtani és Onkodermatológiai Klinika

PÉCS

2016

Mottó: A csodálkozás a tudás magja

Francis Bacon

TARTALOMJEGYZÉK

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE.....	5
1. ELŐSZÓ	7
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	8
2.1. Bevezetés, a pikkelysömör jelentősége, a betegség által okozott terhek	8
2.2. A pikkelysömör és a pikkelysömör kezelésének történeti áttekintése.....	9
2.3. A pikkelysömör klinikai jellemzői, tünetei	9
2.3.1. A pikkelysömör bőrtünetei, klinikai megjelenési formái	10
2.3.2. A pikkelysömör körömtünetei	12
2.3.3. A pikkelysömörhöz társuló komorbiditások.....	12
2.3.4. A pikkelysömör provokáló faktorai	15
2.3.5. A pikkelysömör súlyosságának meghatározása.....	16
2.4. A pikkelysömör genetikai háttere.....	17
2.4.1. Familiáris halmozódás és öröklésmenet.....	17
2.4.2. Psoriasisra hajlamosító gének.....	17
2.4.3. Arthritis psoriatica kialakulására hajlamosító gének	19
2.5. A pikkelysömör immunpatogenezeise	19
2.5.1. A pikkelysömörös bőr immunhisztológiai jellegzetességei	19
2.5.2. A veleszületett immunrendszer szerepe a tünetek iniciációjában.....	20
2.5.3. A T-sejtek szerepe a plakk fenntartásában	21
2.5.4. A hám barrier és a bőr funkcionális károsodásának jelentősége.....	21
2.5.5. A pikkelysömör patogenezisének komplex modellje	22
2.6. A pikkelysömör kezelése	22
2.6.1. A psoriasis kezelésében alkalmazott lokális készítmények	22
2.6.2. A psoriasis kezelésében alkalmazott fizikai eljárások – fényterápia.....	23
2.6.3. A psoriasis kezelésében alkalmazott szisztémás készítmények	24
3. CÉLKITŰZÉSEK.....	28
4. MÓDSZEREK	29
4.1. Betegek, kontrollok, kísérleti állatok	29
4.1.1. Humán vizsgálatok	29
4.1.2. TRPA1 KO és kontroll egerek	32
4.2. Klinikai vizsgálatok és kérdőíves felmérések	32
4.2.1. Kelet Európai psoriasisos betegeken végzett felmérés	32
4.2.2. A dohányzás szerepe a periodontitis kialakulásában psoriasisban	32
4.2.3. A methotrexát kezelés klinikai gyakorlatának felmérése psoriasisban	33
4.3. Sejtek szeparálása, sejtkultúra, proliferációs vizsgálatok	33
4.3.1. T-sejtek, antigén prezentáló sejtek, bőr sejtek szeparálása	33
4.3.2. T-sejt proliferációs kísérletek	34
4.3.3. Sejtosztódási vizsgálatok	34
4.4. Molekuláris biológiai vizsgálatok	35
4.4.1. RNS, DNS izolálás	35
4.4.2. PCR, RT-PCR	35
4.4.3. Polimorfizmus vizsgálatok	35
4.5. Áramlási citometriás vizsgálatok	36

4.6.	Gyengített teljes reflexiós Fourier transzformációs infravörös (ATR-FTIR) spektroszkópia .	37
4.7.	ELISA vizsgálatok.....	37
4.7.1.	Citrullinált peptidok koncentrációjának meghatározása.....	37
4.7.2.	II. típusú szolubilis IL-1 receptor (sIL-1R2) koncentráció meghatározása	37
4.7.3.	TNF, TNF-inhibitor, anti-TNF-inhibitor antitest koncentráció meghatározása.....	37
4.8.	Imiquimod kiváltotta psoriasis egér modell.....	38
4.8.1.	Psoriasiform bőrgyulladás kiváltása imiquimod segítségével	38
4.8.2.	Hátbőr duzzadás (ödéma/infiltráció) mértékének meghatározása.....	39
4.8.3.	A bőrszövet perfúziójának mérése	39
4.8.4.	Lépmegnagyobbodás vizsgálata	39
4.8.5.	Szöveti citokin mRNS expressziós vizsgálatok	39
4.8.6.	Szöveti citokin fehérjék meghatározása	40
4.8.7.	Szöveti vizsgálatok	40
4.9.	Statisztikai módszerek.....	41
5.	EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS	42
5.1.	A psoriasis genetikai hátterének vizsgálata	42
5.1.1.	A TNFSF15 gén polimorfizmusainak vizsgálata psoriasisban	42
5.1.2.	Az ERAP1/HLA-C gének polimorfizmusainak vizsgálata psoriasisban	45
5.2.	A pikkelysömör immunpatogenezisének felderítésére irányuló vizsgálatok	51
5.2.1.	A tünetmentes psoriasisos bőr fehérje szerkezetének vizsgálata	51
5.2.2.	A regulátor T-sejtek működésének vizsgálata psoriasisban	57
5.2.3.	A humán Treg sejtek azonosítására és szeparálására alkalmas sejtfelszíni marker azonosítása.....	72
5.2.4.	Az IL-1R expresszió jelentőségének vizsgálata psoriasisos T-sejtek működésében	75
5.2.5.	A bőr TRPA1+ nociceptív neuronjainak szerepe az imiquimod-indukált psoriasiform bőrgyulladásban.....	84
5.3.	A psoriasis klinikai jellemzőinek vizsgálata	94
5.3.1.	A betegség súlyossága, az életminőség és a kezelési szokások felmérése kelet-közép-európai psoriasisos betegeken	94
5.3.2.	A dohányzás szerepe a periodontitis kialakulásában psoriasisban	97
5.3.3.	Citrullinált peptidok vizsgálata psoriasisban és arthritis psoriaticában	101
5.3.4.	A gyógyszer ellenes antitestek szerepének vizsgálata a psoriasis TNF gátló kezelésében	109
5.3.5.	A methotrexát kezelés klinikai gyakorlatának felmérése psoriasisban	116
6.	ÚJ MEGÁLLAPÍTÁSOK	128
7.	AZ EREDMÉNYEK LEHETSÉGES GYAKORLATI ALKALMAZÁSAI.....	130
9.	SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE, TUDOMÁNYMETRIAI ADATOK	131
9.1.	Az értekezés alapjául szolgáló közlemények	131
9.2.	További közlemények, könyvfejezetek	133
9.3.	Tudománymetriai adatok	137
10.	KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	139
11.	IRODALOMJEGYZÉK	140

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

ACPA: anti citrullinated peptide antibody/citrullinált peptid elleni antitest	101
ADA: anti-drug antibody/gyógyszer ellenes antitest	38
ANA: antinukleáris antitest	123
APC: antigen presenting cell/antigén prezentáló sejt	23
AS: spondylosis ankylopoetica	45
ATR-FTIR: gyengített teljes reflexiós Fourier transzformációs infravörös	37
BASDAI: Bath ankylosing spondylitis disease activity index/Bath spondylitis ankylopoetica betegség aktivitási index.....	17
BMI: body mass index/test tömeg index	30
BOP: bleeding on probing/szondázás során észlelt vérzés.....	33
BSA: body surface area/testfelszín érintettség	94
CAL: clinical attachment level/klinikai kapcsolódási szint	33
CARD14: caspase recruitment domain 14.....	18
CASPAR: Classification Criteria for Psoriatic Arthritis	31
CD: cluster of differentiation/differenciálódási klaszter	18
CFSE: carboxyfluorescein succinimidyl ester/karboxifluorescein-szukcinimidilészter	34
CLA: cutaneous leukocyte antigen/kután leukocyta antigén	20
CTLA-4: cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4/citotoxikus T-limfocita asszociált fehérje 4.....	59
DAS28: disease activity score 28/betegség aktivitási érték 28.....	17
DDC: dermal dendritic cell/dermális denritikus sejt.....	84
DLQI: dermatology life quality index/bőrgyógyászati életminőség index	16
DMARD: disease modifying anti rheumatic drug/betegség módosító antireumatikus gyógyszer	110
DR3: death domain receptor 3/halál domén receptor 3.....	44
EDC: epidermal differentiation complex/epidermális differenciálódási komplex.....	18
EGF: epidermal growth factor/ epidermális növekedési faktor	23
ERAP1: endoplasmic reticulum aminopeptidase 1/endoplazmatikus retikulum aminopeptidáz 1.....	18
FBS: fetal bovine serum/borjúsavó	33
FITC: fluoreszcein izotiocianát.....	36
Foxp3: forkhead box P3.....	35
GARP: glycoprotein A repetitions predominant.....	36
GWAS: genome wide association scan/teljes genomra kiterjedő asszociációs vizsgálatok	17
HIV: humán immundeficiencia vírus	123
HLA: humán leukocyta antigén	10
IBD: inflammatory bowel disease/gyulladásos bélbetegség	42
ICAM-1: intercellular adhesion molecule 1/intercelluláris adhéziós molekula 1	20
IFN: interferon	20
Ig: immunglobulin	25
IGRA: interferon gamma release assay/gamma interferon felszabaduláson alapuló teszt.....	123
IL: interleukin.....	14
IL-1R: interleukin-1 receptor	28
IL-23R: interleukin-23 receptor	18
ILC: innate lymphoid cell/veleszületett limfoid sejt	21
KO: knock out/génhiányos	32
LASCA: laser speckle contrast analysis	39
LCE: late cornified envelope/késői szaru köpeny	19
LFA: lymphocyte function-associated antigen/limfocita funkció asszociált antigén	20
LRRC: leucine rich repeat containing/leucin-gazdag ismétlődéseket tartalmazó.....	73
mAb: monoclonal antibody/monoklonális antitest.....	34
MCV: mutated citrullinated vimentin/mutáns citrullinált vimentin	37

MED: minimális erythema dózis	23
MFI: mean fluorescence intensity/átlagos fluoreszcencia intenzitás	80
MHC: major histocompatibility complex/fő hisztokompatibilitási komplex	17
MNAPSI: módosított NAPSI érték	17
MPD: minimal phototoxic dose/ minimális fototoxikus dózis	24
MTX: metothrexat	25
NAFLD: non-alcoholic fatty liver disease/nem alkoholos eredetű zsírmáj betegség	14
NAPSI: nail psoriasis area and severity index/köröm psoriasis felszín és súlyossági index	17
NF- κ B: Nuclear factor kappa B	18
NK-T: natural killer T cell/természetes ölő T-sejt	20
PASI: psoriasis area and severity index/psoriasis felszín és súlyossági index	16
PBMC: peripheral blood mononuclear cell/perifériás vér mononukleáris sejt	33
PCR: polymerase chain reaction/polimeráz láncreakció	32
PD: probing depth/szondázási mélység	33
pDC: plasmacytoid dendritic cell/plazmacitoid dendritikus sejt	20
PE: fikoeritrin	36
PI: plaque index/plakk index	33
PIN: Psoriasis International Network	33
PsA: arthritis psoriatica	13
PSORS: psoriasis susceptibility locus/psoriasisra való fogékonysági lókus	17
PsV: psoriasis vulgaris	17
PUVA: psoralen UV-A	24
RA: rheumatoid arthritis	13
RF: reumatoid faktor	108
ROI: region of interest/kiválasztott terület	39
SC: stratum corneum	51
SNP: single nucleotide polymorphism/egy pontos nukleotid-polimorfizmus	18
TCR: T cell receptor/T-sejt receptor	57
TGF: transforming growth factor/transzformáló növekedési faktor	35
Th: T-helper sejt	18
TLR: Toll-like receptor	20
TM: memória T-sejt	37
TN: naiv T-sejt	37
TNF: tumor nekrosis faktor	14
TNFi: TNF inhibitor	109
TNFSF15: tumor necrosis factor superfamily, member 15/tumor nekrosis faktor szupercsalád, 15. tag	28
TNreg: naiv regulátor T-sejt	37
TRAF3IP2: TNF receptor associated factor 3 interacting protein 2	18
Treg: regulatory T cell/szabályozó T-sejt	21
Tresp: responder T-sejt	34
TRP: tranziens receptor potenciál	28
TRPA1: tranziens receptor potenciál ankyrin 1	28
UV: ultraviolet/ultraibolya	23
VAS: vizuális analóg skála	32
VCAM: vascular cell adhesion molecule/érsejt adhézión molekula	20
WT: wild type/vad típusú	32

1. ELŐSZÓ

Az 1980-as évek végén, orvostanhallgatóként kezdtem el ismerkedni a tudományos kutató munkával. Mivel elsősorban az immunológia érdekelt, a Szegedi Orvostudományi Egyetem Bőrgyógyászati Klinikáján, a Lymphocyta Laborban végeztem első kísérleteimet Dobozy Attila és Hunyadi János professzorok irányítása alatt. Abban az időben a bőrt, mint fizikokémiai barriert tartották számon, immunológiailag jelentéktelen szervnek gondolták, illetve immunológiai működését csak másodlagosnak hitték. Az elmúlt csaknem három évtized során világossá vált, hogy a bőr immunológiai funkciói nem csak a kültakaró homeosztatisz folyamatában illetve megbetegedéseiben fontosak, hanem az egész szervezet integritásának megőrzése szempontjából is alapvetőek. A pikkelysömorről, a betegség patogeneziséről és ezzel párhuzamosan a kezeléséről alkotott ismereteink ez alatt a majd' 30 év alatt alapvető változáson mentek keresztül. A kutatás, a klinikai megfigyelések és a terápiás eredmények elemzése folyamatosan egymásra hatva alakították ismereteinket. A korábban epidermális/keratinocyta betegségként elkönyvelt pikkelysömorről mára igazolódott, hogy a hám barrier működésének károsodása mellett a veleszületett és a szerzett immunitás zavara egyaránt alapvető szerepet játszik a tünetek kialakulásában. A molekuláris biológiai módszerek fejlődése egyre finomabb genetikai eltérések, kapcsoltságok feltárását tette lehetővé psoriasisban is. Bár a betegség okát a mai napig nem sikerült tisztázni, a tünetek kialakításában központi jelentőségű patogenetikai folyamatok feltárása illetve a biotechnológia és az innovatív gyógyszergyártás fejlődése lehetővé tette, hogy napjainkban minden eddiginél hatékonyabban és biztonságosabban lehet kezelni a psoriasis betegeket.

Ugyanakkor a fejlődés számos kihívás és dilemma elé állítja mind a pikkelysömör gyógyítását végző orvost mind a betegség hátterét vizsgáló kutatót. Az immunpatogenetikai ismeretek nélkül a betegek gyógyítására alkalmazott gyógyszerek hatása, esetleges mellékhatásai ma már nem érthetők meg, ezért a kutatási eredmények követése alapvető feladat a gyakorló orvos számára is. Másrészt, az immunrendszer működésébe célzottan beavatkozó készítmények, mint például a citokin-gátló monoklonális antitestek, kivételes lehetőséget biztosítanak a klinikus számára az immunrendszer működésének vizsgálatára.

Doktori értékezésemben a pikkelysömör kutatásában végzett saját eredményeket foglaltam össze, melyek a betegség genetikai hátterének elemzésétől a lehetséges immunológiai eredet vizsgálatán át a klinikai jellemzők analizálásáig terjednek. A betegségről rendelkezésre álló ismereteink bővülése jól példázza az immunológia szépségét és páratlanul gyors fejlődését.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. BEVEZETÉS, A PIKKELYSÖMÖR JELENTŐSÉGE, A BETEGSÉG ÁLTAL OKOZOTT TERHEK

A pikkelysömör (psoriasis) az egyik leggyakoribb, legrégebben ismert emberi bőrbetegség.(1) A pikkelysömör lefolyása krónikus, fellángolásokkal tarkított, a betegség változatos klinikai képet mutat. Klasszikus esetben a tünetek morfológiailag erythema, infiltráció és hámlás kombinációjából állnak össze. Hisztológiailag a betegséget az epidermisz proliferációja, a dermisz kisereinek tágulata, kanyargóssá válása, valamint a kifejezett granulocitás és mérsékelt T-sejtes infiltráció jellemzik. Bár a psoriasis pontos patogenezise jelenleg is ismeretlen, a betegség kialakulását feltehetően a bőr veleszületett immunrendszerének eltúlzott reakciója indítja el. Ezt az 1-es típusú T-helper sejtek bevándorlása, aktiválódása, majd a hámsejtek abnormális proliferációja és differenciálódása követi. A folyamat háttérül citokinek és kemokinek hálózata szolgál, krónikussá válásáért feltehetően a szabályozó T-sejtek kóros működése felelős.(2, 3)

A pikkelysömörösben szenvedők más krónikus és súlyos betegségek, például arthritis psoriatica, szív- és érrendszeri betegségek, metabolikus szindróma, pszichés betegségek, nem alkoholos zsírmáj, Crohn betegség, limfóma szempontjából is veszélyeztetettek.(4, 5) Az arthritis psoriatica a reumatoid arthritis után a második leggyakrabban előforduló gyulladásos ízületi megbetegedés, a szeronegatív spondylarthritisek csoportjába sorolható.(2, 6) A krónikus bőrtünetek és egyéb fizikai károsodások mellett a psoriasis jelentős pszichológiai terhet is ró a betegekre. Hasonlóan más bőrbetegségekhez, a látható bőrelváltozások másokban negatív reakciót válthatnak ki, erre vezethető vissza a betegség kiváltotta pszichés terhek egy része. Ugyanakkor a más krónikus bőrbetegséghez képest is meglepően magas pszichés betegség terhek háttérében részben a betegséggel társuló viszketés és égő érzés állhatnak.(7)

A psoriasis incidenciája a fejlett országokban 1-2 százalékra tehető, de feltehetően etnikai, földrajzi és környezeti tényezők miatt jelentős változatosságot mutat. Előfordulása gyakoribb az egyenlítőttől távolabb fekvő országokban és a kaukázusi rassz tagjai között, míg bizonyos népcsoportokban, így például ausztráliai bennszülötteken és észak-amerikai indiánokon gyakorlatilag nem fordul elő.(8, 9) A pikkelysömör ritka a nyugat-afrikai és észak-amerikai fekete bőrűeken, illetve Japánban. Közép-Európában a pikkelysömör előfordulása 1,5% körüli(10) – ezt alapul véve Magyarországon mintegy 150 ezerre tehető a psoriasisban manifeszt vagy látens módon érintettek száma. A pikkelysömörös férfiak és nők aránya nagyjából azonos, ugyanakkor egy nemrégiben megjelent közlemény szerint a férfiakban a betegség általában súlyosabb formában jelentkezik.(11) Az arthritis psoriatica a legtöbb vizsgálat szerint a psoriasisos betegek kb. 5-10%-át érinti, nemi különbségek az ízületi betegséget tekintve sincsenek. A betegek mintegy 70-80%-a enyhe psoriasisban szenved,

mely külső szerek alkalmazásával általában jól kezelhető.(12) Bár napjainkban megfelelő kezeléssel hosszú távú tünetmentesség érhető el, a pikkelysömör véglegesen nem gyógyítható betegség.

2.2. A PIKKELYSÖMÖR ÉS A PIKKELYSÖMÖR KEZELÉSÉNEK TÖRTÉNETI ÁTTEKINTÉSE

Egyes kutatók szerint a pikkelysömör (psoriasis) is szerepelt a Héber Bibliában tzaraath-ként (lepra) megnevezett bőrbetegségek között, melyeket rágalmazás büntetéseként szabtak ki. A beteget a tünetes periódusban „tisztátalannak” tartották, a tüneteket pedig végül a „kohen”, azaz pap gyógyította meg.(13) A betegség első orvosi leírása az ókori Rómában tevékenykedő Cornelius Celsustól származik. Valószínű, hogy sokáig minden hámlással járó betegségre a görög lepra kifejezést alkalmazták, ami egészen a 18. századig késleltette a pikkelysömör és a lepra egymástól való elkülönítését. Robert Willan (1757 ~ 1812) volt az első, aki a psoriasist egyértelműen önálló entitásként írta le 1808-ban. Willan a betegséget két csoportba osztotta: leprosa grecorum-ként jelölte a hámló tünetekkel járó formát, míg az eruptív, gyulladt változatot psora leprosa-nak nevezte el.(14) A szintén brit Thomas Bateman írta le a psoriasis és az ízületi gyulladás közötti kapcsolatot 1813-ban.(15) A Bécsben dolgozó Ferdinand Hebra használta először a psoriasis elnevezést 1841-ben, és szintén nevéhez fűződik a betegség ma is elfogadott klinikai formájának részletes leírása. A psoriasis szó a görög psora (viszketés) és -iasis (valami által okozott állapot) szavakból ered, jelentése „viszkető állapot”, „viszkető”. A betegség magyar elnevezése Poór Imre bőrgyógyász, egyetemi tanárhoz fűződik, aki 1875-ben, a Gyógyászat című folyóirat hasábjain részletes tanulmányban foglalkozott a betegséggel. A betegség ma is használatos magyar elnevezését – „pikkelysömör” - is feltehetően ő használta először, bár a tanulmányban még a betegség, mint „pikkelyeg” szerepel: „A pikkelyeg, psoriasis, isméje és gyógyítása” (Gyógyászat, 1875). A pikkelysömör kezelésének története is számos tudománytörténeti érdekességet rejt, az antipszoriátikus kezelések között számos kérdéses hatékonyságú és magas toxicitású szert találunk. Ilyen volt például a 18. és 19. században az úgynevezett Fowler oldat, ami mérgező és karcinogén arzén vegyület tartalmazott.(13) A higanyt szintén használták pikkelysömör gyógyítására ebben az időben. Mivel a betegséget fertőzőes eredetűnek gondolták, gyakran kezelték a betegeket ként, jódot vagy fenolt tartalmazó készítményekkel is.(13) Az 20. század első felében terjedt el a kőszénkátrány és az ultraibolya fény alkalmazása, az úgynevezett Goeckerman terápia. Ebben az időben az arthritis psoriatica kezelésére a rheumatoid arthritishez hasonlóan intravénás arany készítményeket alkalmaztak.(16)

2.3. A PIKKELYSÖMÖR KLINIKAI JELLEMZŐI, TÜNETEI

A bőrtünetek mellett az esetek csaknem felében észlelhetők körömváltozások is, valamint a betegek jelentős része panaszodik enyhébb vagy súlyosabb ízületi tünetekről. A pikkelysömör bármely életkorban jelentkezhet, az első megjelenés időpontja szerint azonban

a psoriasis bimodális jelleget mutat. A betegek többségénél (>75%) az első tünetek 40 év alatt (többnyire a 3. évtizedben) jelentkeznek (I. típus), míg a ritkább II. típusban a bőrtünetek idősebb életkorban (jellemzően a 6. évtized során) alakulnak ki (17). A korai formára általában jellemzőek a kiterjedtebb tünetek, kedvezőtlenebb prognózis, családi halmozódás, illetve a humán leukocita antigén (HLA)-Cw6 allél gyakoribb előfordulása. Mások, illetve saját, nem publikált vizsgálataink szerint, míg a korai kezdetű psoriasis hátterében erőteljes genetikai okok állnak, a későbbi életkorban megjelenő psoriasis kialakításában lényegesebbek a környezeti tényezők (pl. obezitás). (17, 18)

2.3.1. A pikkelysömör bőrtünetei, klinikai megjelenési formái

A psoriasis morfológiailag a papulosquamosus betegségek csoportjába tartozik, azaz jellegzetes bőrtünete a hámló papula vagy plakk. A pikkelysömör ötféle, akár életet veszélyeztető általános tünetekkel járó formákban is jelentkezhet: psoriasis vulgaris, inversa, guttata, erythrodermica és pustulosa. A pikkelysömörös léziók általában a környezetüktől élesen elhatároltak, felszínüket leválasztható ezüstös pikkely fedi, a pikkelyek alatt a bőr erythemás, és a tünetek többnyire jellegzetes predilekciós helyeken jelentkeznek. Bár a pikkelysömörös betegek egy része kifejezett viszketésről, ritkábban fájdalomról panaszkodik, ezek többnyire a bőrszárazság következményei – a diagnózis felállításának tehát nem feltétele a szubjektív tünetek megléte. A pikkelyek eltávolításakor a bőrfelszínen pontszerű vérzés észlelhető (Auspitz jel).

Psoriasis vulgaris

A krónikus stacioner psoriasis, másnéven psoriasis vulgaris a leggyakrabban, az esetek mintegy 70-80 százalékában észlelhető klinikai forma. Jellegzetes bőrtünete a krónikusan fennálló, a környezetétől élesen elhatárolt, felszínén ezüstös pikkellyel fedett, a pikkelyek alatt erythemás, papula vagy plakk, amely típusosan a könyökök, a térdék, a hajas fejbőr, a köldök, a keresztcsont és az intergluteális árok területén helyezkedik el (1.A ábra).

Psoriasis inversa

Psoriasis inversáról beszélünk, amikor a tünetek a nagyobb hajlatok területén alakulnak ki. Ilyenkor a hámlás általában minimális mértékű, és csak az élesen körülhatárolt erythemás plakk utal psoriasisra (1.B ábra).

Psoriasis guttata

Guttált psoriasisnak nevezzük az elsősorban a felső testfélre és a végtagok proximális részeire lokalizáltan, kicsiny (0,5-1,5 cm átmérőjű) papulák formájában jelentkező klinikai változatot (1.C ábra). Ez a forma elsősorban fiatal életkorban jelentkezik. Kialakulásában szerepet tulajdonítanak a felsőlégúti streptococcus infekciók során felszabaduló szuperantigéneknek.

Erythrodermia psoriatica

Psoriasisos erythroderma esetén valamennyi bőrfelszín (arc, törzs, végtagok, tenyér, talp) és a bőrfüggelékek is érintettek. A szokásos psoriasisos bőrtünetek mellett ilyenkor általában az

erythema dominálja a klinikai képet, a hámlás ugyanakkor kevésbé kifejezett (1.D ábra). A tünetek jelentkezhetnek kezdettől fogva erythroderma képében, de kialakulhatnak oly módon is, hogy a krónikus stacioner psoriasis fokozatosan átmegy generalizált exfoliatív dermatitisbe (ezért bizonyos esetekben a túlságosan agresszív helyi kezelés tehető felelőssé).

Psoriasis pustulosa

A generalizált pustulosus psoriasis (von Zumbusch) elnevezés egy speciális akut pikkelysömör formára utal, ahol a hirtelen, generalizáltan, 2-3 mm átmérőjű steril pustulák képében jelentkező bőrtüneteket napokig tartó magas láz, általános tünetek (izomgyengeség, leukocytosis, gyorsult süllýedés) kísérik. A láz többnyire rövidebb-hosszabb szüneteket követően jelentkezik, amit gyakran újabb pustulák hulláma kísér. A gennyes hólyagok általában kifejezetten erythemás alapon ülnek, kezdetben kisebb csoportokat alkotnak, később konfluálhatnak. A törzsi lokalizáció mellett nem ritkák a tenyéri-talpi tünetek, illetve a körömágy érintettsége miatt a körömlemezek elvesztése is előfordulhat (1.E ábra). Generalizált



1. Ábra – A psoriasis klinikai megjelenési formái. A. Psoriasis vulgaris. B. Psoriasis inversa. C. Psoriasis guttata. D. Erythrodermia psoriatica. E. Psoriasis pustulosa.

pustulosus psoriasisban a klasszikus bőrtünetek általában nem fedezhetők fel. A betegség a súlyos általános komplikációk, interkurrens fertőzések, szívelégtelenség miatt akár fatális kimenetelű is lehet, ugyanakkor spontán remisszió is előfordulhat. Lokalizált pustulosus psoriasis két formában, tenyéri-talpi elrendeződésben (Barber típus), illetve az ujjak körömpercére lokalizálódóan (acrodermatitis continua Hallopeau) fordulhat elő. Mindkét esetben steril pustula képződést lehet megfigyelni, az általános tünetek azonban hiányoznak.

2.3.2.A pikkelysömör körömtünetei

A psoriasisos esetek csaknem felében körömelváltozások is észlelhetők. Ezek lehetnek egészen minimálisak (pl. pontozottság), de akár a köröm súlyos károsodásáig, a körömlemez elvesztéséig is terjedhetnek. A kéz körmei gyakrabban érintettek, mint a lábkörmek (50% vs. 35%) (19). Az arthritisszel szövődött esetekben nagyon gyakoriak a körömtünetek (87%), és segíthetnek az arthritis psoriatica rheumatoid arthritistől történő elkülönítésében (20, 21).

A morfológiai eltérések a körömrendszer területén zajló patológiai folyamat jellegét, lokalizációját és fennállásának idejét tükrözik. Háromféle fő morfológiai eltérést különböztethetünk meg: 1. A körömlemez pontozottsága. Ez a morfológiai jellegzetesség a proximális körömrödő dorzális oldalán végbemenő keratinizáció zavarának következménye (2.A ábra). 2. A körömlemez alatti sárgás színű foltok („olajfolt” tünet) a körömlemez területén elhelyezkedő psoriasisos papula következtében alakulnak ki (2.B ábra). 3. A köröm teljes destrukciója (onychodystrophia), sárgás keratin-törmelék megjelenése a köröm mátrix érintettség következménye (2.C ábra).



2. Ábra – Jellegzetes körömelváltozások psoriasisban. A. Pontozottság. B. Olajfolt tünet. C. Onychodystrophia.

2.3.3.A pikkelysömörhöz társuló komorbiditások

Az elmúlt évek során egyre több adat gyűlt össze arról, hogy a pikkelysömör nem csak a bőrt, hanem a szervezet egészét érintő megbetegedés. Psoriasisban számos betegség nagyobb gyakorisággal fordul elő, mint a populáció nem pikkelysömörös részében. Az ilyen, úgynevezett komorbid betegségek közé ízületi, kardiovaszkuláris, metabolikus és

idegrendszeri betegségek tartoznak.(22) Ezek a társuló megbetegedések jelentősen hozzájárulnak a pikkelysömör okozta morbiditásához és mortalitásához, illetve, elsősorban a kardiovaszkuláris betegségek révén, a psoriasisos betegek rövidebb várható életkilátásához is.(23) A betegségtársulás hátterében valószínűleg közös genetikai faktorok, gyulladásos mediátorok, citokinek emelkedett szintje, illetve egyelőre ismeretlen okok állhatnak.(24) Ezen komorbiditások szűrése és megfelelő ellátása mára a pikkelysömör holisztikus szemléletű kezelésének szerves részévé vált.(5, 25)

Arthritis psoriatica (PsA)

A PsA a pikkelysömörhöz társuló, rendkívül változatos klinikai megjelenésű ízületi gyulladás.(2) A psoriasisos betegek jelentős része panaszodik enyhébb vagy súlyosabb ízületi tünetekről. Egy közelmúltban megjelent metaanalízis szerint a pikkelysömörös betegek mintegy 24%-nál állítható fel a PsA diagnózisa.(26) Az esetek több mint 80 százalékában a pikkelysömörös bőrtünetek már évekkel az arthritis előtt észlelhetők, ritkán azonban az ízületi tünetek kialakulása meg is előzheti a bőrtünetek jelentkezését.(27) Legújabb adatok szerint a bőrtünetekkel jelentkező psoriasisos betegek között a diagnosztizálatlan PsA esetek aránya meghaladja a 15 százalékot.(28) Egy Németországban végzett felmérés szerint a bőrgyógyászati rendelésen jelentkező betegek egyötödének volt pikkelysömörös arthritise, és ezen betegek több mint felében 5 vagy annál több ízület volt érintett.(29) A hajas fejbőr, a köröm és az intergluteális/perianális területek érintettsége a PsA kialakulása szempontjából magasabb kockázatot jelent.(30, 31)

A PsA változatos klinikai formákban jelentkezhet, és mivel nincs diagnosztikus értékű laboratóriumi vizsgálat, a betegség diagnosztizálására és csoportosítására számos kritériumrendszert alkottak. Az egyik legkorábbi, de még napjainkban is alkalmazott ilyen kritériumrendszert Moll és Wright dolgozták ki, mely a PsA-s betegeket klinikai tünetek alapján 5 alcsoportba osztotta: disztális interphalangeális (DIP), szimmetrikus poliartthritis, aszimmetrikus oligoarthritis és monoarthritis, spondylitis és mutiláló arthritis.(32) Újabban a betegség diagnosztizálására és a tünetek csoportosítására a CASPAR (Classification criteria for psoriatic arthritis) kritériumrendszert javasolják.(33) Az arthritis klinikai lefolyására jellemző, hogy idővel a betegek mintegy 20%-ánál alakul ki súlyos, deformáló ízületi gyulladás, az APs betegek kétharmadánál pedig előbb-utóbb legalább egy ízületben eróziók keletkeznek (34). Kezdetben a tünetek inkább oligoarthritis formában jelentkeznek, melyek később poliartthritisé fejlődnek.(35) Dactylitis és enthesitis az esetek egyharmadában észlelhető. Az ízületek gyulladásos folyamata bizonyos tekintetben hasonló a rheumatoid arthritisben (RA) látottakhoz, de PsA esetén szeronegatív arthritisről van szó. A PsA genetikai háttere, immunpatogeneze és kezelése számos egyezés mellett jelentős mértékben eltér a psoriasis vulgaristól (lásd 2.4., 2.5. és 2.6. fejezeteket).

Szív- érrendszeri betegségek, metabolikus szindróma, nem alkoholos zsírmáj

A pikkelysömörös betegek fokozottan veszélyeztetettek kardiovaszkuláris betegségek és metabolikus szindróma kialakulás szempontjából, és ez a komorbiditás a legjelentősebb tényező a betegek életkilátása szempontjából is.(36, 37) A metabolikus szindróma diagnózisát általában az alábbi komponensből legalább 3 jelenléte esetén lehet felállítani: hasi elhízás, inzulin rezisztencia/emelkedett éhomi vércukorszint, csökkent HDL koleszterin szint, emelkedett triglicerid szint és magasvérnyomás betegség.(38) A metabolikus eltérések általában együtt járnak a cukorbetegség és az érlemezsedés veszélyének növekedésével is. Újabb adatok ugyanakkor arra utalnak, hogy a pikkelysömör a kardiovaszkuláris betegségek szempontjából független rizikó tényezőnek tekinthető, még a metabolikus szindróma komponenseire történő korrekciót követően is.(39) A kardiovaszkuláris mortalitás növekedésének magyarázatára újabban az úgynevezett „psoriasisos menetelés” hipotézist vetették fel.(40) Az elmélet szerint a pikkelysömörös betegekben a krónikus gyulladás inzulin rezisztencia kialakulásához vezet, ami az endotél sejtekből csökkent mennyiségű nitrogén monoxid (NO) felszabadulását eredményezi. Ez az erek rugalmasságának elvesztéséhez, majd ateroszklerotikus plakkok kialakulásához vezet. Az érlemezsedés pedig végső soron infarktus vagy stroke formájában manifesztálódik a pikkelysömörös betegek esetén.(41)

A nem alkoholos zsírmáj (NAFLD – non-alcoholic fatty liver disease) a metabolikus szindróma hepatikus manifesztációjának tekinthető. A NAFLD a nyugati országokban a leggyakoribb májbetegség, a populáció mintegy harmadát érinti.(42) Az elmúlt években egyre több adat igazolta, hogy a NAFLD gyakrabban (47-59%) fordul elő psoriasisban.(43-45) A NAFLD fokozott rizikójának hátterében feltehetően a metabolikus szindrómához hasonló patogenetikai faktorok játszhatnak szerepet, a betegségtársulás pontos oka azonban nem tisztázott.(46)

Egyéb komorbiditások

A depresszió és az anxiétás gyakorisága pikkelysömörben jelentősen emelkedett mind a populáció nem psoriasisos részét tekintve, mind más bőrbetegségekhez képest.(47-49) Az, hogy a pikkelysömör más bőrbetegségeknél is jelentősebb hatást gyakorol a betegek pszichés státuszára, arra utal, hogy a mentális tünetek hátterében nem egyszerűen a bőrtünetek által okozott szégyenérzet és szociális elszigetelődés áll. Feltételezhető, hogy a betegségtársulás hátterében komplex patogenetikai folyamatok állnak, melyek részei bizonyos gyulladásos citokine, pl. tumor nekrozis faktor (TNF) α , interleukin (IL)-1 β , a hipotalamusz-hipofízis-mellékvesekéreg tengely eltérő működése, illetve a melatonin is.(50)

A Crohn betegekben ötször nagyobb valószínűséggel alakul ki psoriasis, mint a kontroll populációban, illetve a Crohn betegek elsőfokú rokonai között is jóval több a pikkelysömörös beteg.(51, 52) Hasonlóan, a pikkelysömörös betegek esetén pedig a Crohn betegség kialakulásának fokozott veszélyével kell számolni.(53) Ezen túlmenően mindkét betegség hasonló életkorban jelentkezik leggyakrabban, jelentős az átfedés a genetikai hátterükben,

illetve az alkalmazott kezelésekben. Mindezek a két betegség háttérében álló hasonló immunológiai folyamatok szerepét valószínűsítik. A közelmúltban továbbá felvetették, hogy a pikkelysömör és a Crohn betegség közötti kapcsolat a bélflóra változásaira lenne visszavezethető.(54) Ezt az elméletet támogatja, hogy a pikkelysömörös betegek esetén a periodontitis gyakoriságának egyértelmű növekedését írták le – a periodontosist pedig veleszületett immunrendszernek a szájüreg rezidens baktériumaival szembeni válaszának tekintik legújabban.(55)

2.3.4.A pikkelysömör provokáló faktorai

Dohányzás

Régi megfigyelés, hogy a pikkelysömörösök között magasabb a dohányzók száma, illetve, hogy a psoriasis súlyossága összefügghet a dohányzás mértékével. Számos vizsgálat, illetve ezek nemrégiben megjelent metaanalízise szintén alátámasztotta ezt a megfigyelést.(56) A vizsgálat szerint a dohányzás rizikója a pikkelysömörös betegek között 1,88-szor magasabb mint a nem psoriasisosok között, illetve a pikkelysömör súlyossága a dohányzás gyakoriságával arányosan növekszik. Egy szintén nemrégiben publikált ikervizsgálatban hasonló eredményeket figyeltek meg, azaz a dohányzás rizikója 2,18-szoros volt a dohányzók között a nemdohányzókkal összehasonlítva.(57) Feltehető, hogy a dohányzás a pikkelysömörös betegekben egyébként is meglévő oxidatív stressz további fokozásával vezet a tünetek megjelenéséhez illetve súlyosbodásához.(58)

Pszichés stressz

Széles körben elterjedt nézet, hogy a psoriasis megjelenése vagy jelentős rosszabbodása gyakran súlyos pszichés stresszhelyzethez köthető.(59) Tehát a pszichés tényezők nem csak mint a pikkelysömörhöz társuló komorbiditások jelentkezhetnek, hanem a betegség kiváltásában is fontos szerepük lehet. A stressz többségében ismeretlen mechanizmusokkal vezet a pikkelysömör kialakulásához, ugyanakkor az utóbbi időben egyre több adat támasztja alá idegi eredetű tényezők szerepét, nevezetesen az idegek kapcsolatát a bőrben elhelyezkedő hízósejtekkel.(60) Emellett feltehetően a pikkelysömörös betegek pszichés stresszválasza eltér az egészségesekétől, elsősorban a hipotalamusz-hipofízis-mellékvesekéreg tengely működését tekintve.(61)

Infekció

Számos mikroorganizmus (baktérium, vírus, gomba) kapcsolatba hozható a psoriasisal, akár mint azt provokáló, akár mint a klinikai tüneteket rosszabbító tényező. Ezek közül a legszorosabb kapcsolat a *Streptococcus pyogenes* esetén áll fenn, melynek etiológiai szerepét a pikkelysömör akut és krónikus formáinak kialakulásában egyaránt felvetették. Több mint 60 éve vették észre, hogy guttált psoriasis esetén a betegek kétharmadában a kórtörténetben a bőrtüneteket megelőző 1-2 hétben akut felsőlégúti hurut szerepel.(62) Ezt a megfigyelést azóta már számos további vizsgálattal, így streptococcus tonsillából történő izolálásával és

streptococcus ellenes antitestek mérésével is alátámasztották. A baktérium feltehetően úgynevezett szuperantigének útján okozza a pikkelysömör patogenezisében központi jelentőségű T-sejtek aktiválódását, így vezetve a psoriasis bőrtüneteinek megjelenéséhez/rosszabbodásához.(63, 64) A krónikus infekció psoriasist provokáló szerepét alátámasztja az a nemrégiben publikált metaanalízis is, melyben tonsillectomiában részesült psoriasisos betegek adatait elemezték. A vizsgálat szerint a 410 betegből 290 esetén volt megfigyelhető javulás a pikkelysömör állapotában, bár a betegek jelentős részénél a javulás nem volt tartós.(65)

Gyógyszerek

Számos gyógyszerről ismert, hogy alkalmazása fellobbanthatja vagy rosszabbíthatja a pikkelysömört.(66, 67) Fontos ugyanakkor szem előtt tartanunk, hogy a pikkelysömörös betegek jelentős része számos gyógyszert szed, így gyakran nem állapítható meg a szedett gyógyszer és a psoriasis fellépte/rosszabbodása között egyértelmű ok-okozati összefüggés.(68) A psoriasisal leggyakrabban kapcsolatba hozott három gyógyszer a béta blokkolók, az antimaláriás szerek és a lítiumsók csoportja. Feltehetően a különböző gyógyszerek eltérő módon okozzák a pikkelysömör tüneteinek rosszabbodását.

2.3.5.A pikkelysömör súlyosságának meghatározása

Hasonlóan más krónikus betegségekhez, a pikkelysömör súlyosságát is igyekszünk objektív, mérhető formában kifejezni. Ez mind a napi gyakorlat mind a klinikai kutatások szempontjából igen nagy jelentőséggel bír, hiszen többek között csak így határozható meg a betegek optimális kezelése, válnak egymással összehasonlíthatóvá a különböző gyógyszerek. A betegség terheinek felmérésére napjainkban általában együttesen alkalmazzuk az orvos által meghatározott mérőszámokat illetve a beteg által meghatározott indexeket. Az orvosi mérőszámok közül legelterjedtebb az úgynevezett PASI (Psoriasis Area and Severity Index – Psoriasis Felszín és Súlyossági Index), mely a betegség kiterjedtsége mellett az egyes bőrléziók aktivitását (erythema, infiltráció, hámlás) veszi figyelembe.(69) Az index 0-72 közötti értékekkel fejezi ki a pikkelysömör súlyosságát – a 12 feletti értékek már súlyos bőrtüneteket jelölnek. Kevésbé pontos, de egyszerűsége miatt kedvelt mérőszám az érintett testfelszín százalékban történt megadása – itt általában 10% feletti érték már súlyos betegséget jelez. A beteg által megadott mérőszámok közül a gyakorlatban a DLQI (Dermatology Life Quality Index – Bőrgyógyászati Életminőség Index) terjedt el a leginkább. A DLQI 10 kérdéssel (összesen 30 pont) méri a pikkelysömörnek a beteg életminőségére gyakorolt hatását – 5 pont felett a psoriasis jelentős mértékben rontja a beteg éltminőségét. Mind az orvos, mind a beteg által mért indexek alkalmasak nem csak a pikkelysömör állapotának felmérésére, hanem az egyes terápiák során elért változások mérésére is. Míg korábban az úgynevezett PASI50 (azaz a PASI érték kiindulási állapothoz viszonyított legalább 50%-os javulása) elérése volt

általában kívánatos a betegek kezelése során, napjainkban a mind hatékonyabb antipszoriátikus terápiák megjelenésével a PASI75 illetve PASI90 értékek (azaz a PASI érték legalább 75%-os illetve 90%-os javulása) is reális céllá váltak.(70) A főként csak bőrtünetekkel rendelkező betegek felmérésére alkalmas PASI és DLQI mellett számos, a psoriasis egyéb tüneteinek felmérésére kifejlesztett index létezik. Ilyen például a körömtünetek súlyosságát leíró NAPSÍ (Nail Psoriasis Area and Severity Index – Köröm Psoriasis Felszín és Súlyossági Index) és módosított (MNAPSÍ) érték.(71) Az arthritis psoriatica súlyosságának felmérésére a reumatológiában más ízületi gyulladásal járó betegségeknél is alkalmazott mérőszámok, az úgynevezett DAS28 (Disease Activity Score 28 – Betegség Aktivitási Érték 28) és a BASDAI (Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index – Bath Spondylitis Ankylopoetica Betegség Aktivitási Index) terjedtek el.(72)

2.4. A PIKKELYSÖMÖR GENETIKAI HÁTTERE

2.4.1. Familiáris halmozódás és öröklésmenet

Mind a psoriasis vulgaris (PsV) mind az arthritis psoriatica erőteljes genetikai meghatározottságot mutat. Egypetűjű ikrekben a PsV 50-90%, a PsA 80-100%, kétpetűjű ikrek esetén a PsV 20% körüli öröklődést mutat.(73-75) Az a tény, hogy a konkordancia monoizigóta ikrek esetén sem éri el a 100%-ot, mind a PsV mind a PsA esetén a környezeti tényezők részleges patogenetikai jelentőségére utal.

Azokat a kromoszóma szakaszokat, melyekről úgy gondolták, hogy psoriasis géneket tartalmaznak, PSORS (psoriasis susceptibility – psoriasisra való fogékonyság) lókusznak nevezték el. Jelenleg 12 különböző PSORS lókuszt ismerünk, melyek legnagyobb részét kapcsoltsági analízis alkalmazásával fedezték fel pikkelysömörös családokban.(76) A legtöbb PSORS lókuszt esetén azonban nem ismert a hajlamossító gén vagy gének.

Az utóbbi 10 év során úgynevezett GWAS (Genome Wide Association Scan – teljes genomra kiterjedő asszociációs vizsgálatok) alkalmazásával számos új psoriasisra hajlamossító gén polimorfizmust sikerült azonosítani. Ezek többsége a T-sejtes illetve a veleszületett immunitással, kisebb részük a hám felépítését biztosító strukturális fehérjékkel áll összefüggésben.(77, 78)

2.4.2. Psoriasisra hajlamossító gének

HLA és antigén prezentációval kapcsolatos gének

Az elsőként azonosított PSORS lókuszt a 6. kromoszómán található PSORS1 volt.(79) A fő hisztokompatibilitási komplex (MHC) régióján belül található génszakasz jelentőségét azóta számos, eltérő populációban elvégzett vizsgálat alátámasztotta.(80) A PSORS1, illetve az azzal szoros kapcsoltsági viszonyban álló három allél (HLA-Cw6, HRC*WWCC és a HLA-asszociált S gén) jelenléte a pikkelysömörös esetek felében kimutatható.(81, 82) A legnagyobb és legkövetkezetesebb asszociáció a HLA-Cw0602 vonatkozásában áll fenn, mintegy

háromszoros relatív rizikót eredményezve. A HLA-Cw6 az egészséges populációban mintegy 4-16%-ban, a psoriasisos betegek 20-50%-ban van jelen (a vizsgált populációtól függően).(83) A HLA-Cw6 egy MHC I allélt kódol, így alapvető szerepet játszik a CD 8+ T-sejtek aktiválásában. Ezen allél jelenléte egyes altípusok asszociációjával (pl. korai, 40. életév előtti megjelenés, guttált psoriasis) jár.(77, 84)

Az ERAP1 (Endoplasmic Reticulum Aminopeptidase 1 – endoplazmatikus retikulum aminopeptidáz 1) nevű, szintén az antigén prezentációval összefüggésben álló fehérje génjének polimorfizmusai ugyancsak a pikkelysömörre hajlamosító tényezőnek bizonyultak egy nemrégiben elvégzett GWAS vizsgálatban.(83) Az ERAP1 fontos szerepet tölt be a peptidek feldolgozásában és az MHC I-be történő betöltésében, így kapcsolata a pikkelysömörrel nem meglepő.

Az IL-12/IL-23 útvonal génjei

Az IL-12/IL-23 útvonal tagjai és a psoriasis kapcsolatát számos vizsgálat igazolta. Mind az IL-23 citokin alegységeit kódoló géneken, mind az IL-23 receptor (IL-23R) génjén több, a psoriasisal összefüggésben álló SNP-t (single nucleotide polymorphism – egy pontos nukleotid-polimorfizmus) is találtak. (85-87) A legkonzekvensőbb kapcsoltságot mutató IL-23R SNP egy R381Q szubsztitúciót kódol, ahol a ritkább Q allél csökkent IL-23 jelátvitelt eredményez, ezért az SNP számos immunmediált betegséggel, így a psoriasisal szemben is protektív.(88)

A TYK2, JAK2 és STAT3 molekulák ugyancsak az IL-12/IL-23 receptorokkal kapcsolatosak, mivel ezek szükségesek a receptorok jelátviteli funkciójához. Így nem meglepő, hogy mindhárom fehérje génjein található a pikkelysömörrel asszociált SNP-k.(83, 89, 90)

T-sejtek fejlődésével, differenciálódásával kapcsolatos gének

Az egyik legalaposabban vizsgált psoriasisra hajlamosító génszakasz, a PSORS2, a 17q25 régióban található. A PSORS2-n belül és közelében több olyan gén (SLC9A3R1, NAT9, RUNX3, RUNX1) is található, mely az immunrendszer sejtjeinek fejlődésében és működésében is fontos fehérjét kódol, azaz potenciálisan a pikkelysömörre való hajlamért is felelős lehet (91, 92).

A veleszületett immunitással kapcsolatos gének

A T-helper (Th)17 sejtek mellett egyre több adat támasztja alá a veleszületett immunrendszer jelentőségét is psoriasisban. Ezen gének által kódolt fehérjék közül több is az NF-κB (nuclear factor kappa B) jelátviteli útvonallal áll kapcsolatban, így például a c-Rel,(93) a TRAF3IP2 (TNF receptor associated factor 3 interacting protein 2),(94) vagy a PSORS2 lókuszon található CARD14.(90)

A bőr strukturális fehérjéinek génjei

A PSORS4 lókusz az úgynevezett epidermális differenciálódási komplex (EDC) régió belül helyezkedik el. Ez a régió különleges jelentőséggel bír psoriasisban, ugyanis tartalmaz

számos olyan gént, amely az epidermis felső részében fejeződik ki. Az EDC magában foglalja az LCE (late cornified envelope – késői szaru köpeny) gén klasztert is, mely a stratum corneum illetve a szaruköpeny fehérjéit kódolja, ezáltal az epidermis terminális differenciálódásában feltehetően fontos szerepet játszik.(95) Az LCE3 géneken észlelt, psoriasis és arthritis psoriaticával asszociált eltérések befolyásolhatják a keratinocyták terminális differenciálódását, ezáltal részt vehetnek a betegség tüneteinek kialakításában. (95, 96)

2.4.3.Arthritis psoriatica kialakulására hajlamosító gének

A 6-os kromoszóma rövid karján lévő MHC régióban elhelyezkedő HLA B13, B17, B57 és Cw6 mutatja a legerősebb asszociációt a PsA-val. Valószínű, hogy az MHC psoriasisval való asszociációja a HLA-C régióhoz, míg az arthritisszel való asszociáció a HLA-B régióhoz közel vagy abban helyezkedik el.(77, 84)

2.5. A PIKKELYSÖMÖR IMMUNPATOGENEZISE

A pikkelysömör patogenezise komplex folyamat, melynek során genetikailag predispónált egyénekben különféle iniciáló hatásokra sejtek és citokinek dinamikus interakciójának eredményeként a bőr immun-homeosztázisa felbomlik.

2.5.1.A pikkelysömörös bőr immunhisztológiai jellegzetességei

A pikkelysömörös plakk mikroszkópos vizsgálata mind az epidermisben mind a dermis felső részében kifejezett, csaknem valamennyi sejtípust érintő rendellenességeket tár fel. A szövettani eltérések közül a legjellegzetesebb az epidermális keratinocyták hyperproliferációja és hyperkeratosisa következtében kialakuló epidermális megvastagodás (acanthosis), a T-sejtek és egyéb immunológiai aktív sejtek infiltrációja, illetve a dermális erek megnyúlása, kanyargóssá válása.(97) Az alapi keratinocyták mitotikus aktivitása pikkelysömörben 50-szeresére fokozódik, ami azt eredményezi, hogy a hámsejtek a normális 28-30 nap helyett mindössze 3-5 nap alatt elérik a szaruréteget. A lerövidült érési idő kóros differenciálódással párosul, ami szövettanilag a stratum granulosum hiányaként, valamint parakeratosis (magot tartalmazó sejtek a szarurétegben) formájában jelentkezik. Az oedemás dermis megnyúlt papilláinak csúcsáig érő kapillárisok mérete és száma is nagyobb, ami részben dilatáció, részben újér-képződés következménye. Mind a dermisben, mind az epidermisben kevert jellegű, lymphocytákból, macrophagokból és neutrophilekből álló beszűrődés észlelhető. Jellegzetesek az úgynevezett Munro-féle mikroabscessusok: neutrophil granulocyták gyülemei az epidermisben, a szaruréteg alatt.

A pikkelysömörös bőrben immunhisztológiai vizsgálattal számos protein fokozott vagy csökkent kifejeződése figyelhető meg. A keratinocyták által termelt fehérjék egy része a sejtek fokozott osztódási állapotában játszhat szerepet (pl. keratin 6 – keratin 16 heterodimer, hősokk fehérjék), míg mások az antigén-felismerésben vagy a fehérvérsejtekkel való kapcsolat

biztosításában lehetnek fontosak (MHC II, ICAM-1). A pikkelysömörös dermis kanyargós ereinek falában az endothelsejtek fokozott ICAM-1, E-szelektin, érsejt adhéziós molekula (VCAM - vascular cell adhesion molecule)-1 és MHC II expressziója egyfelől jelzi a sejtek aktivált állapotát, másrészt biztosítja a fehérvérsejtek és más immunológiai aktív sejtek kilépését az érpályából a bőrbe (98). A psoriasisos plakk gyulladásos sejteinek többsége után leukocita antigént (CLA - cutaneous leukocyte antigen) expresszáló, azaz a bőrbe kivándorolni képes CD3+ T-lymphocytá. A CD3+ populáción belül a CD4+ és CD8+ sejtek aránya átlagosan 1:2 (99). Míg a CD8+ lymphocyták csaknem kizárólag az epidermisben helyezkednek el, a CD4+ T-sejtek egyenletesen oszlanak el a dermisben és az epidermisben (100). A fehérvérsejtek többsége memória sejt, és aktivált állapotban van, amit kostimulátor molekulák (pl. CD2), adhéziós molekulák (pl. LFA [lymphocyte function-associated antigen/limfocita funkció asszociált antigén]-1), citokin receptorok (pl. IL-2 receptor) fokozott kifejeződése is jelez. A psoriasisos plakkban a T-sejtek mellett jelentős számú neutrophil granulocytá, hízósejt és aktivált dendritikus sejt is található.(101, 102)

2.5.2. A veleszületett immunrendszer szerepe a tünetek iniciációjában

Bár a psoriasisos bőrtünetek kialakulásának pontos mechanizmusa nem ismert, a kezdeti fázisban külső provokáló tényezőknek is nagy jelentősége van. A provokáló tényezők között fizikai trauma, fertőzések, és gyógyszerek is szerepelhetnek. Ezek a behatások feltehetően a veleszületett immunrendszer aktiválásán keresztül vezetnek a pikkelysömörös tünetek kialakulásához az arra fogékony egyéneknél. Fizikai sérülés hatására például az LL37 nevű antimikrobiális peptid szabadul fel a keratinocitákból. Az LL37 a sérülések alkalmával ugyancsak felszabaduló saját vagy patogén eredetű DNS-sel komplexet képez, mely a plazmacitoid dendritikus sejteket (pDC) a Toll-like receptor (TLR)9-en keresztül aktiválja.(103, 104) Az aktivált pDC-k által termelt citokinek pedig a myeloid dendritikus sejtek közvetítésével már a T-sejt-mediált immunválasz irányába terelik az gyulladásos reakciót. A veleszületett immunrendszer aktiválódása során termelődő citokinek közül legfontosabb a TNF α és az IL-1 α . Míg az IL-1 α funkciója pikkelysömörben nem tisztázott, a TNF α egyértelműen a psoriasis patogenezisének egyik központi szereplője. A TNF α szintje emelkedett mind psoriasisos bőrben, mind az arthritis psoriaticás betegek synovialis folyadékában.(105) A TNF α hatásai szerteágazóak, és maga is képes számos más citokin (pl. IL-1, IL-2, IL-4, IL-8, IL-10, IL-12, IL-18, γ -interferon [IFN]) indukálására. A TNF α forrása psoriasisban pontosan nem ismert, de valószínűnek látszik, hogy számos sejt (keratinocyták, T-sejtek, neutrophilek, monociták, macrophágok, NK-T(természetes ölő T)-sejtek és a CD11c+ dendritikus sejtek) is termelhetik. Az sem tisztázott, hogy mi vezet a kóros mértékű TNF α termeléshez, de ennek egyik lehetséges magyarázatául szolgálhat a TNF α gén promóter régiójának -238 pozíciójánál lévő polimorfizmus (106). Bár gyulladáskeltő hatásai alapján a TNF α -ról régóta feltételezték

részvételét a pikkelysömör kialakulásában, a hipotézis legmeggyőzőbb bizonyítékát a TNF α hatásait gátló gyógyszerek kiemelkedő antipszoriaticus hatékonysága szolgáltatta.

2.5.3. A T-sejtek szerepe a plakk fenntartásában

A pikkelysömört – bár kialakulásában számos tényező fontos szerepet játszik – elsődlegesen a T-sejtek és a keratinociták által közvetített betegségnek tekintjük. A T-sejtek központi jelentőségére utal a betegség szoros asszociációja a HLA-Cw6 alléllal, valamint a GWAS eredmények erős kapcsolata a Th17 útvonal citokinjeivel. Feltehető, hogy a provokáló faktorok által aktiválódott myeloid DC-k a nyirokcsomóba vándorolnak, citokineket bocsátanak ki, melyek aktiválják a T-sejteket. A T-sejtek jelentőségének egyik legfontosabb bizonyítéka a lymphocyta-specifikus cyclosporin antipszoriaticus hatásának felfedezése volt (107). A psoriasisos CD4+ T-sejtek elsősorban Th17 (pl. IL-17, IL-22) és Th1 citokineket (pl. IFN γ) termelnek, a Th2 citokinek (pl. IL-4, IL-10) expressziója jelentősen csökkent. Bár a T-sejtek fokozott aktiválódásának és proliferációjának oka nem ismert, T-sejt receptor variabilitási vizsgálatok alapján elképzelhető, hogy valódi antigén-specifikus aktivációról van szó. (108) Lehetséges psoriasis antigénként számos fehérje (pl. az úgynevezett stratum corneum antigén és humán papilloma vírus 5 antigén) szóba került, ezek patogenetikai szerepét azonban nem sikerült igazolni. Ugyanakkor a gyakran észlelt T-sejt poliklonalitást a bakteriális szuperantigének okozta aktiváció magyarázhatja. A pikkelysömörös T-sejtek kóros aktivációjának egy újabb lehetséges magyarázata a CD4+CD25+ szabályozó T-sejtek (Treg) hibás működése. (99) Az immunológiai válasz normális lecsengésének károsodása hozzájárulhat a psoriasisban észlelt kóros T-sejt aktiváció önfenntartóvá válásához. A közelmúltban írták le egy új immunsejt-típus, a limfoid vonalból származó, de antigén-specifikus receptorokat nem hordozó, IL-17 és IL-22 termelésére képes ILC (innate lymphoid cell/veleszületett limfoid sejt)3 sejtek szerepét a pikkelysömör patogenezisében. (109-111)

2.5.4. A hám barrier és a bőr funkcionális károsodásának jelentősége

Bár a fenti kísérletek a T-sejtek központi szerepét támasztják alá, kétségtelen, hogy azok csak megfelelő, „psoriasisra hajlamosító” környezetben képesek a tünetek kialakítására. Pikkelysömörben az osztódási folyamatban részt vevő keratinocyta-össejt populáció nagyobb, mint normál bőrben. (112) Bata-Csörgő és munkatársai igazolták, hogy a psoriasisos T-sejtekből felszabaduló Th1 citokinek megfelelő kombinációja fokozza a pikkelysömörös hámsejtek osztódását. (113) A tünetmentes psoriasisos bőr keratinocytái tehát „aktivált” állapotban vannak, amiért a proliferáló hámsejtek fokozott extra domain A+ fibronectin termelése lehet felelős. (114) A keratinocyták ugyanakkor számos proinflammatorikus citokint és kemokint (IL-8, growth-regulated oncogene- α , S100A7/ A8/A9 proteinek) termelnek, melyek neutrophil granulocytákat, T-sejteket aktiválhatnak vagy irányíthatnak a bőrbe, így kialakul egy önfenntartó gyulladásos kör a pikkelysömörös bőrben. A közelmúltban több genetikai és

funkcionális vizsgálat igazolta, hogy a hám barrier funkciójának kialakításában részt vevő fehérjék közül az LCE család több tagja is szerepet játszik a psoriasis patogenezisében.(115, 116)

2.5.5.A pikkelysömör patogenezisének komplex modellje

Mindezen ismeretek alapján a pikkelysömör patogenezisét jelenleg komplex folyamatnak tartjuk, melynek első lépése feltehetőleg a bőr veleszületett immunrendszerének túlméretezett lokális reakciója egy ismeretlen ingerrel szemben. A keratinocyták, granulocyták, NK-T-sejtek és dendritikus sejtek által elindított reakcióba később kapcsolódnak be a citokinek és kemokinek hatására odavándorló (főként Th17-es típusú) T-sejtek, melyek maguk is jelentős citokin (TNF α , IFN γ , IL-1 α) -forrássá válnak. A psoriasisos hámsejtek fokozott proliferációval és kóros differenciálódással reagálnak a felszabaduló citokinekre, és kialakul a jellegzetes hyperkeratotikus pikkelysömörös plakk. A tünetek krónikussá válását az immunreakciók lecsengéséért felelős Treg sejtek nem megfelelő működése, vagy a kiváltó ok folyamatos jelenléte magyarázhatja.

2.6. A PIKKELYSÖMÖR KEZELÉSE

A psoriasis kezelésére választandó stratégiát alapvetően a bőrtünetek kiterjedtsége, azok lokalizációja és jellege, illetve az egyéb kísérő tünetek (elsősorban az arthropathia) jelenléte és súlyossága határozza meg. Ezen elsődleges kritériumok mellett számos további szempontot is figyelembe kell vennünk (például a beteg életkora, általános egészségi állapota, kísérő betegségei és rendszeresen szedett gyógyszerei, életminőségbeli állapota és elvárásai, pszichológiai státusza, korábbi kezeléseinek eredményessége, életmódja, a választandó kezelés kényelmi szempontjai). A kezelést általában individuálisan, a beteg tüneteire szabva, a kontraindikációkat szem előtt tartva állítja be a kezelő orvos. A kezelési modalitásokat helyi, szisztémás és fénykezelésekre, illetve ezek különböző kombinációira lehet lebontani.

2.6.1.A psoriasis kezelésében alkalmazott lokális készítmények

Amennyiben csak a testfelület kevesebb, mint 5 százaléka érintett, elsősorban helyi kezelés jön szóba. Az aktív kezelés elkezdése előtt általában a megvastagodott, hyperkeratotikus pikkely eltávolítására is szükség van, erre az 5-10% salicylsavat vagy tejsavat tartalmazó kenőcsök kiválóan használhatóak. Aktív hatóanyagként dithranolt, közép-erős, erős vagy ultraerős hatású kortikoszteroidokat, retinoidokat, illetve D3-vitamin analógokat (calcipotriol) alkalmazunk. Amennyiben az érintett testfelület kiterjedése meghaladja a testfelület 5%-át, de nem éri el a 20%-ot, a helyi terápia mellett általában fénykezelést vagy valamilyen szisztémás szert is be kell állítanunk.

A *dithranol* kezelés ma is az egyik leghatékonyabb terápiás modalitás pikkelysömörben, de a járóbeteg ellátásban való alkalmazhatóságát megnehezíti a kezelés kényelmetlensége, illetve

a mellékhatásaként gyakorta jelentkező lokális irritatív dermatitis. A dithranol kezelés hatásmechanizmusa nem pontosan tisztázott. Annyi bizonyos, hogy a szer gátolja a keratinocytá prolifrációt, csökkenti az epidermális növekedési faktor (EGF) receptorok számát, fokozza az IL-10 receptorok kifejeződését keratinocytán, csökkenti a granulocyták aktivációját, és feltehetően indukálja az aktivált T-sejtek apoptosist (117, 118). A dithranol alkalmazására több kezelési sémát is kidolgoztak, ezek közül napjainkban leggyakrabban az úgynevezett rövid kontakt sémát alkalmazzák. Ennek során a dithranolt tartalmazó kenőcsöt fokozatosan emelkedő (0,1%-10%) koncentrációban 30 percre viszik fel a pikkelysömörös plakkokra. A dithranol a környező tünetmentes bőrben irritatív dermatitist okoz, és a bőrt és a körmöt barnára színezheti. A dithranol gyorsan bomló vegyület, ezért a kenőcsnek minden esetben konzerváló szert (pl. 2% szalicilsav) is tartalmaznia kell.

A *kortikoszteroidok* a gyulladásos folyamatok fenntartásában szerepet játszó csaknem valamennyi sejtre (T-sejtek, antigén prezentáló sejtek [APC], keratinocyták) gátló hatást fejtenek ki, így a psoriasisos gyulladást is gyorsan és hatékonyan csökkentik. A szteroid kezelésnek azonban számos mellékhatása van (bőratrophia, teleangiectasiák kialakulása, szteroid acne, stb.), a kezelés elhagyásakor pedig a psoriasisos bőrtünetek gyors kiújulásával kell számolni. A lokális kortikoszteroid készítmények az egyik leghatékonyabb, kozmetikailag is jól tolerálható készítmények, ezért napjainkban a leggyakrabban alkalmazott antipsoriasis szerek. Fontos megjegyezni, hogy a gyors kiújulás veszélye miatt (úgynevezett rebound effektus) a szteroidok szisztémásan csak kivételes esetekben és átmenetileg alkalmazhatóak pikkelysömörben.

A *D3-vitamin* származék calcipotriol immunmoduláló hatását használjuk ki a pikkelysömör kezelésében. A calcipotriol antipsoriasis hatásere ssége megegyezik a közepesen potens kortikoszteroidokéval, a calcipotriol mellékhatásai azonban lényegesen enyhébbek. A calcipotriol készítmények kozmetikailag kiválóan tolerálhatóak, ezért szintén a gyakran alkalmazott pikkelysömör elleni készítmények közé tartoznak.

A helyi *retinoid* készítmények hatásossága elmarad a közepesen erős kortikoszteroid, illetve D3-vitamin készítményektől, ugyanakkor alkalmazásuk során az esetek többségében jelentős lokális irritáció jelentkezik. Éppen ezért a retinoidok nem terjedtek el lokális készítményként a pikkelysömör kezelésében. (A retinoidok hatásmechanizmusát lásd a szisztémás szereknél.)

2.6.2. A psoriasis kezelésében alkalmazott fizikai eljárások – fényterápia

A szűk spektrumú ultraibolya (UV)-B fototerápia kedvező hatását a bőrben lévő T-sejtek apoptosist indukálva fejt ki, ezért viszonylag gyors és tartós remissziót eredményez. A gyakorlatban először a beteg úgynevezett minimális erythema dózisát (MED) határozzuk meg, majd ennek 70 százalékával kezdjük a terápiát. Amennyiben nincs erythema, az alkalmazott dózis 30-40%-kal, kismértékű bőrvörösség esetén 15-20%-kal emelhető tovább. Mérsékelt,

tünetekkel nem járó erythema optimális terápiás effektust eredményez, ilyenkor nincs szükség a dózis módosítására. Fájdalmat okozó bőrpír esetén viszont ajánlatos a kezelést az erythema mérséklődéséig szüneteltetni, majd a korábbi dózis felével folytatni. A kezelést általában hetente 3-4 alkalommal végezzük, majd a tünetmentesség elérése (4-8 hét) után heti 1-2 kezelésre csökkentjük, vagy más fenntartó terápiára térünk át. Az UV-B kezelés rövid távú mellékhatásaként erythema és pruritus jelentkezhet, ami lokális kortikoszteroidokkal, emolliensekkel és antihisztamin adásával általában jól kontrollálható. Hosszú távú kezelés során számolni kell aktinikus bőrkárosodás megjelenésével (pl. soláris elastosis, bőrráncosodás, hypo- és hyperpigmentáció), illetve az ultraibolya fény potenciális karcinogén hatásaival.

PUVA (psoralen UV-A) kezelés során az UV-A fototerápia hatékonyságát szisztémásan vagy lokálisan alkalmazott fényérzékenyítő anyaggal, psoralennel fokozzuk. Terápiás effektusa az UV-B kezeléshez hasonló elveken alapul. A PUVA kezelés kiválóan alkalmazható gyors remisszió indukálására, de fenntartó kezelésként nem megfelelő. Orális PUVA esetén 0,6-0,8 mg/tskg psoralen bevitelét követően 1-2 órával sugarazzuk be a bőrt. A szisztémás mellékhatások mérséklése érdekében a psoralent lokálisan (pl. fürdővízbe keverve vagy kenőcsben) is alkalmazhatjuk. A kezdő terápiás UV-A dózist meghatározhatjuk az úgynevezett minimális fototoxikus dózis (MPD) alapján is (ennek 70%-át véve), a gyakorlatban azonban az első kezelés során általában 1 J/cm² besugárzást alkalmazunk. A dózist ezt követően fokozatosan, 0,5-1,5 J/cm²-rel emeljük, a kifejezett bőrpír kialakulását azonban kerülni kell. A kezeléseket hetente 3-4 alkalommal, a tünetmentesség eléréséig (ehhez általában 100-200 J/cm² összdózis szükséges) végezzük. A PUVA terápia mellékhatásai hasonlóak, de valamivel kifejezettebbek mint a székspektrumú UV-B kezelésé. Orális psoralen alkalmazás esetén a fényérzékenység a gyógyszer bevitelét követő 8-12 órán át fennáll, ezért ebben az időszakban a bőr és a szem fokozott fényvédelme elengedhetetlen. A PUVA karcinogén hatása nagyobb számú (200 feletti) kezelés után, elsősorban carcinoma spinocellulare képében jelentkezik. (119-121)

2.6.3. A psoriasis kezelésében alkalmazott szisztémás készítmények

Az *acitretin* (Neotigason) orálisan alkalmazható retinoid, az etretinate nevű prodrug aktív metabolitja. A retinoidok antipszoriátikus hatásukat elsősorban az epithelsejtek proliferációjának, differenciálódásának és a keratinizációjának befolyásolása, másodsorban az immunválasz, illetve a gyulladásos folyamatok (pl. az arachidonsav kaszkád) szabályozása révén fejtik ki. Monoterápiaként az acitretin elsősorban generalizált pustulosus psoriasisban jó hatásfokú, krónikus plakk típusú illetve guttált pikkelysömörben inkább fenntartó kezelésként vagy kombinációs terápia részeként használjuk. Generalizált pustulosus psoriasisban a pustulosus tünetek 25-50 mg napi dózis mellett már 10 nap alatt eltűnnek, ezt követően

megkísérélhető a dózis mérséklése. Plakk típusú tünetek esetén általában 25 mg napi dózis mellett a psoriasisos pikkelyek néhány nap alatt elvékonyodnak. A fototerápia hatékonyságát az acitretin együttes alkalmazása drámaian fokozza, a retinoid kezelést ilyenkor a fototerápia előtt 2 héttel vagy azzal egyidőben indítjuk. A retinoid kezelés leggyakoribb mellékhatásai: cheilitis, hámlás, alopecia, bőrszárazság, rhinitis, köröm dystrophia, orrvérzés, dermatitis és szemszárazság. A mellékhatások reverzibilisek, és általában a dózis csökkentésével, illetve a bőr és a nyálkahártyák nedvesen tartásával jól kontrollálhatóak. Az acitrecin teratogén hatású, ezért alkalmazása tilos terhesek illetve olyan nőbetegek esetén, akik a kezelés befejezését követő 3 éven belül teherbe kívánnak esni, vagy nem alkalmaznak megbízható fogamzásgátló módszert a kezelés alatt és az azt követő 3 év során.

A *methotrexat* (MTX) a legrégebben alkalmazott szisztémás antipszoriaticum. Gátolja az RNS és DNS szintézishez szükséges timidilát és purin nukleotidok termelését, ami végső soron a sejtosztódás leállítását eredményezi. Az MTX hatékonysága psoriasisban részben a hámsejtekre gyakorolt antiproliferatív hatással, részben a T-sejtek osztódására és aktiválódására kifejtett gátló effektussal magyarázható. Monoterápiában is kiválóan alkalmas a tünetmentesség elérésére és annak hosszú távú fenntartására, illetve jól használható a psoriasis komplikált formáiban, például arthritis psoriaticában vagy pustulosus psoriasisban is. A methotrexatot általában intermittálóan, heti egyszeri 10-20 mg (maximum 30 mg) dózisban alkalmazzuk. A terápia rövidtávon csontvelő depressziót, hányingert, nyálkahártya fekélyeket okozhat, míg a kezelés legfontosabb hosszú távú mellékhatása a májfibrózis, illetve az ennek talaján kialakuló hepatocelluláris karcinóma lehet.

A *cyclosporin* az egyik leghatékonyabb orális antipszoriaticum. Hatása a T-sejtek gátlásán alapul. A molekula nagy mérete miatt nem penetrál a hámra keresztül, ezért csak szisztémás formában alkalmazható. A cyclosporin az intracellulárisan elhelyezkedő calcineurin inhibitoraként a T-sejt aktivációhoz nélkülözhetetlen citokinek termelődését és felszabadulását gátolja. A T-sejtek gátlása révén a cyclosporin gyorsan és igen hatékonyan csökkenti a pikkelysömörös bőrtüneteket. Klinikai alkalmazására két megközelítés létezik: naponta alkalmazott 5 mg/tskg dózis, majd fokozatos csökkentés, vagy alacsonyabb, 2,5 mg/tskg körüli induló dózis, amit lépcsőzetes emelés követ a kívánt hatás eléréséig. A kezelés legfontosabb mellékhatásai a vesekárosodás és a vérnyomás emelkedés lehetnek.

A psoriasis immunológiájában központi szerepet játszó TNF α neutralizálásán alapul az *etanercept* (Enbrel), az *infliximab* (Remicade) és az *adalimumab* (Humira) hatása. Az etanercept a humán TNF-receptor két láncából és az emberi immunglobulin (Ig)G Fc doménjéből géntechnológiai úton előállított fúziós protein, míg az infliximab és az adalimumab monoklonális anti-TNF α immunglobulin. Az etanercept adagolása hetente 1x50 mg illetve 2x50 mg szubkután injekcióban, míg az infliximabé 2, 4, majd 8 hetente történik 5 mg/kg

infúzióban. Az adalimumabot kezdeti 80 mg-os telítő dózist követően 2 hetente 40 mg-os szubkután injekció formájában alkalmazzák. Az anti-TNF szerek rendkívül hatékonyan csökkentik a pikkelysömörös tüneteket. Tizenkét-tizennégy hetes kezelést követően a betegek 60-80%-nál tapasztalható a bőrtünetek legalább 75%-os javulása (122). Az anti-TNF szerek rendkívül effektívek arthritis psoriaticában, illetve a pikkelysömör komplikált (pl. pustulosus) formáiban is.

Az *usztekinumab* (*Stelara*) egy teljesen humán IL-12/IL-23 ellenes monoklonális antitest, ami a két citokin közös p40 nevű alegységéhez kapcsolódik, meggátolva azok receptorhoz kötődését.(123) A gyógyszer a T-sejtek Th17 irányba történő differenciálódását, illetve a Th17 sejtek működését egyaránt gátolja. Az usztekinumab rendkívül hatékonyan csökkenti a psoriasis bőrtüneteit, a kezelés hatására a klinikai vizsgálatokban a betegek mintegy háromnegyede elérte a PASI75 javulást.(124) Az usztekinumab továbbá fej-fej melletti összehasonlító vizsgálatban szignifikánsan hatékonyabbnak bizonyult a psoriasis kezelésére, mint a TNF-gátló etanercept.(125) A szer klinikai alkalmazásában rendkívül előnyös a 12 hetente történő szubkután adagolása is.

Az Európai Gyógyszerügyi Hatóság (European Medicines Agency) a közelmúltban psoriasis kezelésére törzskönyvezte az első IL-17A ellenes antitest hatóanyagú gyógyszereket, a *szekukinumabot* és az *ixekizumabot*. A szekukinumab teljes mértékben humán IgG1, az ixekizumab humanizált immunglobulin G4 (IgG4) típusú monoklonális antitestek. A szekukinumab és az ixekizumab szelektíven kötődik az IL-17A-hoz, és semlegesíti annak biológiai hatásait. A törzskönyvezést eredményező klinikai vizsgálatokban a 12. hétre PASI75 javulást elérő betegek aránya mindkét szer esetén elérte a 80%-ot.(126, 127) Fej-fej melletti összehasonlító vizsgálatokban az IL-17 gátlók hatékonyabbnak bizonyultak mind a TNF-inhibitor etanerceptnél, mind az IL-12/IL-23 gátló ustekinumabnál.(128, 129)

Az *alefacept* (*Amevive*), az LFA-3 és az IgG Fc részének géntechnológiai fúziójával előállított protein, volt a psoriasis kezelésére elfogadott első biológiai szer. Az alefacept az aktivált T-sejteken lévő CD2 molekulához kapcsolódva gátolja a T-sejtek aktivációját, illetve apoptosist indukálva eltávolítja a keringő memória T-sejteket (valószínűleg ez utóbbi magyarázza az alefacept elhúzódó klinikai hatékonyságát). Hatékonysága psoriasisban elmarad a TNF gátló szerektől. Jelenleg az alefacept az Európai Unióban nem törzskönyvezett a psoriasis kezelésére.

A T-sejt funkciókat gátló antipszoriátikus biológiai szer az *efalizumab* (*Raptiva*), egy LFA-1 ellenes monoklonális antitest. Hatása a T-sejtek bőrbe vándorlásában és aktiválódásában alapvető jelentőségű LFA-1 – ICAM-1 interakció gátlásán alapul. Az efalizumab hatékonyan csökkenti a psoriasisos bőrtüneteket: 12 hetes heti 1x1 mg/tskg kezelés után a betegek 22-39%-nál tapasztalták a tünetek kifejezett (legalább 75%-os) javulását (130, 131). Mivel az

efalizumab alkalmazása során súlyos mellékhatások jelentkezését észlelték (néhány esetben progresszív multifokális leukoencephalopathiát), a készítmény alkalmazását a gyógyszerészeti hatóságok felfüggesztették.

3. CÉLKITŰZÉSEK

Vizsgálataink célja a psoriasis kialakulásának, klinikai jellegzetességeinek, kezelésének jobb megismerése volt.

- I. A psoriasis genetikai hátterének pontosabb feltérképezése, genetikai polimorfizmusok vizsgálata klinikailag jól karakterizált betegcsoportokban.
 - a. A TNFSF15 (tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 15/tumor nekrosis faktor szupercsalád, 15. tag) gén polimorfizmusainak vizsgálata psoriasisban és arthritis psoriaticában.
 - b. Az ERAP1 és a HLA-C gének polimorfizmusainak és a gének kölcsönhatásának vizsgálata psoriasisban és arthritis psoriaticában.
- II. A psoriasis (immun)patogenezisének vizsgálata: szerkezeti és funkcionális eltérések
 - a. A tünetmentes psoriasisos bőr fehérje szerkezetének vizsgálata
 - b. A Treg sejtek működésének vizsgálata psoriasisban, a humán Treg sejtek azonosítására és szeparálására alkalmas sejtfelszíni marker azonosítása
 - c. Az IL-1 receptor (IL-1R) vizsgálata psoriasisos T-sejtek működésében
 - d. A tranziens receptor potenciál (TRP) csatornák és a TRPA1 (tranziens receptor potenciál ankyrin 1) pozitív nociceptív neuronok szerepének vizsgálata psoriasisban
- III. A pikkelysömör klinikai jellemzőinek vizsgálata
 - a. A psoriasis klinikai jellemzőinek és kezelési szokásainak felmérése
 - b. A dohányzás szerepének vizsgálata periodontitis kialakulásában psoriasisban
 - c. A citrullinált peptid ellenes antitestek jelentőségének vizsgálata psoriasisban és arthritis psoriaticában
 - d. A gyógyszer ellenes antitestek szerepének vizsgálata a psoriasis TNF gátló kezelésében
 - e. A methotrexát kezelés klinikai gyakorlatának felmérése psoriasisban

4. MÓDSZEREK

4.1. BETEGEK, KONTROLLOK, KÍSÉRLETI ÁLLATOK

4.1.1. Humán vizsgálatok

Valamennyi vizsgálatba a betegtájékoztató ismertetése és a beleegyező nyilatkozat aláírása után voltak beválaszthatók a betegek. A vizsgálatokat az intézmények (Szegedi Tudományegyetem, Case Western Reserve University, University Hospitals of Cleveland) Regionális Kutatásetikai Bizottságai, egyes esetekben az Állami Népegészségügyi és Tisztiorvosi Szolgálat Csongrád Megyei Hivatala hagyta jóvá.

- A TNFSF15 és ERAP1/HLA-C gének polimorfizmus vizsgálata psoriasisban és arthritis psoriaticában

Mindkét vizsgálatba 214 psoriasis vulgarisban (PsV) és 105 arthritis psoriaticában (PsA) szenvedő beteg került bevonásra, akiket a vizsgálat ideje alatt a Szegedi Tudományegyetem Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinikáján illetve Reumatológiai Klinikáján, valamint a Gyulai Pándy Kálmán Kórház Reumatológiai Osztályán kezeltek. Az arthritises betegeket további 5 alcsoportba osztottuk az arthritis fenotípus Moll és Wright klasszifikációja alapján. A vizsgálat egyik résztvevője sem szenvedett más gyulladásos bélbetegségben. Kontroll csoportként 200 önkéntes szerepelt, akik semmilyen más multifaktoriális gyulladásos betegségben nem szenvedtek. Az átlag életkor a psoriasisos csoportban 52,13 év, a kontroll csoportban 40,39 év volt, a két csoportban a férfiak aránya 39% illetve 55% volt. A vizsgálati populáció részletes demográfiai és klinikai adatait az 1. Táblázat foglalja össze.

1. Táblázat – A psoriasisos és kontroll populációk demográfiai és klinikai adatai.

	Kontroll (N=200)	Psoriasis vulgaris (N=214)	Arthritis psoriatica (N=105)
Életkor, átlag±SD [évek]	40,4±19	50,7±19	54,3±13
Férfi/nő [N, (%)]	77 /123 (39/61)	125/89 (58/42)	52/53 (49/51)
PASI, átlag±SD	–	12,4±16,5	–
Arthritis, disztális [N, (%)]	–	–	13 (12)
Aszimmetrikus oligoarthritis [N, (%)]	–	–	28 (27)
Szimmetrikus poliartitis [N, (%)]	–	–	45 (43)
Axiális típusú arthritis [N, (%)]	–	–	19 (18)
Mutiláló típusú arthritis [N, (%)]	–	–	0 (0)

- A tünetmentes psoriasisos bőr fehérje szerkezetének vizsgálata

A vizsgálat során 6 pikkelysömörös betegről (3 férfi és 3 nő, életkor 32-64 év) és 20 egészséges önkéntestől (10 férfi és 10 nő, életkor 21-42 év) került sor mintavételre.

- A Treg sejtek működésének vizsgálata psoriasisban

A vizsgálatban 17 pikkelysömörös beteg és 15 egészséges önkéntes vett részt. A betegek esetén a tünetek kiterjedtsége minimum a teljes testfelszín 10%-a volt. A vizsgálati protokollt az University Hospitals of Cleveland, a Case Western Reserve University és a Veterans Affairs

Medical Center intézményi kutatásetikai bizottságai elfogadták. A vizsgálatba történő bevonáshoz a betegek és az önkéntesek írásos beleegyezésüket adták.

- Az IL-1R expresszió vizsgálata psoriasisos T-sejteken

A vizsgálatban középsúlyos-súlyos psoriasisban szenvedő betegek és egészséges, a betegekkel korban és nemben egyező önkéntesek vettek részt. Minden vizsgálathoz legalább 4 pikkelysömörös és 4 kontroll minta vételére került sor.

- Közép és Kelet Európai psoriasisos betegek tüneteinek felmérés

2008 szeptember és december között 9 Közép és Kelet Európai ország 47 bőrgyógyásza 933 pikkelysömörös beteg felmérését végezte el. A vizsgálat beválasztási kritériuma a plakkos psoriasis diagnózisa és legalább 18 éves életkor volt. 20 beteg nem felelt meg a vizsgálati feltételeknek, így összesen 913 beteg adatainak az analízisére került sor a vizsgálatban. A betegek között 520 férfi (58,6%) volt, a betegek átlagos életkora a vizsgálat idején 46,8 év volt (2. Táblázat).

2. Táblázat – A betegek demográfiai jellemzői és kórtörténeti adatai országonként

Ország	Betegek száma n	Nem (férfi) n(%) ^{b,e}	Életkor a vizit idején (év) ^{a,b}	Életkor a tünetek megjelenésekor (év) ^{a,c}	Életkor a diagnózis felállításakor (év) ^{a,c}
Balti országok	45	21 (50)	49,5 (14,2)	31,4 (15)	32,7 (15,2)
Csehország	156	95 (62,5)	45,3 (14,7)	25,6 (14,3)	26,5 (14,5)
Magyarország	123	71 (59,2)	49,1 (11,9)	33,1 (14,8)	33,7 (15,3)
Lengyelország	210	123 (61,2)	47,9 (15,2)	28,5 (16,2)	29,5 (16,2)
Románia	155	101 (66,4)	47,1 (14,2)	33 (15,4)	34,3 (15,7)
Szlovákia	175	89 (51,4)	43,8 (14,9)	26,8 (14)	27,6 (14,1)
Szlovénia	49	20 (42,6)	48,3 (13,3)	26,6 (13,6)	27,5 (14,4)
Összes	913	520 (58,6)	46,8 (14,4)	29,1 (15,2)	30,1 (15,4)

^a Az értékek átlag (SD) formában kerültek feltüntetésre. ^b Szignifikáns országok közötti eltérés ($p < 0,05$).

^c Szignifikáns országok közötti eltérés ($p < 0,001$). ^d Észtországban, Lettországban és Litvániában országonként 15 beteg került bevonásra. ^e A számok összeadva nem minden esetben adnak ki 100%-ot.

- A dohányzás szerepe a parodontosis kialakulásában psoriasisban

A klinikai vizsgálatban a Szegedi Tudományegyetem Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinikáján 2012-ben kezelt 82 psoriasisos beteg vett részt. A kontroll csoportban 89, az adott időszakban kötelező tüdőszűrésen résztvevő, a betegekkel korban és nemben megegyező egészséges önkéntesek vettek részt. A betegek átlagos életkora 50,9 év volt, a kontroll csoporté 50,3 év. A betegek közül 45 (55%) volt férfi, a kontroll csoportban 44 (49%) férfi szerepelt. A pikkelysömörös csoportban a dohányzók aránya magasabb volt (35 [43%]), mint a kontroll csoportban (24 [27%]). A kizárási kritériumok mindkét csoportban azonosak voltak: obesitas (BMI [body mass index/test tömeg index] > 30), rendszeres, jelentős mennyiségű alkohol fogyasztása, kábítószer használata, diabetes mellitus, ösztrogén hiány, neutropéniát okozó betegségek és szisztémás gyulladást okozó betegségek (a psoriasis kivétel).

- Citrullinált peptidek vizsgálata psoriasisban és arthritis psoriaticában

A keresztmetszeti klinikai vizsgálatba a betegtájékoztató ismertetése és a beleegyező nyilatkozat aláírása után a Szegedi Tudományegyetem Bőrgyógyászati és Allergológiai illetve Reumatológiai Klinikájáról, valamint a Csongrád Megyei Egészségügyi Ellátó Központ Kakasszéki Reumatológiai Osztályáról vontunk be arthritis psoriaticás illetve csak bőrtünetekkel bíró psoriasis vulgaris beteget. A PsA csoportban a Classification Criteria for Psoriatic Arthritis (CASPAR) kritériumainak megfelelő 46 beteg (22 férfi és 24 nő) vett részt. Valamennyi betegnek volt bőrtünete is. A betegek átlagos életkora 54,35 év, a férfi:nő arány 24:22 volt. A psoriasis vulgaris csoportban 42 csak pikkelysömörös bőrtünetekben szenvedő, de nem arthritis psoriaticás beteg szerepelt. Az átlagos életkor 45,6 év, a férfi:nő arány 11:31 volt (3. Táblázat). Kontrollként 40 egészséges önkéntest szerepelt.

3. Táblázat – Az arthritis psoriatica és a psoriasis vulgaris csoportok főbb demográfiai és klinikai jellemzői

	Arthritis psoriatica	Psoriasis vulgaris
Férfi : nő arány	24 : 22	31 : 11
Életkor (átlag ± SD; évek)	54,35 ± 11,87	45,60 ± 15,72
BMI (átlag ± SD; kg/m ²)	29,38 ± 6,41	28,86 ± 9,80
Jelenleg dohányzik (%)	20%	12%
Életkor a PsV diagnózisakor (átlag ± SD; évek)	38,91 ± 14,47	28,84 ± 15,82
Életkor a PsA diagnózisakor (átlag ± SD; évek)	45,26 ± 13,80	–
Súlyosság (enyhe : közepsúlyos-súlyos*)	0 : 46	6 : 36
Psoriasis guttata (%)	4%	20%
Arthritis mutilans (%)	2%	–
Axiális típusú arthritis (%)	17%	–
Distális típusú arthritis (%)	4%	–
Aszimmetrikus oligoarthritis (%)	54%	–
Szimmetrikus polyarthritis (%)	43%	–
Terápia		
Kapott MTX kezelést (%)	85%	57%
Kapott szisztémás szteroid kezelést (%)	13%	2%
Kapott 311nm NB-UVB kezelést (%)	7%	38%
Kapott PUVA kezelést (%)	2%	31%
Kapott biológiai terápiát (%)	13%	52%

PsV: psoriasis csak bőrtünetekkel, PsA: arthritis psoriatica, BMI: testtömeg index, MTX: methotrexát, PUVA: psoralen + ultraibolya A, 311nm NB- UVB: 311nanométeres szűk spektrumú ultraibolya B.

*A korábban DMARD-dal, szisztémás terápiával vagy teljes test fototerápiával kezelt betegeket közepsúlyos-súlyos állapotúnak tekintettük, a többiek enyhe súlyosságúnak

- A gyógyszer ellenes antitestek szerepének vizsgálata a TNF-gátló kezelésben

A vizsgálatba a Szegedi Tudományegyetem Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinikáján 2011 október és 2012 január között TNF-inhibitor biológiai terápiával kezelt 77 psoriasisos beteg került bevonásra. A vizsgálatban 22 etanercept, 28 infliximab és 27 adalimumab kezelésben

részesülő beteg vett részt. A 77 beteg átlagos életkora 48,8 év volt, a betegek közül 46 (61%) volt férfi.

4.1.2. TRPA1 KO és kontroll egerek

Kísérleteinkben TRPA1 génhiányos (KO, -/-) és vad típusú (WT, +/+) 20-25 g-os, 8-10 hetes nőstény egerekkel dolgoztunk, amelyeket a Pécsi Tudományegyetem Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézetének állatházában tenyésztettünk és tartottunk 24-25°C-on, patogénmentes körülmények között, normál rágcsáló táppal és vízzel ad libitum ellátva. Az eredeti heterozigóta (TRPA1+/-) tenyészpárokat Pierangelo Geppetti (Firenzei Egyetem) bocsátotta rendelkezésünkre. A TRPA1 WT és TRPA1 KO vonalakat külön tenyésztettük, az egerek genotipizálását PCR (polimeráz láncreakció) módszerrel végeztük.(132) Kísérleteink minden esetben megfeleltek az állatkísérletek végzéséről szóló 243/1998. számú kormányrendelet előírásainak. A kísérleti eljárásokat a Pécsi Tudományegyetem állatkísérletekkel foglalkozó Etikai Bizottsága engedélyezte (engedélyszám: BA 02/2000-2/2012).

4.2. KLINIKAI VIZSGÁLATOK ÉS KÉRDŐÍVES FELMÉRÉSEK

4.2.1. Kelet Európai psoriasisos betegeken végzett felmérés

Az adatok gyűjtése kérdőívek segítségével történt, melyeket mind az orvos mind a betegek minden vizit alkalmával kitöltöttek. A betegek megelőző egészségügyi adatainak áttekintése is megtörtént. A kérdőívek az alábbi demográfiai és klinikai adatokra vonatkozó kérdéseket tartalmazták: életkor, nem, pikkelysömör vagy arthritis psoriatica a családi anamnesisben, korábbi és jelenlegi megbetegedések, életkor a tünetek kialakulásakor és a diagnózis felállításakor, korábbi, reumatológus által diagnosztizált enthesitis, enthesopathia vagy arthritis, a tünetek lokalizációja. Az egészségügyi erőforrások felhasználását az alábbi kérdések vizsgálták: pikkelysömör miatti kórházi kezelés vagy sebészeti beavatkozások száma, speciális járóbeteg szakrendeléseken történt vizitek száma, gyógyfürdő kezelések száma. Szintén rögzítésre kerültek a pikkelysömör miatt a megelőző 3 év során végzett lokális, fény és szisztémás kezelések. A bőrgyógyászok vizuális analóg skála (VAS) segítségével azt is dokumentálták, hogy elégedettek vagy nem elégedettek a beteg által alkalmazott kezelés eredményességével, hogy változtatnának-e a kezelésen, hogy javasolnának-e biológiai kezelést általánosságban, illetve specifikusan TNF-inhibitor kezelést, illetve, hogy mi a feltételezett oka a TNF-inhibitor felírásának vagy elutasításának.

4.2.2. A dohányzás szerepe a periodontitis kialakulásában psoriasisban

A betegek és a kontroll személyek demográfiai adatait és dohányzási szokásait kérdőív segítségével mértük fel. A vizsgálat résztvevői periodontológus által végzett teljes periodontális vizsgálaton estek át. A periodontitiszes tünetek súlyosságának osztályozását a jelenleg publikált egyik legrészletesebb és legszigorúbb klasszifikációs rendszer alapján

végeztük.(133) Ez az alábbi paraméterek vizsgálatát foglalta magába: hiányzó fogak száma (kivéve molárisok), plakk index (PI, más néven Silness-Löe Index), szondázás során észlelt vérzés (BOP [bleeding on probing], szondázást követő 15 másodpercben vérzés jelenléte vagy hiánya), szondázási mélység (PD [probing depth], milliméterben), valamint klinikai kapcsolódási szint (CAL [clinical attachment level], a lágyszövet cement-zománc junctionhoz viszonyított helyzetének jellemzésére). A BOP, PD és CAL foganként 6 helyen került értékelésre (mezio-bukkális, bukkális, diszto-bukkális, diszto-lingvális, lingvális, mezio-lingvális), a harmadik molárisok kivételével. A vizsgálatokhoz Williams szondákat (Hu- Friedy Manufacturing Co., Chicago, USA) alkalmaztunk.

4.2.3. A methotrexát kezelés klinikai gyakorlatának felmérése psoriasisban

A Psoriasis International Network (PIN), egy 95 ország pikkelysömör szakértőit és betegszervezeti vezetőit tömörítő szervezet, vezetőségi tagjai a vizsgálat céljából egy 41 kérdést tartalmazó kérdőívet szerkesztettek. Az internet alapú kérdőíveket a PIN nemzeti koordinátorai juttatták el az adott ország bőrgyógyászaikhoz. A kérdőív az alábbi demográfiai adatokat mérte fel: életkor, a bőrgyógyász pikkelysömör kezelésében való jártasságának mértéke, a munkahely jellege (kórházi/járóbeteg, közfinanszírozott/magán). A methotrexát kezelésre vonatkozó kérdések a következő témákat érintették: a kezelést megelőző vizsgálatok, biztonságossági vizsgálatok a kezelés során, a gyógyszer alkalmazási módja, a gyógyszer kezdő és fenntartó dózisa, kiegészítő folsav kezelés, a hatékonyság felmérése, kombinációs terápiák alkalmazása.

4.3. SEJTEK SZEPARÁLÁSA, SEJTKULTÚRA, PROLIFERÁCIÓS VIZSGÁLATOK

4.3.1. T-sejtek, antigén prezentáló sejtek, bőr sejtek szeparálása

A humán perifériás vér mononukleáris sejtek (PBMC) szeparálását heparinizált vénás vérből Histopaque (Sigma-Aldrich) denzitás gradiens centrifugálás segítségével végeztük. A kísérletek során a pikkelysömörös és a kontroll vérek feldolgozása egyidejűleg történt, a kísérletek közötti technikai eltérések minimalizálása érdekében. A CD4 sejteket a PBMC-ből midiMACS oszlopokon (Miltenyi Biotec) végzett negatív szelekcióval szeparáltuk. A CD25 pozitív sejteket pozitív szelekcióval különítettük el anti-CD25 antitesttel fedett mágneses mikrogöngyök (Dynal Biotech) felhasználásával. Az autológ APC-eket PBMC-ből először műanyagon történő kitapadással dúsítottuk, majd ezt követően a CD3 sejteket anti-CD3 antitesttel fedett mágneses mikrogöngyök (Miltenyi Biotec) segítségével eltávolítottuk, végül a sejteket 4500 rad-dal besugáztuk. Az epidermális és dermális sejt szuszpenziót pikkelysömörös tünetes bőr biopsziából készítettük. A bőrdarabokat egy éjszakán át diszpázzal 4°C-on inkubáltuk, majd az epidermist és a dermist elválasztottuk. Az epidermist 0,25%-os tripszin oldatban 20 percig 37°C-on inkubáltuk, majd 0,01%-os DNáz és 10%-os borjúsavó (FBS) jelenlétében enyhe mechanikai behatással sejtuszuszpenziót készítettünk. A

dermisből 37°C-on 2-3 órán keresztül kollagenázt, hialuronidázt, DNázt tartalmazó oldatban történő inkubálással sejtszuspenziót készítettünk. Az epidermális és dermális sejtszuspenziókat 100µm-es illetve 50µm-es szűrőn szűrtük át. A sejtek életképességét tripánkék vizsgálattal határoztuk meg. Egyes kísérletekben a dermális sejtszuspenzióból eltávolítottuk a műanyagra kitapadó sejteket, majd a dermális CD25 sejteket anti-CD25 mágneses mikrogöngyök segítségével, pozitív szelekcióval izoláltuk. Újabb kísérleteink (IL-1R vizsgálatok) során a CD4+ és a CD4+CD25+ sejteket Human T Regulatory Lymphocyte Isolation Set (Milteny Biotec) segítségével izoláltuk. A CD127-et alacsony intenzitással expresszáló sejteket anti-CD127 antitestekkel történő jelölést követően áramlási citometriás elválasztással szeparáltuk a CD4+CD25+ sejtek közül.

4.3.2. T-sejt proliferációs kísérletek

A CD4+CD25+ Treg sejtek poliklonális aktiválásához 96-lyukú lemezeket anti-CD3 monoklonális antitesttel (mAb) (BD Pharmingen) fedtünk, 10 g/ml mAb-t tartalmazó oldat alkalmazásával. A Treg sejteket 4 napig tenyésztettük 1 g/ml szolubilis anti-CD28 mAb-t (BD Pharmingen) tartalmazó oldatban, 100 U/ml humán rekombináns IL-2 (R&D Systems) jelenlétében vagy nélkül. A CD4+CD25- responder T-sejtek (Tresp) alloantigén-specifikus proliferációjának vizsgálatához a Tresp sejteket 6-7 napig tenyésztettük 96-lyukú lemezeken különböző mennyiségű Treg sejtek, illetve CLA+ és CLA- Treg sejtek jelenlétében vagy nélkül. Mitomicin C-kezelt allogén, műanyagon kitapadó PBMC sejteket használtunk APC-nek. Az úgynevezett keresztezési kísérletek során az egészséges kontrolloktól származó CD4+CD25- Tresp sejteket 1:1 arányban autológ vagy psoriasisos CD4+CD25+ Treg sejtekkel kevertük össze allogén APC-k jelenlétében (illetve a fordított kísérletben a psoriasisos Tresp sejteket egészséges Treg sejtekkel tenyésztettük). Más kísérletekben a pikkelysömörös betegektől származó Tresp sejteket 5 napig allogén APC-k és különböző mennyiségű autológ dermális CD25+ sejtek jelenlétében tenyésztettük. Egyes kísérletekben a Tresp sejtek proliferációs képességét 0,01 g/ml anti-CD3 mAb hatására autológ APC-k jelenlétében vizsgáltuk. A sejteket 3 napig 96-lyukú lemezekon különböző mennyiségű Treg sejt jelenlétében tenyésztettük. A sejtek proliferációját [³H]timidin inkorporációs teszt segítségével mértük.

Az IL-1R vizsgálatok során a T-sejtek aktiválására CD3/CD28 mikrogöngyöket (1:4 gyöngy-sejt arány) alkalmaztunk, a sejteket 1,6, és 24 óráig (RT-PCR kísérletek), 48 óráig (áramlási citometriás kísérletek) vagy 72 óráig (ELISA kísérletek) tenyésztettük.

4.3.3. Sejtosztódási vizsgálatok

A CD4+CD25- Tresp sejteket 5 M karboxifluorescein-szukcinimidilészterrel (CFSE) (Molecular Probes) jelöltük, majd mosást és számolást követően 8×10^4 Tresp sejtet 2×10^5 APC-vel 1:1 arányú Treg sejtek jelenlétében vagy hiányában tenyésztettük. Három nappal

később a sejteket anti-CD4-allophycocyaninnal és anti-CXCR3-PE-vel festettük, majd áramlási citometriával analizáltuk.

4.4. MOLEKULÁRIS BIOLÓGIAI VIZSGÁLATOK

4.4.1. RNS, DNS izolálás

A pikkelysömörös betegek és egészséges kontroll önkéntesek előzetesen aktivált vagy nyugvó CD4+CD25+ Treg és CD4+CD25- Tresp sejteiből teljes RNS-t izoláltunk az RNeasy mini kit (Qiagen) vagy TRIzol reagens (ThermoFischer) alkalmazásával. Az RNS koncentrációt A260 értékkel határoztuk meg. A cDNS szintézishez 1µg teljes RNS-t alkalmaztunk, a reverz transzkripcióhoz 200U Moloney egér leukémia vírus reverz transzkriptázt (Invitrogen Life Technologies) illetve Bio-Rad iScript cDNA Synthesis Kitet (Bio-Rad) alkalmaztunk.

A polimorfizmus vizsgálatok során a genomi DNS-t a betegek és kontrollok vénás véréből BioRobot EZ rendszeren EZ1 DNA Blood Kit (minden reagens és készülék a Qiagen-től származott) segítségével izoláltuk.

4.4.2. PCR, RT-PCR

A cDNS ampifikálását Foxp3 (forkhead box P3), IL-2, IFN γ , IL-4, IL-10, TGF(transzformáló növekedési faktor)- β vagy 18S rRNS specifikus primerek segítségével TaqMan Universal Master Mix jelenlétében 96-lyukú mikrotiter lemezen, a kiértékelést ABI PRISM 7700 Sequence Detection rendszeren végeztük (minden reagens és készülék az Applied Biosystems-től származott). Minden PCR reakciót triplikát formában végeztünk, a következő kondíciókkal: 2 perc 50°C-on, 10 perc 95°C-on, majd 40 ciklus 15 mp 95°C-on és 1 perc 60°C-on. A kimeneti kópiaszámokat plazmid standard kópiaszámok segítségével kalkuláltuk mind a célgének mind a 18S rRNS esetén, az eredményeket a 18S rRNS gén eredményekkel normalizáltuk.

További IL-1R vizsgálatokat végeztünk az iCycler IQ Real-Time PCR rendszeren (Bio-Rad) alkalmazásával. A cDNS ampifikálását IL-1R1, IL-1R2, sIL-1R2, valamint 18S rRNS specifikus primerek segítségével végeztük, a kapott eredményeket a 18S rRNS gén eredményekkel normalizáltuk.

4.4.3. Polimorfizmus vizsgálatok

Genotipizálásra PCR alapú Assay-by-Design módszert alkalmaztunk (Applied Biosystems). A PCR amplifikációt követően a végpont meghatározást iQ5 vagy CFX 96 real-time PCR rendszereken (Bio-Rad) végeztük. A TNFSF15 gén 5 SNP-jének, az ERAP1 gén 5 SNP-jének és HLA-C gén 2 SNP-jének részleteit a 4. Táblázat tartalmazza. Korábbi publikációk alapján a TNFSF15 SNP-kből 3 haplotípust (5.Táblázat), az ERAP1 SNP-kből 4 haplotípust képeztünk (6.Táblázat).

4. Táblázat - A TNFSF15, az ERAP1 és a HLA-C gén vizsgált SNP-i

Gén	Kromoszóma	SNP	Kit szám	Major/Minor allél
TNFSF15	9	rs3810936	C__363308_10	G/A
		rs6478108	C__170492_10	G/A
		rs6478109	C__1305297_10	T/C
		rs7848647	C__11277159_10	G/A
		rs7869487	C__11277149_10	G/A
ERAP1	5	rs27524	C__3056837_10	A/G
		rs27525	C__3056838_10	C/T
		rs30187	C__3056885_10	C/T
		rs17482078	C__3056871_10	C/T
		rs10050860	C__3056876_10	C/T
HLA-C	6	rs10484545	C__29666895_10	C/G
		rs10484554	C__29612773_20	C/T

5. Táblázat – TNFSF15 gén haplotípusok

Haplotípus	rs3810936	rs6478108	rs6478109	rs7848647	rs7869487
A	G	A	C	G	A
B	A	G	T	A	G
C	A	G	T	A	A

6. Táblázat – ERAP1 gén haplotípusok

Haplotípus	rs17482078	rs10050860	rs30187
A	C	C	C
B	C	C	T
C	T	T	C
D	T	T	T

4.5. ÁRAMLÁSI CITOMETRIÁS VIZSGÁLATOK

A vér és bőrsejtek felszínén lévő markereket a megfelelően jelölt monoklonális antitesttel történő inkubálás és 4%-os paraformaldehydben történő fixálás után áramlási citometriával detektáltuk. Az intracelluláris antigének detektálására a sejteket 1%-os saponin oldattal történő permeabilizálás után jelöltük a megfelelő mAb-vel. A mintákat BD LSR áramlási citométerrel (BD Biosciences) mértük le. Egyes kísérletekben a CD4⁺ T-sejtek közül a CD25^{magas}, CD25^{magas}CLA⁺ alcsoportokat EPICS Elite áramlási citométerrel (Coulter) választottuk szét. A következő mAb-eket használtuk: anti-CD25-FITC (fluoreszcein izotiocianát), anti-CD45RA-FITC, anti-CD45RO-FITC, anti-CD62L-FITC, anti-CD69-FITC, anti-CLA-FITC, anti-HLA-DR-FITC, anti-CD25-PE (fikoeritrin), anti-CD69-PE, anti-CD152-PE, és anti-CD69-PerCP (BD Pharmingen); CXCR3-PE (R&D Systems) és CD4-allophycocyanin (Caltag Laboratories).

Más kísérletekben (IL-1R) a különböző T-sejt populációkat CD4-PerCP, CD45-RO-FITC, CD25-allophycocyanin vagy GARP (glycoprotein A repetitions predominant)-PE festéssel

azonosítottuk. A CD45RO-CD25- sejteket naiv T-sejteknek (TN), a CD45RO-CD25+ sejteket naiv regulátor T-sejteknek (TNreg), a CD45RO+CD25- sejteket memória T-sejteknek (TM), a CD45RO+CD25+ sejteket Treg-sejteknek tekintettük. Aktivált sejtek esetén anti-GARP antitestet alkalmaztunk az anti-CD25 antitest helyett a Treg populáció elkülönítésére. A sejtfelszíni IL-1R expresszió meghatározására a sejteket 1 µg/ml biotinilált anti-IL-1R1 vagy anti-IL-1R2 antitesttel jelöltük, majd PE- vagy allophycocyanin-konjugált streptavidinnal 30 percig 0°C-on inkubáltuk. A mintákat FACSCalibur (BD Biosciences) áramlási citométerrel mértük.

4.6. GYENGÍTETT TELJES REFLEXIÓS FOURIER TRANSZFORMÁCIÓS INFRAVÖRÖS (ATR-FTIR) SPEKTROSKÓPIA

A betegek és egészséges önkéntesek alkarjára átlátszó ragasztó szalagot (cellux) ragasztottunk, majd eltávolítottuk. A műveletet többször (akár 25x) megismételtük. Psoriasisos betegek esetén a mintát a tünetmentes bőrterületről vettük. Az első szalagokat nem használtuk fel, az esetleges felszíni kontamináció elkerülése érdekében. A gyengített teljes reflexiós Fourier transzformációs infravörös (ATR-FTIR) spektrumot egy vízszintes ATR kristállyal (ZnSe, 45°) ellátott Avatar 330 FTIR spektrométerrel (Thermo Nicolet) mértük, 4000 és 400 cm⁻¹ tartományban, 4cm⁻¹ optikai felbontással. A spektrumok feldolgozása a GRAMS/AI Suite szoftver (Thermo Scientific) segítségével történt. Az amid-I sáv komponenseit illetve az ehhez kapcsolódó intenzitásokat szemi-quantitatív módon, Gauss-Lorentz illesztési algoritmussal határoztuk meg az FTIR spektrum 1695–1600 cm⁻¹ tartományában.

4.7. ELISA VIZSGÁLATOK

4.7.1. Citrullinált peptidek koncentrációjának meghatározása

Az anti-MCV (mutated citrullinated vimentin/mutáns citrullinált vimentin) szintek meghatározására ELISA módszert alkalmaztunk (ORG548 anti-MCV, Orgentech), antigénként rekombináns MCV szolgált. A 20U/mL titernél magasabb cut-off értékek esetén tekintettük pozitívnak a vizsgálatot.

4.7.2. II. típusú szolubilis IL-1 receptor (sIL-1R2) koncentráció meghatározása

Normál és psoriasisos vérből származó 10⁵ Treg és Tresp sejtet 72 óráig tenyésztettünk CD3/CD28 mikrogöngyök jelenlétében vagy anélkül 96-lyukú lemezen. Az aktivált és aktiválatlan sejtek felülszójából a szolubilis IL-1R2 fehérje mennyiségét Human sIL-1R2 Quantikine ELISA (R&D Systems) segítségével határoztuk meg.

4.7.3. TNF, TNF-inhibitor, anti-TNF-inhibitor antitest koncentráció meghatározása

A betegektől a tervezett biológiai terápiás infúzió/injekció napján 5-10 ml vért vettünk. Azért, hogy a gyógyszerek reziduális (völgy) plazmakoncentrációját tudjuk meghatározni, minden esetben a vérvételre néhány órával a TNF-inhibitor tervezett beadása előtt került sor. A vérből szeparált plazma mintákat fagyasztva -20°C-on tároltuk a mérésig. A plazmából ELISA

segítségével határoztuk meg a TNF α koncentrációt, a TNF-inhibitor (infliximab, adalimumab vagy etanercept) koncentrációt, valamint az IgG típusú gyógyszer ellenes antitestek (anti-drug antibody – ADA) jelenlétét (mindhárom ELISA a Matriks Biotek Laboratories-től származott). Az alkalmazott módszer a szabad TNF α , TNF-inhibitor (infliximab, adalimumab vagy etanercept) és ADA detektálására alkalmas, így a TNF-inhibitor-TNF α és az ADA-TNF-inhibitor komplexeket nem méri.

4.8. IMIQUIMOD KIVÁLTOTTA PSORIASIS EGÉR MODELL

4.8.1. Psoriasiform bőrgyulladás kiváltása imiquimod segítségével

A psoriasiform dermatitist Aldara krémmel (5% imiquimod, Meda Pharma) váltottuk ki, kontrollként vazelint alkalmaztunk. Az első kísérlet-sorozatban az egerek jobb fülét Aldarával kezeltük, míg a bal fület kontroll krémmel, az irodalomban leírtak szerint.(134) Mivel a gyulladásos tünetek főként a fültőnél jelentkeztek, és az általunk vizsgálni kívánt gyulladásos paraméterek ezen a területen nem voltak megfelelően mérhetők, így a második kísérleti sorozatban a hátbőrön végeztük a kezelést, szintén az irodalomban ismertetett módszerek szerint.(135, 136) Ezekben a kísérleti elrendezésekben az imiquimodot igen nagy dózisban, az egerek csaknem teljes hátbőrén alkalmazták a gyulladásos reakció kiváltására. Tapasztalataink szerint ezek a mennyiségek alkalmasak voltak ugyan a psoriasiform bőrgyulladás tüneteinek kiváltására, azonban jelentős szisztémás hatást is kiváltottak, melyet a kezelés során minden állatnál fellépő 20-25%-os testsúly csökkenés, és egyes állatok elhullása is jelzett. Ezek az általános hatások bizonyos mérési paramétereket (pl. bőr vastagság) közvetlenül, másokat (pl. vérátáramlás) közvetve befolyásolnak, így a mérési eredményekre jelentős hatást gyakorolhatnak. Továbbá, mivel a kezelt felszín mérete miatt egy állaton vagy csak aktív vagy csak kontroll krémet lehet alkalmazni, az állatok közötti eltérések is módosíthatják a kapott eredményeket.

Kísérleteinkhez ezért egy új elrendezést dolgoztunk ki, melyben a psoriasiform gyulladást kisebb mennyiségű imiquimod krémmel is ki lehet váltani, illetve amely lehetővé teszi az Aldara és a kontroll krém egyidejű alkalmazását egy egér hátbőrén. A psoriasiform dermatitis kiváltására az epikután allergia tesztekben alkalmazott finn kamrákban (8 mm FinnChambers on Scanpor, SmartPractice, USA) vittük fel a krémeket az egerek leborotvált hátbőrére ketamine (100 mg/kg i.p., Richter, Magyarország) és xylazine (5 mg/kg i.p., Lavet, Magyarország) altatásban. A kezelést a 4 napos kísérlet minden napján ugyanazon a területen elvégeztük. Így kisebb dózissal (20 mg Aldara vagy 20 mg vazelin), kisebb hátbőr területet kezelve tudtuk kiváltani psoriasiform bőrgyulladást, ami lényegesen enyhébb általános tüneteket eredményezett. A kísérlet végén az altatott állatokat cervikális diszlokációval leöltük. A levett hátbőr szöveteket paraformaldehidben fixáltuk a szövettani vizsgálatokhoz vagy -80°C-on tároltuk további elemzésekhez.

4.8.2. Hátbőr duzzadás (ödéma/infiltráció) mértékének meghatározása

A hátbőr vastagságát mikrométerrel (Moore and Wright, Sheffield, England) mértük 0,1 mm pontossággal a kezelés előtt valamint a kezelést követően a megadott időpontokban (1. nap (az első kezelés után 24 órával), 2. nap, 3. nap, 4. nap) a két kezelt területen. Az adatokat a hátbőr vastagság sos változásában adtuk meg a kontroll értékekhez viszonyítva.

4.8.3. A bőrszövet perfúziójának mérése

A hátbőr vérátáramlásának nyomon követését valós idejű lézer Dopplerrel, úgynevezett Laser Speckle Contrast Analysis (LASCA) (Perimed, Svédország) módszerrel határoztuk meg az Aldara kezelést megelőzően, illetve a kezelések során minden nap. A lemért területeket (ROI) a kezelési területeknek (azaz a Finn kamráknak) megfelelően jelöltük ki. A mérés minden esetben két percig tartott, másodpercenként egy kép került rögzítésre, a kijelölt területek átlagos perfúziós értékét a PimSoft szoftver (Perimed, Svédország) segítségével számítottuk ki. Az adatokat a kontroll értékekhez (a kísérlet megkezdése előtti átlagos perfúzió) viszonyítva százalékos változásban adtuk meg.

4.8.4. Lépmegnagyobbodás vizsgálata

A kezelés során kialakuló szisztémás hatások vizsgálatának céljából az első kezelést követő 6 óra, 2 nap, és 4 nap múlva az állatok lépszövetét eltávolítottuk, tömegét lemértük. A kapott értékeket az állat súlyához viszonyítottuk, és kezelést nem kapott, azonos korú állatok relatív léptömegéhez viszonyítva adtuk meg.

4.8.5. Szöveti citokin mRNS expressziós vizsgálatok

Génexpressziós vizsgálatainkhoz az első kezelést követő 6., 48. és 96. órában kezeletlen, vazelinnel kezelt és imiquimoddal kezelt hátbőr szövetmintákat vettünk (n=4), és feldolgozásig azokat -80°C-on RNAlater-ben (Sigma-Aldrich) tároltuk. A mintákból az RNS kivonást Direct-zol RNA MiniPrep Kit-el (Zymo Research) végeztük, a gyártó által megadott protokoll szerint.

Az RNS mintákat 50 percen keresztül DNáz I (DNaseI set, Zymo Research) kezelésnek vetettük alá (10 µl RNS oldat; 2 µl 10-szeres DNáz I puffer; 7 µl víz és 1 µl DNáz I), majd a DNáz I enzimet 10 percen keresztül 65°C-os melegítéssel inaktívtuk. A DNS mentes RNS oldatok koncentrációját és szennyezettségét NanoDrop 1000 UV/VIS spektrofotométer segítségével állapítottuk meg. 1 µg teljes RNS reverz transzkripcióját végeztük el Maxima First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) segítségével, oligo dT-vel, 20 µl térfogatban, a gyártó utasításainak megfelelően. A reverz transzkripció 30 percen keresztül folyt 55°C-on, majd az enzimet 5 percig 85°C-ra való hevítéssel inaktívtuk. A cDNS oldatokat 0,1-szeres koncentrációra hígítottuk.

A kvantitatív valós idejű PCR vizsgálatokat Agilent MX3000P QPCR System segítségével végeztük (Agilent Technologies). A relatív génexpresszió meghatározásához a $2^{-\Delta\Delta C_t}$ módszert alkalmaztuk. Referencia mintaként a kezeletlen szövetmintákból származó cDNS mintákat

használtuk. Az mRNS expressziós vizsgálatokhoz az alábbi assay számú primereket alkalmaztuk: IL-1 β - Mm00434228_m1, TNF α - Mm00443258_m1, IL-17 - Mm00439619_m1, IL-22 - Mm00444241_m1 és IL-23 - Mm00518984-m1 (Life Technologies). Belső kontrollként a hipoxantin foszforibozil-transzferáz-1 (Hprt1) gént választottuk (Mm01545399_m1). Az amplifikáció 10 μ l térfogatban történt, amelybe összemértünk 5 μ l Luminaris Color Probe Low ROX qPCR Master Mix-et (Thermo Scientific), 0,5 μ l 10 pmol/ μ l koncentrációjú primert, 2,5 μ l vizet és 2 μ l-t a hígított cDNS mintákból, a következő PCR programmal: 10 min elődenaturáció 95°C-on, amelyet 15 s denaturáció követett 95°C-on, 30 s primer kötés 60°C-on, és 30 s elongáció 72°C-on, 45 cikluson keresztül. A mérések során 2 technikai replikátumot alkalmaztunk mintánként.

4.8.6. Szöveti citokin fehérjék meghatározása

A fagyasztott hátbőr minták súlyát felolvasztás után lemértük, és 1 ml PBS/PMSF oldatban 4°C-on homogenizáltuk. A mintákat 4000 g-n 15 percig centrifugáltuk, a felülúszókat visszagyűjtöttük. Milliplex Map Kit Mouse Th17 Magnetic Bead Panel használatával meghatároztuk a minták IL-1 β , IL-17, IL-22, IL-23 és TNF α koncentrációját. A mérést 96-lyukú lemezen hajtottuk végre a gyártó utasításai szerint, azaz 25-25 μ l mintát (hígítatlanul), standardot és két gyári kontrollt mértünk fel a lemezre duplikátumban, majd hozzáadtuk az öt különböző citokinre specifikus antitestekkel bevont gyöngypopuláció keveréket. Egy éjszakás inkubálást követően mostuk a mintákat, hozzáadtuk a biotinilált detektáló antitesteket, és újabb mosás után a sztreptavidin-fikoeritrin oldatot. A mérést 150 μ l köpenyoldadékban, mágneses upgrade-del ellátott Luminex 100 készüléken végeztük, mely a medián fluoreszcens intenzitás értékeket mérte xPonent szoftver segítségével. Az adatok kiértékelését MasterPlex 2010 szoftverrel végeztük, 5 pontos görbeillesztéssel határoztuk meg a standard koncentrációkat. Az eredményeket pg/1 g nedves szövet értékben adtuk meg.

4.8.7. Szövettani vizsgálatok

A kimetszett bőrszöveteket 4%-os paraformaldehidben fixáltuk. A paraffinba ágyazott mintákból 4-6 μ m-es metszeteket készítettünk és hematoxin-eozinnal festettük a gyulladás általános szövettani elváltozásainak megállapítására. A TRPA1 vad típusú és génhiányos minták szemikvantitatív összehasonlítását patológus végezte, aki nem ismerte a kísérleti elrendezést. A pontozás szempontjait a pszoriázisra jellemző tünetek alapján a következő módon állítottuk össze: 1.) az epidermisz réteg átmérője, melyet AnalySIS szoftverrel határoztunk meg (pontozás: 1: -25 μ m, 2: 26-50 μ m, 3: 51-75 μ m, 4: 76-100 μ m). 2.) A stratum granulosum réteg sejtsorainak száma (pontozás: 1: 1-2, 2: 3-4, 3: 5-6, 4: 7-8). 3.) A dilatált kapillárisok száma az epidermisz alatti rétegben a teljes metszeten. 4.) A Munro-féle mikroabszcesszusok száma a metszetben (pontozás: 1: 1-5, 2: 6-10, 3: 11-15, 4: 16-20). Az

összetett hisztopatológiai pontszámot a fenti értékek összeadásával határoztuk meg az egyes csoportokban.

4.9. STATISZTIKAI MÓDSZEREK

A statisztikai értékeléshez SPSS 15.0, SigmaPlot, MedCalc 12.2.1.0 és GraphPad Prism programokat használtunk. A kapott adatokat átlagoltuk, az átlagtól való standard eltérést (SEM vagy SD) is feltüntettük. A csoportok közötti különbségeket Student féle t-próbával és Mann–Whitney U teszttel és Spearman-féle rangkorrelációs teszttel elemeztük. Több csoport eredményeinek összehasonlítása két utas ANOVA teszttel történt. Nem normál eloszlást mutató csoportok esetén nemparametrikus módszereket alkalmaztunk. A $p < 0,05$, $p < 0,01$ és $p < 0,001$ értéket tekintettük szignifikánsnak, a vizsgálat jellegétől függően. A genotípusok frekvenciáit és a haplotípusok eloszlását χ^2 teszttel és Fisher-egzakt teszttel vizsgáltuk. Az asszociációt esélyhányadossal (odds ratio, OR) adtuk meg, 95%-os konfidenciaintervallumok (CI) mellett.

5. EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS

Ebben a fejezetben röviden ismertetésre kerülnek a kísérletes munka eredményei. Az értekezésben terjedelmi okok miatt nem részletezett eredmények a publikációkban megtalálhatók.

5.1. A PSORIASIS GENETIKAI HÁTTERÉNEK VIZSGÁLATA

5.1.1. A TNFSF15 gén polimorfizmusainak vizsgálata psoriasisban

Mind a psoriasis mind az arthritis psoriatica patogenezisében jól ismert, hogy a gyulladásos citokinek kulcsszerepet töltenek be.(137) A lymphocyták és keratinocyták aktivációjának egyik legfontosabb tényezőjeként ismert TNF α mind a bőrben mind az ízületekben emelkedett mennyiségben van jelen pikkelysömörben.(138) A TNF α -nak a betegség kialakulásában betöltött központi jelentőségét alátámasztja az is, hogy a TNF-inhibitor gyógyszerek kimagaslóan hatékonyak a psoriasis kezelésében.(1) A TNF szupercsaládba tartozó TNFSF15 (más néven TNF szuperfamily ligand [TL1A] vagy vascular endothelial cell growth inhibitor [VEGI]) főként endothél sejtek által kifejezett TNF-szerű faktor.(139, 140) A 251 aminosavból álló, jellegzetes 2. típusú transzmembrán szerkezettel rendelkező TNFSF15 fehérjét a 9q32 kromoszómán található gén kódolja.(141) A 9q32 régióban a mai napig nem azonosítottak PSORS lókuszt. A TNFSF15 gátolja az endothél sejtek és az endothél-progenitor sejtek differenciációját, és stimulálja a T-sejtek aktivációját, Th1 citokin termelését, illetve a dendritikus sejtek érését.(142) A TNFSF15 szerepet játszik a gyulladásos bélbetegség (IBD), az atherosclerosis, a rheumatoid arthritis és krónikus gyulladásos bőrbetegségek kialakulásában.(143-146) A TNFSF15 emelkedett szintjét mutatták ki Crohn betegek bélfal nyálkahártyájában és psoriasisos bőrben.(146, 147) A TNFSF15 gén polimorfizmusai és bizonyos haplotípusai továbbá etnikum-specifikus hajlamosító tényezőként szerepet játszhatnak az IBD kialakulásában.(148) Mivel a fentiek alapján a TNFSF15 számos immunmediált humán betegség patomechanizmusában szerepet játszik, megvizsgáltuk a TNFSF15 gén polimorfizmusai és három haplotípusa illetve a psoriasis és arthritis psoriatica összefüggését.

A vizsgálatba 214 psoriasis vulgaris és 105 arthritis psoriaticus beteget, illetve 200 egészséges önkéntest vontunk be. Az arthritises betegeket további 5 alcsoportba osztottuk az arthritis fenotípus Moll és Wright klasszifikációja alapján. A vizsgálat egyik résztvevője sem szenvedett gyulladásos bélbetegségben. A vizsgálati populáció részletes demográfiai és klinikai adatait az 1. Táblázat, a vizsgált SNP-k adatait a 4. Táblázat foglalja össze.

Az rs6478109 SNP genotípus eloszlása szignifikánsan eltért a pikkelysömörös és a kontroll populációk között (7. Táblázat): a mutáns allél gyakorisága magasabb volt a csak bőrtünetekkel rendelkező betegek esetén, míg az arthritis psoriatica esetén nem volt

szignifikáns eltérés a kontroll populációhoz viszonyítva. A másik 4 SNP (rs3810936, rs6478108, rs7848647, rs7869487) genotípus eloszlása nem különbözött szignifikánsan a vizsgált psoriasisos és a kontroll populációk között.

7. Táblázat – A TNFSF15 genotípusok eloszlása a kontroll és psoriasisos populációk között.

SNP	Kontroll (N=200)			Psoriasis vulgaris (N=214)				Arthritis psoriatica (N=105)			
	WT	Het	Hom rare	WT	Het	Hom rare	p	WT	Het	Hom rare	p
rs3810936	102 (51)	79 (39,5)	19 (9,5)	115 (53,7)	79 (36,9)	20 (9,4)	0,8473	56 (53,3)	44 (41,9)	5 (4,8)	0,3437
rs6478108	99 (49,5)	101 (50,5)	0 (0)	115 (53,7)	99 (46,3)	0 (0)	0,3884	51 (48,6)	53 (50,5)	1 (0,9)	0,3834
rs6478109	38 (19)	162 (81)	0 (0)	20 (9,4)	194 (90,6)	0 (0)	0,0046	13 (12,4)	92 (87,6)	0 (0)	0,1410
rs7848647	113 (56,5)	70 (35)	17 (8,5)	119 (55,6)	75 (35)	20 (9,4)	0,9524	59 (56,2)	41 (39)	5 (4,8)	0,4393
rs7869487	66 (33)	81 (40,5)	53 (26,5)	71 (33,2)	78 (36,4)	65 (30,4)	0,6104	31 (29,5)	46 (43,8)	28 (26,7)	0,8011

WT, mindkét allél vad típusú; Het, csak az egyik allél vad típusú; Hom rare, egyik allél sem vad típusú; [N, (%)]

A vizsgált személyek (mind a betegek mind a pikkelysömörösök) mintegy fele a korábban már japán, koreai és kaukázusi populációkban közölt haplotípusokat (5. Táblázat) hordozta. (143, 148, 149) A három vizsgált haplotípus eloszlását a pikkelysömörös és a kontroll populációkban a 8. Táblázat foglalja össze. Az A és B haplotípusok eloszlásában nem találtunk szignifikáns különbséget a kontroll és a pikkelysömörös csoportok között. A C haplotípus eloszlása ugyanakkor szignifikánsan eltért a psoriasis vulgaris csoport és a kontrollok között ($p=0,0250$), míg arthritis psoriatica esetén az eltérés a szignifikancia határán volt ($p=0,0524$). Megjegyezzük, hogy a haplotípus alacsony gyakorisága miatt a statisztikai tesztek megbízhatósága viszonylag alacsony volt.

8. Táblázat – A TNFSF15 haplotípusok eloszlása a psoriasisos és a kontroll csoportokban.

Haplotípus	Kontroll (n=200)	Psoriasis vulgaris (n=214)	p	Arthritis psoriatica (n=105)	p
A	83 (41,5)	85 (39,7)	0,7123	45 (42,9)	0,8194
B	19 (9,5)	14 (6,5)	0,2668	10 (9,5)	0,9946
C	7 (3,5)	1 (0,5)	0,0250	0 (0)	0,0524

Gyakoriság: N (%)

Megbeszélés

Vizsgálatunk a TNF szupercsaládba tartozó TNFSF15 genetikai variánsainak első felmérése magyarországi populációban. Eredményeink szerint a TNFSF15 gén rs6478109 SNP-je hozzájárul a psoriasisra való hajlamhoz, és ez az asszociáció méginkább egyértelmű, ha az ízületi tünetekkel rendelkező és anélküli pikkelysömörös betegek adatait különállóan vizsgáljuk. A C haplotípus eloszlása esetén szintén szignifikánsan különbözött a kontroll csoport és a psoriasis vulgaris betegek között: az egészségesek között kismértékben magasabb volt a C haplotípus aránya. Ez arra utal, hogy a C haplotípust hordozása csökkentheti a pikkelysömör kialakulásának veszélyét. A C haplotípusnak a vizsgált populációkban mért viszonylag alacsony gyakorisága miatt a haplotípus tényleges szerepének

igazolásához több (lehetőség szerint szélesebb etnikai körből származó) beteg vizsgálatára lenne szükség.

Az rs6478109 SNP a TNFSF15 gén promóter régiójában helyezkedik el, 474 nukleotidra a transzkripció start helyétől. In silico analízis alapján (<http://www.cbrc.jp/research/db/TFSEARCH.html>) az SNP-t tartalmazó régióhoz elméletileg 5 transzkripció faktor (GATA-1, GATA-2, GATA-3, Jk2 és c/EBPb) kapcsolódhat. Ez felveti, hogy az rs6478109 SNP befolyásolhatja a TNFSF15 gén expresszióját, így hozzájárulhat bizonyos immunmediált betegségek patogeneziséhez.

A TNFSF15 gén közös pont lehet az IBD és a pikkelysömör patogenezisében. A főként limfocitákból, monocitákból és dendritikus sejtekből származó TNFSF15 a DR3-mal (death domain receptor 3 – halál domén receptor 3) kapcsolódva komplexet képez.(141, 147) A TNFSF15/DR3 rendszer aktiválódása szerepet játszhat krónikus gyulladásos betegségek, pl. az IBD, RA vagy psoriasis patogenezisében.(143, 145, 146) A TNFSF15/DR3 komplex expressziója fokozott mind mRNS mind fehérje szinten a pikkelysömörös bőrben.(146) A TNFSF15/DR3 komplex a Th1 és Th17 válaszok felerősítése révén járulhat hozzá a pikkelysömörös gyulladás kialakulásához.(150, 151) Yamazaki és munkatársai a közelmúltban számoltak be a TNFSF15 gén variánsai és az IBD közötti kapcsolatáról: a gén 5 SNP-je és egyes IBD fenotípusok asszociációját igazolták Japánból és az Egyesült Királyságból származó betegekben.(152) Az öt polimorf SNP-ből 2 betegség-asszociált haplotípust képezetek: a „magas rizikójú” A haplotípust és az „alacsony rizikójú” B haplotípust. Picornell és munkatársai ugyanakkor nem tudták megerősíteni a fenti asszociációt zsidó populációban.(148) A B haplotípust ugyanakkor protektívnek találták Crohn betegséggel szemben a nem zsidó betegek csoportjában.(148) Egy további vizsgálatban a „magas rizikójú” A haplotípus asszociációját Crohn betegséggel megerősítették koreai populációban.(149) Ezek az adatok arra utalnak, hogy a TNFSF15 gén variánsai az immunmediált kórképek kialakításához etnikum-specifikus módon járulnak hozzá.

A pikkelysömör előfordulását magasabbnak találták az IBD-s betegek között.(153, 154) Ennek a klinikai megfigyelésnek a hátterében több genetikai tényező is állhat. Sáfrány és munkatársai a közelmúltban számoltak be az IL-23 receptor gén SNP-inek colitis ulcerosával és psoriasisal való asszociációjáról magyar betegekben.(155) Az IL-12B-t ugyancsak mind a psoriasis mind az IBD esetén hajlamosító génnek találták.(86)

Összefoglalva, eredményeink és a korábbi vizsgálatok alapján a TNFSF15 gén variánsai hozzájárulhatnak a psoriasis patogeneziséhez. Az eredményeink másrészt ráirányítják a figyelmet arra is, hogy mennyire fontos a betegek tünetek szerinti stratifikálása. Végül, az eredményeink további bizonyítékot szolgáltatnak az immun szabályozásban részt vevő gének szerepéről, illetve az etnikai szempontok fontosságáról gyulladásos betegségekben.

5.1.2. Az ERAP1/HLA-C gének polimorfizmusainak vizsgálata psoriasisban

A pikkelysömör kialakulására hajlamosító legfontosabb genetikai faktor, a PSORS1 lókuszt a 6. kromoszómán helyezkedik el. A lókuszon belül elhelyezkedő számos feltételezett hajlamosító gén közül a HLA-Cw6 gén szerepe a legfontosabb. A HLA-Cw*0602 allél a pikkelysömörös betegek 60%-ban van jelen, az allélt homozigóta formában hordozók esetén 20-szor magasabb a pikkelysömör kialakulásának esélye.(156, 157) A HLA-Cw*0602 pozitív betegek között továbbá gyakoribb a korai betegség-kezdés, a guttális és eruptív psoriasis formák előfordulása, illetve a betegség kiterjedtebb és súlyosabb lefolyása. A közelmúltban végzett vizsgálatok szerint a tünetek megjelenésekor életkor alapján történő csoportosítás hasznosnak bizonyult az arthritis psoriatica fenotípusainak jellemzésében is.(158)

A jól karakterizált PSORS lókusztok mellett az elmúlt évtized során GWAS módszerekkel egyéb pikkelysömörre hajlamosító újabb géneltéréseket, egyes nukleotid polimorfizmusokat (SNP) is sikerült azonosítani. Egyértelmű asszociációt írtak le a HLA-Cw*0602, IL23R, LCE3C, LCE3B,(115, 159), IL12R, IL23,(86) TNFSF15,(160) és az ERAP1 (83) gének egyes SNP-i és a pikkelysömörre való fogékonyság között. A TNFAIP3 SNP-k polimorfizmusai továbbá összefüggésbe hozhatók voltak a psoriasis kezelésére alkalmazott TNF-gátló kezelés hatékonyságával, illetve a betegség súlyosságával is.(161, 162) A PsA erős asszociációt mutat a HLA-B13, HLA-B57, HLA-B39, HLA-Cw6 és HLA-Cw7 allélekkel.(78) Míg a HLA-B*27 pozitív betegekben a PsA általában súlyosabb klinikai lefolyást mutat, és korábban jelentkezik, a HLA-Cw*0602 pozitivitás esetén jellemző az ízületi tünetek későbbi megjelenése.(158, 163) Az ERAP1 genetikai variánsainak spondylosis ankylopoeticával (AS), psoriasisal és Behçet kórral való asszociációját a közelmúltban írták le.(83, 164) Az ERAP1 psoriasisal való asszociációját több közelmúltban megjelent kutatás is vizsgálta európai és kínai populációkban. Az rs27524 (nem kódoló) és az rs30187 (K528) ERAP1 SNP-eket a pikkelysömör szempontjából rizikó tényezőnek találták.(83) Ugyanebben a vizsgálatban a HLA-Cw*0602 és az ERAP1 K528 variánsa között domináns episztázist írtak le. Egy másik vizsgálatban az rs27432 ERAP1 SNP és a pikkelysömör között erős asszociációt észleltek.(90) Han kínai populációban az ERAP1 SNP-i vagy az ERAP1 SNP-ivel kapcsolási egyensúlyhiányban álló gén-variánsok psoriasisal asszociáltak.(165-167) Továbbá nemrégiben az ERAP1 PsA-val való kapcsolatát is vizsgálták, azonban ez a vizsgálat nem mutatott ki asszociációt az rs30187 SNP és a PsA illetve PsA szubfenotípusok között.(168)

A pikkelysömör klinikai csoportosítását a betegség kialakulási ideje (korai/késői) és az arthritis hiánya/megléte alapján tudjuk elvégezni. Feltételeztük, hogy a pikkelysömörös betegek korai és késői kialakulású, illetve csak bőrtünetekkel rendelkező vagy arthritises csoportokba osztása új ERAP1 genotípus-fenotípus asszociációk feltárásához vezethet. Továbbá, mivel az ERAP1 több gyulladásos kórképpel is csak HLA-függő módon asszociált, a vizsgálataink során

a *HLA-Cw*0602* és *ERAP1* gének közötti interakciókat is igyekeztünk bebizonyítani. Mindezek miatt 5 *ERAP1* és 2 *HLA-Cw*0602* SNP, illetve *ERAP1* haplotípusok korai és késői psoriasisissal illetve PsA-val való asszociációjának elemzését végeztük el.

A 2 *HLA-C* és az 5 *ERAP1* SNP genotípus frekvenciáit a 9. Táblázat foglalja össze. A genotípus frekvenciák mind a betegek mind a kontrollok esetén megfeleltek a Hardy-Weinberg eloszlásnak. A kontrollok esetén észlelt genotípus frekvenciák az irodalomban közölt eredményekkel összevethetőek voltak.

Az rs10484554 *HLA-C* SNP genotípus eloszlása szignifikánsan különbözött mind a teljes psoriasis vulgaris mind a teljes arthritis psoriatica populációban az egészséges kontrollokhoz viszonyítva ($p=0,00007$ és $p=0,0001$), ami korábbi irodalmi adatoknak is megfelelt. (169-171) A mutáns *HLA-Cw*0602* allélt hordozók aránya szignifikánsan magasabb volt a psoriasisos betegek között, mint az egészséges kontrollok esetén (PsV: 57,9%, PsA 59,0%, kontroll 36,5%). Azaz a *HLA-Cw*0602* rs10484554 SNP erős hajlamosító tényező mind a bőrtünetekkel, mind az ízületi tünetekkel járó pikkelysömör szempontjából. A rs10484545 *HLA-C* esetén nem észleltünk különbséget a PsV vagy a PsA csoport és a kontroll csoport között.

Három *ERAP1* SNP (rs10050860, rs27525, rs17482078) genotípus eloszlása szignifikánsan különbözött az egészségesek és a PsA betegek között (rs10050860: $p=0,0072$, rs27525: $p=0,0259$, rs17482078 $p=0,0195$). Mindhárom SNP esetén a vad típusú allélt hordozó egyének aránya magasabb volt az egészségesek csoportjában, ami valószínűsíti, hogy az SNP-k ritka alléljai protektív szerepet játszhatnak az arthritis psoriatica szempontjából. A másik 2 *ERAP1* SNP genotípus eloszlása nem különbözött a PsA csoportban. A PsV csoport és az egészséges kontroll csoport között ugyanakkor egyik *ERAP1* SNP genotípus eloszlásában sem volt statisztikailag szignifikáns eltérés, azaz feltételezhető, hogy az *ERAP1* vizsgált polimorfizmusai nem játszanak szerepet a psoriasisos bőrtünetekre való fogékonyság kialakításában.

Ezt követően a betegeket tovább csoportosítottuk a betegségük megjelenésének időpontja alapján (korai és késői psoriasis). Az rs10484554 *HLA-C* SNP esetén csak a korai csoportban észleltünk szignifikáns különbségeket, ami korábbi közleményekkel egybevágott. (169, 171) Az rs10484545 *HLA-C* SNP esetén további stratifikációval sem lehetett szignifikáns eltéréseket kimutatni. A korábban leírt, arthritis psoriaticával asszociált 3 *ERAP1* SNP (rs10050860, rs27525 és rs17482078) szintén csak a korai PsA csoporttal állt kapcsolatban ($p=0,0142$, $p=0,0116$ és $p=0,0356$). Eszerint az *ERAP1* SNP-k teljes arthritis psoriatica csoportban észlelt genotípus eloszlási eltérései a korai psoriasisos alcsoporthoz köthetők, és ezek az *ERAP1* SNP-k feltehetően védelmet nyújtanak a korai kezdetű, ízületi tünetekkel járó psoriasis kialakulásával szemben.

9. Táblázat – A HLA-Cw és ERAP1 SNP genotípusok eloszlása egészséges személyekben, psoriasis vulgarisban és az arthritis psoriaticában.

Gén	SNP	Kontroll (N=200)			Psoriasis vulgaris (N=214)					Arthritis psoriatica (N=105)				
		WT	Het	Hom ritka	Betegség kezdet	WT	Het	Hom ritka	p*	Betegség kezdet	WT	Het	Hom ritka	p*
HLA-C	rs10484554	127 (63.5)	52 (26)	21 (10.5)	teljes (N=214)	90 (42.1)	91 (42.5)	33 (15.4)	0.00007	teljes (N=105)	43 (41)	52 (49.5)	10 (9.5)	0.0001
					korai (N=132)	46 (34.8)	62 (47)	24 (18.2)	2.1x10 ⁻⁶	korai (N=63)	22 (34.9)	34 (54)	7 (11.1)	0.0001
					késői (N=82)	44 (53.7)	29 (35.4)	9 (10.9)	0.2570	késői (N=42)	21 (50)	18 (42.9)	3 (7.1)	0.1004
	rs10484545	170 (85)	30 (15)	0 (0)	teljes (N=214)	183 (85.5)	30 (14)	1 (0.5)	0.9426	teljes (N=105)	89 (84.7)	14 (13.3)	2 (2)	0.1939
					korai (N=132)	109 (82.6)	23 (17.4)	0 (0)	0.5550	korai (N=63)	56 (88.9)	6 (9.5)	1 (1.6)	0.1400
					késői (N=82)	74 (90.2)	7 (8.6)	1 (1.2)	0.0886	késői (N=42)	33 (78.6)	8 (19)	1 (2.4)	0.1332
ERAP1	rs30187	84 (42)	102 (51)	14 (7)	teljes (N=214)	82 (38.3)	111 (51.9)	21 (9.8)	0.5136	teljes (N=105)	43 (40.9)	47 (44.8)	15 (14.3)	0.1102
					korai (N=132)	52 (39.4)	67 (50.8)	13 (9.8)	0.6294	korai (N=63)	29 (46)	27 (42.9)	7 (11.1)	0.3979
					késői (N=82)	30 (36.6)	44 (53.7)	8 (9.7)	0.5864	késői (N=42)	14 (33.4)	20 (47.6)	8 (19)	0.0436
	rs10050860	118 (59)	79 (39.5)	3 (1.5)	teljes (N=214)	132 (61.7)	72 (33.6)	10 (4.7)	0.1103	teljes (N=105)	75 (71.4)	25 (23.8)	5 (4.8)	0.0072
					korai (N=132)	75 (56.8)	49 (37.1)	8 (6.1)	0.0877	korai (N=63)	46 (73)	14 (22.2)	3 (4.8)	0.0142
					késői (N=82)	57 (69.5)	23 (28)	2 (2.5)	0.1269	késői (N=42)	29 (69)	11 (26.2)	2 (4.8)	0.0980
	rs17482078	121 (60.5)	74 (37)	5 (2.5)	teljes (N=214)	135 (63.1)	69 (32.2)	10 (4.7)	0.3436	teljes (N=105)	75 (71.4)	24 (22.9)	6 (5.7)	0.0195
					korai (N=132)	78 (59.1)	47 (35.6)	7 (5.3)	0.4391	korai (N=63)	45 (71.4)	14 (22.2)	4 (6.4)	0.0356
					késői (N=82)	57 (69.5)	22 (26.8)	3 (3.7)	0.2302	késői (N=42)	30 (71.4)	10 (23.8)	2 (4.8)	0.1608
	rs27524	88 (44)	93 (46.5)	19 (9.5)	teljes (N=214)	85 (39.7)	104 (48.6)	25 (11.7)	0.6028	teljes (N=105)	40 (38.1)	48 (45.7)	17 (16.2)	0.2026
					korai (N=132)	55 (41.7)	62 (47)	15 (11.3)	0.8295	korai (N=63)	26 (41.3)	30 (47.6)	7 (11.1)	0.8953
					késői (N=82)	30 (36.6)	42 (51.2)	10 (12.2)	0.4854	késői (N=42)	14 (33.3)	18 (42.9)	10 (23.8)	0.0307
	rs27525	55 (27.5)	145 (72.5)	0 (0)	teljes (N=214)	66 (30.8)	148 (69.2)	0 (0)	0.4551	teljes (N=105)	42 (40)	63 (60)	0 (0)	0.0259
					korai (N=132)	39 (29.5)	93 (70.5)	0 (0)	0.6856	korai (N=63)	28 (44.4)	35 (55.6)	0 (0)	0.0116
					késői (N=82)	27 (32.9)	55 (67.1)	0 (0)	0.3621	késői (N=42)	14 (33.3)	28 (66.7)	0 (0)	0.4465

WT, mindkét allél vad típus; Het: csak az egyik allél vad típus; Hom ritka: egyik allél sem vad típus; [N, (%)]. * szignifikáns az egészséges kontrollal összehasonlítva

Érdekes módon további 2 ERAP1 SNP (rs27524 és rs30187) esetén szignifikáns eltérést észleltünk a kontroll és a késői PsA csoport között ($p=0,0307$ és $p=0,0436$). Mindkét SNP esetén a ritka allél fordult elő gyakrabban a betegekben, ami alapján feltételezhető, hogy az SNP-k ritka alléljai az arthritis psoriaticára hajlamosító tényezőként viselkedhetnek. Másrészt, ezen SNP-k eloszlása nem különbözött a korai arthritises formák esetén, így feltehetően ezek az SNP-k csak a késői PsA kialakulásában játszanak szerepet. Az ERAP1 rs17482078, rs10050860, rs30187 és rs2287987 SNP-i szoros kapcsoltsági egyensúlyhiányban állnak egymással. Nemrégiben pedig az ezen SNP-k által alkotott haplotípusok és a spondylitis ankylopoetica (SpA) között mutattak ki asszociációt.(164) Saját adatainkban is azonosítani tudtunk egy rs17482078/rs10050860/rs30187 SNP-kből álló kapcsoltsági blokkot (3. Ábra).



3. Ábra – Az ERAP1 gén SNP-inek kapcsoltsági viszonyai a vizsgált populációban. A számok az SNP-k közötti kapcsoltsági azonosságot fejezik ki százalékban, az árnyékolás mértéke arányos az SNP-k közötti kapcsoltság mértékével.

A következő lépésben ezért megvizsgáltuk, hogy az rs17482078/rs10050860/rs30187 SNP-k által alkotott haplotípusok összefüggésben állnak-e a psoriasisra való fogékonysággal (10. Táblázat). Eredményeink szerint a B haplotípus a psoriasisra hajlamosít, de csak a késői arthritisszel társult psoriasis ($p=0,0413$) esetén észleltünk szignifikáns asszociációt.

10. Táblázat – Az ERAP1 haplotípusok eloszlása egészségeseken (Kontroll), illetve psoriasis vulgarisban (PsV) és arthritis psoriaticában (PsA).

Haplo-típus	SNP			Kontroll (N=200)	Psoriasis vulgaris (N=214)			Arthritis psoriatica (N=105)		
	rs 17482078	rs 10050860	rs 30187	Gyakoriság	Betegség kezdet	Gyak [N,%]	p*	Betegség kezdet	Gyak [N,%]	p*
A	C	C	C	38 (19)	teljes (N=214)	35 (16.4)	0.4804	teljes (N=105)	23 (21.9)	0.5468
					korai (N=132)	18 (13.6)	0.2015	korai (N=63)	18 (28.6)	0.1056
					késői (N=82)	17 (20.7)	0.7389	késői (N=42)	5 (11.9)	0.2741
B	C	C	T	80 (40)	teljes (N=214)	97 (45.3)	0.2736	teljes (N=105)	51 (48.6)	0.1508
					korai (N=132)	57 (43.2)	0.5644	korai (N=63)	27 (42.9)	0.6873
					késői (N=82)	40 (48.8)	0.1756	késői (N=42)	24 (57.1)	0.0413
C	T	T	C	47 (23.5)	teljes (N=214)	45 (21)	0.7184	teljes (N=105)	19 (18.1)	0.4624
					korai (N=132)	32 (24.2)	1	korai (N=63)	11 (17.6)	0.5169
					késői (N=82)	13 (15.9)	0.3149	késői (N=42)	8 (19)	0.7642
D	T	T	T	33 (16.5)	teljes (N=214)	34 (15.9)	0.8658	teljes (N=105)	10 (9.5)	0.0962
					korai (N=132)	22 (16.7)	0.9681	korai (N=63)	6 (9.5)	0.1742
					késői (N=82)	12 (14.6)	0.6976	késői (N=42)	4 (9.5)	0.1842

Gyakoriság [N, (%)]. * szignifikáns az adott haplotípust hordozó egészséges kontrollal összehasonlítva

Mivel ismert, hogy bizonyos ERAP1 variánsok csak a HLA-C rizikó allél jelenlétében befolyásolják a psoriasisra való fogékonyságot(83), az ERAP1 SNP-eket a következőkben a HLA-C pozitív psoriasisos és arthritis psoriaticás betegekben vizsgáltuk meg. Az ERAP1 SNP-k előfordulási gyakoriságát összehasonlítottuk a legalább egy HLA-C rs10484554 kópiát hordozók (HLA-C pozitív) és nem hordozók (HLA-C negatív) esetén (11. Táblázat). Két ERAP1 SNP arthritis psoriaticára hajlamosító tényezőként viselkedett a HLA-C pozitív egyének

esetén. Ezek egyike, az rs27524 ERAP1 SNP a HLA-C pozitív egyénekben a PsA kialakulásának rizikóját 2,33-szorosra növelte ($p=0,0185$), hasonlóan korábbi közleményekhez.(83) Érdekes, hogy eredményeink szerint (9. Táblázat) az rs27524 SNP önmagában csak a késői PsA vonatkozásában szerepel hajlamosító tényezőként, a HLA-C-vel együtt azonban a PsA iránti hajlamot általában növeli. A másik ERAP1 SNP (rs27525) ugyanakkor a HLA-C pozitív egyénekben csökkentette a korai PsA kialakulásának rizikóját (OR 0,42, $p=0,0339$). Azaz, ennek az SNP-nek a jelenléte a HLA-C pozitív egyének esetén részleges védelmet biztosíthat a PsA kialakulásával szemben. Az rs30187, rs10050860 és rs17482078 SNP-k esetén nem észleltünk a HLA-C és az ERAP1 között interakciót.

11. Táblázat – HLA-C és ERAP1 interakciók psoriasis vulgarisban (PsV) és arthritis psoriaticában (PsA).

ERAP1 SNP	PsV (N=214)				PsA (N=105)			
	Betegség kezdet	p*	OR	95% CI	Betegség kezdet	p*	OR	95% CI
rs30187	teljes (N=214)	0.0869	1.66	0.93-2.98	teljes (N=105)	0.0818	1.84	0.92-3.67
	korai (N=132)	0.0837	1.74	0.93-3.28	korai (N=63)	0.1812	1.70	0.78-3.69
	késői (N=82)	0.3197	1.49	0.68-3.29	késői (N=42)	0.1302	2.17	0.79-6.00
rs10050860	teljes (N=214)	0.3092	0.73	0.40-1.33	teljes (N=105)	0.2893	0.68	0.34-1.39
	korai (N=132)	0.4206	0.77	0.40-1.46	korai (N=63)	0.2090	0.59	0.26-1.34
	késői (N=82)	0.3266	0.66	0.29-1.51	késői (N=42)	0.8050	0.88	0.33-2.39
rs17482078	teljes (N=214)	0.2568	0.71	0.39-1.29	teljes (N=105)	0.2893	0.68	0.34-1.39
	korai (N=132)	0.3374	0.73	0.38-1.39	korai (N=63)	0.3209	0.67	0.30-1.49
	késői (N=82)	0.3266	0.66	0.29-1.51	késői (N=42)	0.5211	0.72	0.26-1.99
rs27524	teljes (N=214)	0.1572	1.52	0.85-2.72	teljes (N=105)	0.0185	2.33	1.15-4.72
	korai (N=132)	0.1587	1.57	0.84-2.95	korai (N=63)	0.0500	2.21	0.99-4.94
	késői (N=82)	0.3905	1.41	0.64-3.12	késői (N=42)	0.0730	2.57	0.90-7.36
rs27525	teljes (N=214)	0.3682	0.74	0.38-1.43	teljes (N=105)	0.0516	0.48	0.23-1.01
	korai (N=132)	0.3473	0.72	0.36-1.44	korai (N=63)	0.0339	0.42	0.19-0.94
	késői (N=82)	0.6254	0.80	0.33-1.94	késői (N=42)	0.4278	0.65	0.23-1.87

* HLA-C (rs10484554) pozitív/ERAP1 pozitív személyek HLA-C (rs10484554) pozitív/ERAP1 negatív személyekkel összehasonlítva

Megbeszélés

A psoriasisra hajlamosító *PSORS1* lókuszon belül a *HLA-Cw6* gén mutatja a legerősebb asszociációt a betegséggel: a pikkelysömörösök mintegy 60%-a hordozza a *HLA-Cw*0602* allélt.(78) Ugyanakkor a csak bőrtünetekkel bíró betegcsoporttal összehasonlítva, a *HLA-Cw*0602* pozitivitás lényegesen ritkább a PsA csoportban, illetve az allél jelenléte hosszabb bőrtünet-ízületi tünet intervallummal és enyhébb arthritises tünetekkel asszociált.(171-173) Kutatásunk a *HLA-Cw6* és *ERAP1* gének polimorfizmusainak gyakorisága és a psoriasis illetve arthritis psoriatica különböző klinikai fenotípusai közötti összefüggést vizsgálták. Adatbázisunk korai és késői kezdetű psoriasisos eseteket, valamint csak bőrtünetekkel és csak ízületi tünetekkel rendelkező betegektől származó mintákat is tartalmazott. Eredményeink megerősítették a pikkelysömör és a *HLA-Cw6* illetve *ERAP1* közötti genetikai asszociációt.(83) Az *HLA-Cw*0602* rs10484554 SNP-je nagyon erős hajlamosító tényezőnek bizonyult a psoriasis esetén, és az asszociáció erőteljesen szignifikáns volt mind a PsV mind a PsA tekintetében. Eredményeink szerint, korábbi vizsgálatokkal egyezően, csak a korai pikkelysömör asszociált HLA-C-vel.(174, 175) Nemrégiben azonban más módszerek segítségével a *HLA-Cw*06* asszociációját késői típusú psoriasisal is sikerült igazolni.(176)

Az *ERAP1* gén variánsainak psoriasisal való asszociációját a közelmúltban igazolták.(177) Az *ERAP1* fehérje az endoplazmatikus retikulumba szállított peptideket az N-terminális végnél hasítja, ezáltal fontos szerepet játszik az MHC I. molekulák által bemutatott antigén repertoár kialakításában.(178) Az *ERAP1* szerepét arthritis psoriaticában is feltételezték, a vizsgálatok azonban nem igazoltak az *ERAP1* és a PsA illetve PsA szubfenotípusok között asszociációt.(168) Egy, a közelmúltban megjelent vizsgálat a 10 és 20 év között kezdődő psoriasis és az *ERAP1* között mutatott ki összefüggést, míg a 10 év alatti életkorban megjelenő pikkelysömör esetén nem.(177)

Eredményeink alapján az *ERAP1* gén rs27524 és rs30187 SNP-i, illetve a *HLA-C* gén rs10484554 SNP-je hozzájárulnak a pikkelysömörös hajlam kialakulásához. Az *ERAP1* gén rs27525, rs17482078 és rs10050860 SNP-i esetén a ritka allélek előfordulási gyakorisága magasabb volt az egészségesek között, így feltételezhető, hogy az ezeket a ritka allélokat hordozó egyének a pikkelysömör kialakulásával szemben bizonyos mértékben védettek. Az *ERAP1* és a *HLA-C* illetve a psoriasis közötti asszociáció mind a csak bőrtünetekkel mind az ízületi tünetekkel rendelkező csoportokban kimutatható volt. A betegek korai és késői kezdetű csoportokba sorolása a pikkelysömör genetikai hátterének életkorral való összefüggését igazolta: ezek az SNP-k a korai kezdetű psoriasisal erőteljesebb asszociációt mutattak.

Bár bizonyos populációkban az *ERAP1* nem függött és nem állt kapcsolatban a *HLA-Cw*06:02* génnel, a közelmúltban a *HLA-C* és az *ERAP1* interakcióját írták le.(83, 115) Továbbá *HLA-Cw*06:02* és az egyik *ERAP1* SNP között domináns episztázist azonosítottak psoriasisban.(90)

Az *ERAP1* rs27524 SNP-ről korábban kimutatták, hogy a 10 és 20 éves kor között megjelenő psoriasis patogenezisével mutat összefüggést.(177, 179) Eredményeink szerint ez az SNP ugyanakkor a késői pikkelysömörös csoporthoz kapcsolódott, és fokozta a psoriasis kialakulásának valószínűségét. Saját adataink szerint az rs30187 *ERAP1* SNP jelenléte a késői életkorban megjelenő arthritis psoriatica kialakulásának valószínűségét fokozza. Ez némileg ellentmondásban áll egyes korábbi vizsgálati eredményekkel, (83, 177) ugyanakkor az európai populációban gyakori psoriasisra hajlamosító allél hasonló hatását nem sikerült igazolni kelet ázsiai populációban.(165)

Eredményeink szerint az *ERAP1* gén rs27525 és rs17482078 SNP-it hordozó egyének az arthritis psoriatica korai megjelenésű formájával szemben védettséget hordoznak. Hasonlóan, az *ERAP1* gén rs10050860 SNP-jét hordozó egyénekben a psoriasis és az arthritis psoriatica korai kezdetű formája kisebb valószínűséggel alakul ki.

Az *ERAP1* két kódoló SNP-je (rs17482078 rs10050860) illetve az rs30187 között kapcsoltsági egyensúlyhiány áll fenn (3. Ábra). *HLA-B* pozitív spondylosis ankylopoietica betegekben az (rs17482078/rs10050860/rs30187/rs2287987–TTCC) haplotípus a betegség kialakulásával

szemben védő hatásúnak bizonyult, (164) míg az rs17482078/rs10050860/rs30187-CCT haplotípust korábban AS rizikó tényezőként azonosították belga populációban.(180) Az általunk vizsgált psoriasisos populációban a B haplotípus (rs17482078/rs10050860/rs30187-CCT), az AS-hez hasonlóan,(164) a késői kezdetű arthritis psoriaticára hajlamosító tényezőnek bizonyult. A másik 3 haplotípus esetén nem lehetett kimutatni sem a psoriasisal sem az arthritis psoriaticával patogenetikai összefüggést. Ezen eredmények alapján az AS-re hajlamosító *ERAP1* haplotípus fokozza a pikkelysömör esetén is az ízületi tünetek megjelenésének valószínűségét.

A GWAS vizsgálatok az *ERAP1* és a HLA-C SNP-k közötti interakciót igazoltak. Ez az interakció az rs10484554 *HLA-C* SNP esetén legalább egy rizikó allélt hordozókon volt a legkifejezettebb.(83) Egy másik vizsgálatban az *ERAP1* (rs207524, rs30187, rs26653) genetikai asszociációja csak a 10-20 éves életkorban megjelenő psoriasisra korlátozódott, de nem függött a *HLA-Cw*0602* státusztól.(177) Saját eredményeink szerint a HLA-C pozitív személyekben az rs27524 *ERAP1* SNP jelenléte 2,33-szorosra növelte a PsA kialakulásának esélyét ($p=0,0185$), annak ellenére, hogy ez az *ERAP1* SNP önmagában csak a késői kezdetű PsA kialakulásának esélyét fokozta (9. Táblázat). Ugyanakkor az rs27525 *ERAP1* SNP a HLA-C pozitív egyéneknél csökkentette a PsA kialakulásának esélyét (OR 0,42, $p=0,0339$), azaz ennek az SNP-nek a HLA-C-vel együttes jelenléte a PsA kialakulásával szemben védő hatású. Összegezve a jelenlegi és korábbi eredményeket, az *ERAP1* és a HLA-C gének genetikai variációi a psoriasis kialakulását életkor-függő módon befolyásolják. Késői életkorban (40 év felett) jelentkező pikkelysömör esetén a *HLA-Cw*0602* asszociáció lényegesen gyengébb, azaz a psoriasist indokolt a tünetek 40 éves életkor alatti és feletti jelentkezése szerint csoportosítani, és ez a csoportosítás genetikai értelemben is megfelelő. A soktényezős betegségek pontos csoportosítása a tünetek és a megjelenési életkor alapján egyre inkább jelentőséggel bír nem csak kutatási okból, hanem a személyre szabott orvoslás szempontjából is.

5.2. A PIKKELYSÖMÖR IMMUNPATOGENEZISÉNEK FELDERÍTÉSÉRE IRÁNYULÓ VIZSGÁLATOK

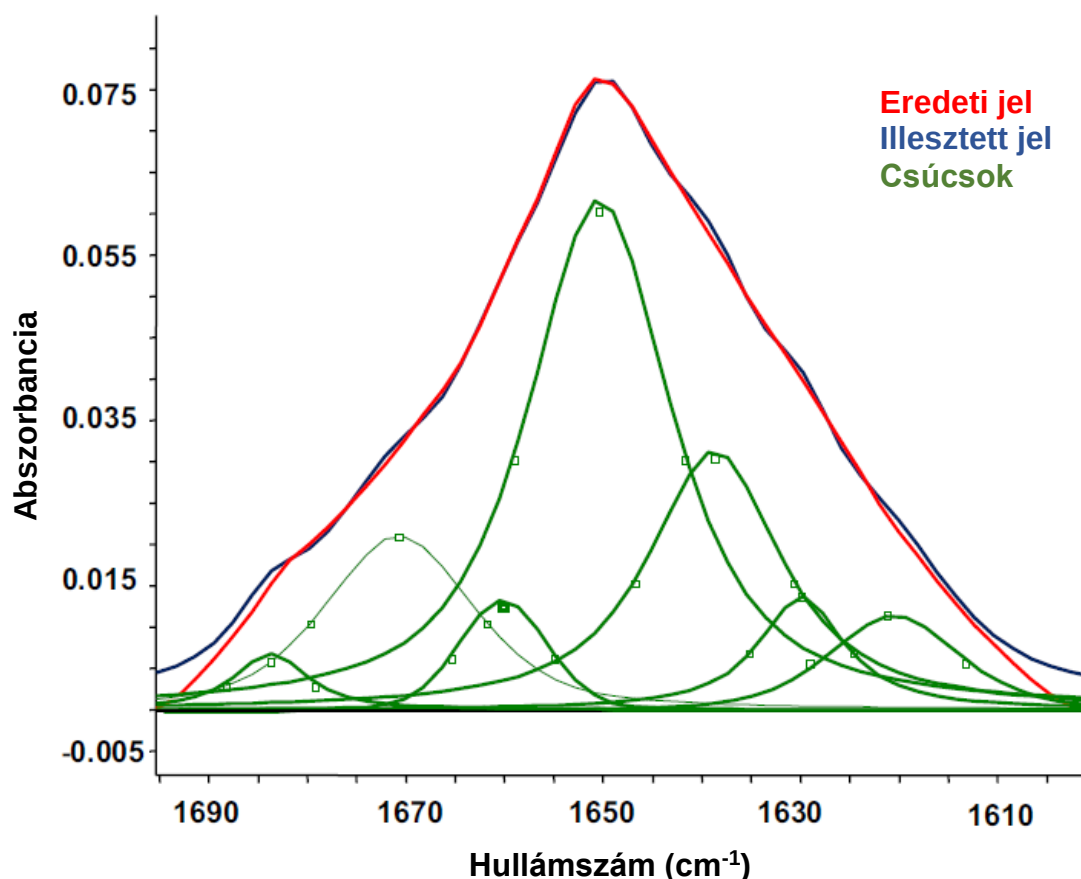
5.2.1. A tünetmentes psoriasisos bőr fehérje szerkezetének vizsgálata

Szövettanilag a pikkelysömört keratinocita hyperproliferáció, az epidermis és dermis limfocitózis és granulocitózis infiltrációja, illetve a dermális erek dilatációja jellemzi. A hámsejtek hiperproliferációja a stratum corneum (SC) működésének zavarát eredményezi. A stratum corneum, az epidermis legkülső rétege keratinban gazdag magnélküli sejtekből (corneociták) és az őket körülvevő, lipidekből felépülő sejtek közötti mátrixból áll.(181) Jól ismert, hogy a bőr permeabilitásában fontos szerepet játszanak a lipid kettősrétegek, és, hogy a pikkelysömörös bőr jobban átjárható, mint az egészséges bőr.(182) Számos vizsgálat kimutatta továbbá, hogy

a pikkelysömörös bőr lipid metabolizmusa is károsodott, (183, 184) ugyanakkor a psoriasisos bőrben a stratum corneum fehérje összetételének és szerkezetének változásait még nem tanulmányozták részletesen.

A Fourier transzformációs infravörös (FTIR) spektroszkópiát a fehérjék vizsgálatára legelterjedtebben a másodlagos szerkezet analízise során alkalmazzák. Az FTIR spektroszkópia az infravörös sugárzás mintában történő abszorpciója hullámhosszának és intenzitásának mérésén alapul. Az úgynevezett amid-I sáv régiója ($1700-1600\text{ cm}^{-1}$) a fehérjék másodlagos szerkezeti komponenseire leginkább érzékeny spektrális régió. Ez legfőképp (mintegy 80%-ban) a peptid kapcsolatok C=O feszülési vibrációiból adódik. A gyengített teljes reflexiós FTIR (ATR-FTIR) spektroszkópia a stratum corneum zsír-, fehérje- és víztartalmának jellemzésére gyakran alkalmazott eszköz. (185) A mintát egy infravörös-transzparens kristályra helyezik, az IR-sugarat a magas refrakciós indexű kristályra irányítják, ahol a belső visszaverődés egy tűnékeny hullámot hoz létre, mely behatol a mintába. ATR-FTIR esetén nincs szükség a minta előkészítésére. Vizsgálataink során a korábban már leírt módszer alapján átlátszó ragasztószalagot alkalmaztunk a humán stratum corneum spektrumának meghatározására. (186) Célkitűzésünk ezért az volt, hogy a pikkelysömörös és az egészséges stratum corneum fehérje szerkezetét megvizsgáljuk gyengített teljes reflexiós FTIR (ATR-FTIR) spektroszkópia segítségével.

Az amid-I sáv a bőr ATR-FTIR spektrumában jól elkülönülten jelenik meg, ami a fehérje vázon belül az amid csoportok átmeneti dipólusmomentumának kapcsoltságára vezethető vissza. A különböző másodlagos fehérje szerkezeteknek megvan a maguk saját karakterisztikus amid-I sávja. Ugyanakkor, a karakterisztikus sávok közötti jelentős átfedés miatt a rögzített infravörös spektrum amid-I sávjai túl komplexek az egyes alkotórészek és a másodlagos szerkezetek közötti közvetlen korrelációhoz. (187) Az úgynevezett sávszűkítési eljárások, mint például az FSD és a görbe-illesztés, nagyban növelik ennek a sávnak, mint értelmezhető szerkezeti mintának a jelentőségét. Az ilyen matematikai eljárások ez egyes komponensek fél-sáv szélességének szűkítésével fokozzák a szeparáció mértékét, így a spektrum jelentős mértékű torzítása nélkül biztosítanak jobb vizualizációt. Az eljárások legnagyobb hibája, hogy a spektrumban mind a jelet mind a zajt hajlamosak felerősíteni. A zaj jelentős megnövekedése miatt ezért az FSD-t általában finomító funkcióval kell összekapcsolni. (188) A regisztrált spektrumoknak megfelelő tartományok vizsgálatára FSD-t alkalmaztunk. Így meghatározható volt a különböző másodlagos struktúrával rendelkező fehérje lánc részek jelenlétére utaló amid-I sávok komponenseinek hozzávetőleges gyakorisága. (189) Mindegyik spektrumra 7 sávot illesztettünk, majd a területeiket összehasonlítottuk (4. Ábra).

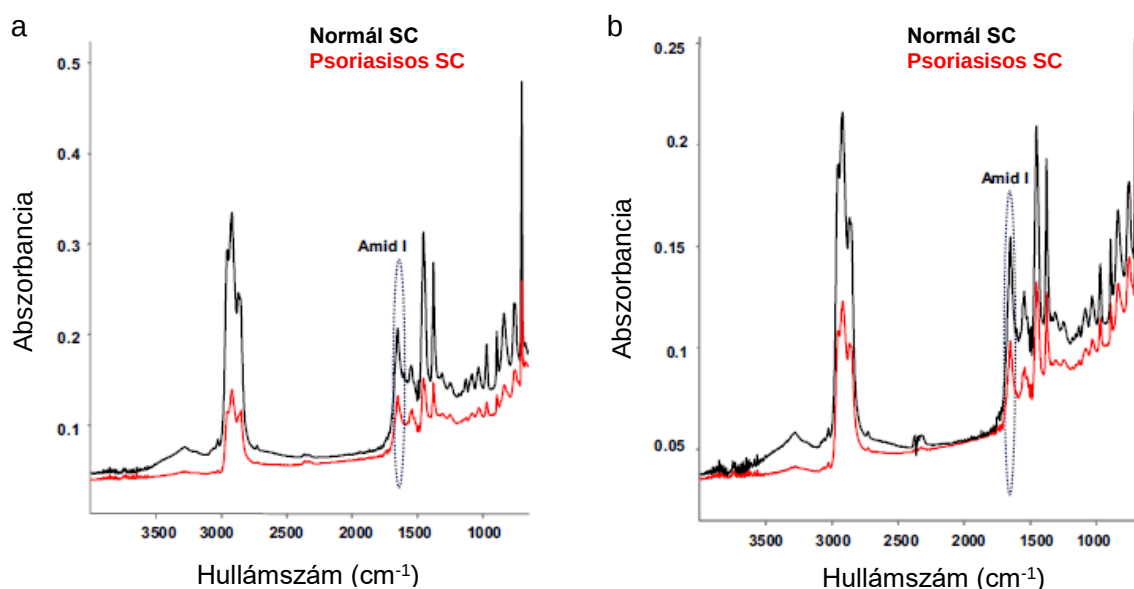


4. Ábra – A stratum corneum eredeti FTIR spektruma, valamint a dekonvolvált és görbeillesztett komponensek.

A bennfoglalt sávok területeinek aránya alapján megbecsülhető a különböző másodlagos fehérje szerkezettel rendelkező részek aránya. A fehérje molekula az aminosav láncból alakul ki. Egy fehérje másodlagos szerkezetét a peptidváz térbeli orientációját megszabó dihedrális szögek (ϕ , ψ), illetve a specifikus hidrogén kötések határozzák meg. A szabályos másodlagos szerkezetek közé tartoznak az α -hélixek és a β -lemezek. Az ideális α -hélixben egy fordulatra átlagosan 3,6 aminosav csoport jut, és a hélixben szereplő aminosav csoportok karboniloxigénje és a szekvenciában 4 csoporttal távolabb eső aminosav maradék N-H csoportja között H-hidak jönnek létre. Az α -hélix kialakításában részt vevő aminosavak ϕ szöge mintegy -60° , a ψ szöge mintegy -45° . A β -lemez szerkezetet β -láncok hozzák létre a láncok közötti hidrogénhíd kötések révén. A láncok elrendeződése lehet parallel, antiparallel, vagy a kettő keveréke. A parallel β -lemezekben a láncok egy irányban futnak, míg az antiparallel lemezekben váltakozó irányban. A β -lemezekre jellemző torziós szögek $\phi \sim -130^\circ$ és $\psi \sim -120^\circ$, ami jobbirányban csavarodó nyújtott szerkezetet eredményez.

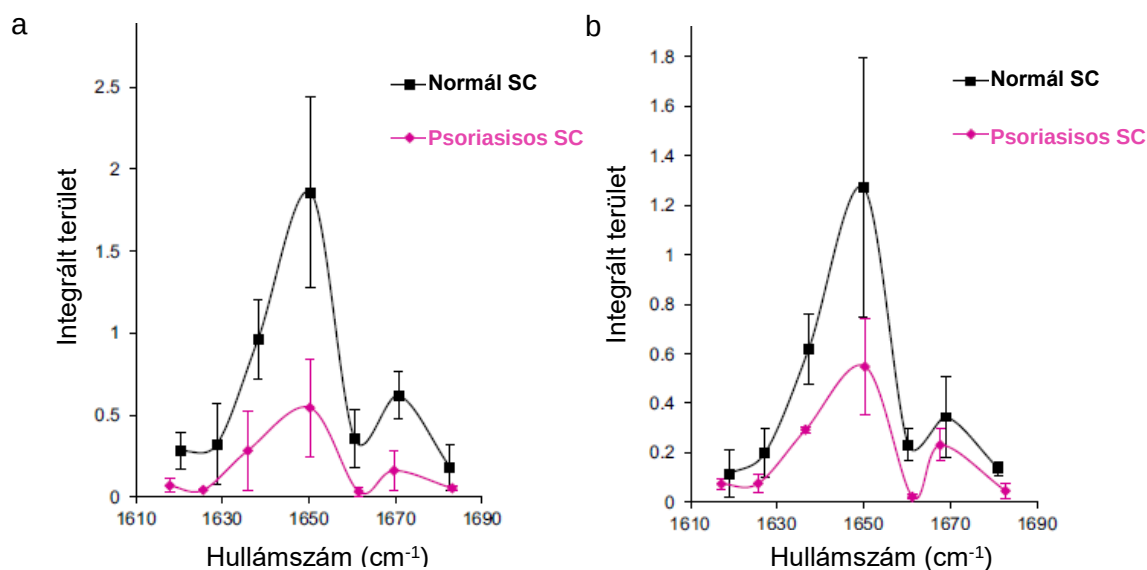
A kanyarok révén a fehérje visszacsavarodhat, és a végeket összetartó hidrogén kötések segítségével stabilabbá válhat. A kanyarokat a hidrogén kötött struktúrák kialakításában részt

vevő aminosavak száma alapján osztályozhatjuk. A stratum corneum számára a nagyobb flexibilitást a keratin filamentumok kevésbé szoros összecsomagolása és a diszulfid keresztkötések alacsonyabb száma biztosítja. Vizsgálataink szerint az amid-I sávok intenzitása összességében is alacsonyabb volt a pikkelysömörös stratum corneumban mint az egészséges bőrben (5. Ábra).



5. Ábra – A normál és a psoriasisos stratum corneum (SC) spektrumai között mért intenzitási különbségek. a: Férfi, b: Nő.

A legkifejezettebb eltérést ugyanakkor az 1660 cm^{-1} -nél lévő sáv mutatta (6. Ábra). A stratum corneum fehérjéi többnyire α -helikális szerkezetűek.(190) Az 1650 cm^{-1} -nél lévő sáv egy α -hélix jelenlétére utal, amelynek mindig a legnagyobb a területe (6. Ábra). Az 1660 cm^{-1} -nél lévő sáv ugyanakkor a fehérjeláncon belüli kanyarra jellegzetes.(189) Ennek a sávnak az intenzitása gyakorlatilag nulla a psoriasisos mintákban, ami a kanyar szerkezetek gyakoriságának csökkenésére utal (12. Táblázat). A nemek közti bőreltérések (191) miatt a táblázatban külön tüntettük fel a férfiak és nők esetén mért értékeket.

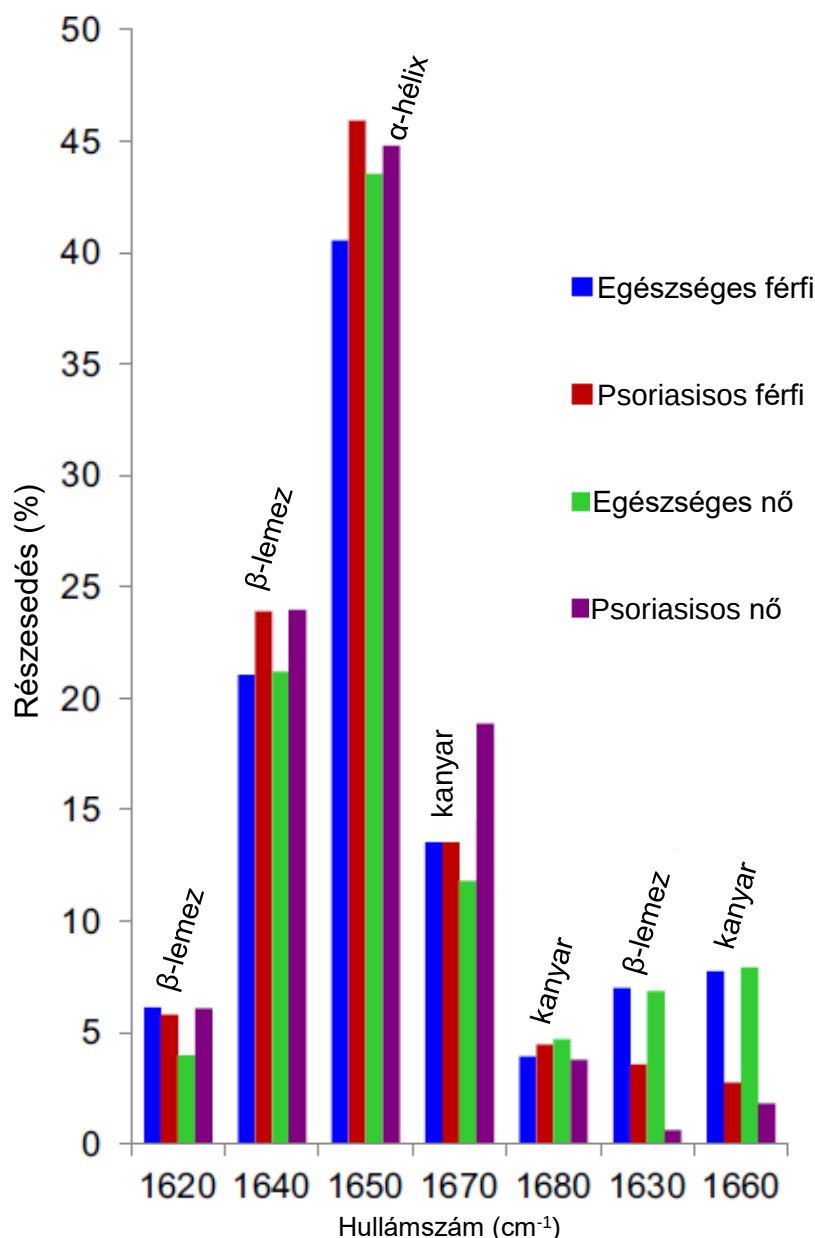


6. Ábra – Az amid-I sáv illesztett komponenseinek területe normál és psoriasisos stratum corneum esetén. a: Férfi, b: Nő.

12. Táblázat – Az amid-I fehérje szerkezetek integrált területe csökkent psoriasisban.

	β -lemez		α -hélix	Kanyar		β -lemez	Kanyar
Hullámszám (cm^{-1})	1620	1640	1650	1670	1680	1630	1660
Egészséges férfi átlagos integrált terület ($\pm$ SD)	0,28 (0,11)	0,96 (0,24)	1,85 (0,58)	0,62 (0,15)	0,18 (0,14)	0,32 (0,25)	0,36 (0,17)
Psoriasisos férfi átlagos integrált terület ($\pm$ SD)	0,07 (0,04)	0,28 (0,24)	0,54 (0,30)	0,16 (0,12)	0,05 (0,02)	0,04 (0,005)	0,03 (0,03)
Psoriasisos vs. egészséges integrált terület aránya (%)	24,6	29,4	29,3	25,9	29,3	13,2	9,2
Egészséges nő átlagos integrált terület ($\pm$ SD)	0,12 (0,10)	0,62 (0,14)	1,27 (0,52)	0,34 (0,16)	0,14 (0,03)	0,20 (0,10)	0,23 (0,06)
Psoriasisos nő átlagos integrált terület ($\pm$ SD)	0,07 (0,02)	0,29 (0,01)	0,55 (0,19)	0,23 (0,06)	0,05 (0,03)	0,08 (0,04)	0,02 (0,01)
Psoriasisos vs. egészséges integrált terület aránya (%)	64,4	47,4	43,1	67	33,9	3,9	9,7

A 7. Ábra az 1660 cm^{-1} -nél lévő csúcs területét hasonlítja össze egészségesek és pikkelysömörösök között. Psoriasisban ennek a sávnak az intenzitása szignifikánsan alacsonyabb mind férfiak mind nők esetén (7. Ábra, a: férfiak $p=0,05^*$ és b: nők $p=0,01^{**}$). Az amid-I sáv összes komponensének területe alacsonyabb psoriasis esetén, mint egészséges csoportban, de az eltérés a legkifejezettebb az 1630 és az 1660 cm^{-1} -nél lévő csúcsok esetén (6. Ábra). Az 1630 cm^{-1} -nél lévő csúcs a β -lemezre jellegzetes szerkezet közepén helyezkedik el, míg az 1660 -nál lévő kanyar szerkezetet jelez. Az utóbbi sáv intenzitásának a csökkenése azoknak a struktúráknak az elvesztését jelentheti, melyek a stratum corneum fehérjéinek rugalmasságát biztosítják.



7. Ábra – Az amid-I sáv komponenseinek százalékos részesezése a teljes intenzitásból egészséges és pikkelysömörös minták esetén.

Megbeszélés

Vizsgálataink szerint a tünetmentes pikkelysömörös epidermisben a fehérje szerkezet eltér az egészséges bőrtől. Azt, hogy ez a szerkezeti változás pontosan melyik fehérjéket érinti, illetve, hogy milyen funkcionális eltérésekkel jár, jelenleg nem ismert. Ugyanakkor több olyan epidermális struktúrfehérje (pl. LCE3B, LCE3C) is ismert, melyek fontos szerepet játszanak az epidermális barrier kialakításában, és genetikai eltéréseik psoriasisal asszociáltak. (96, 159) Ebből adódóan elképzelhető, hogy a vizsgálataink során észlelt fehérje szerkezeti eltérések akár az LCE fehérjék változásaiból is származhatnak, így funkcionális jelentőséggel bírhatnak.

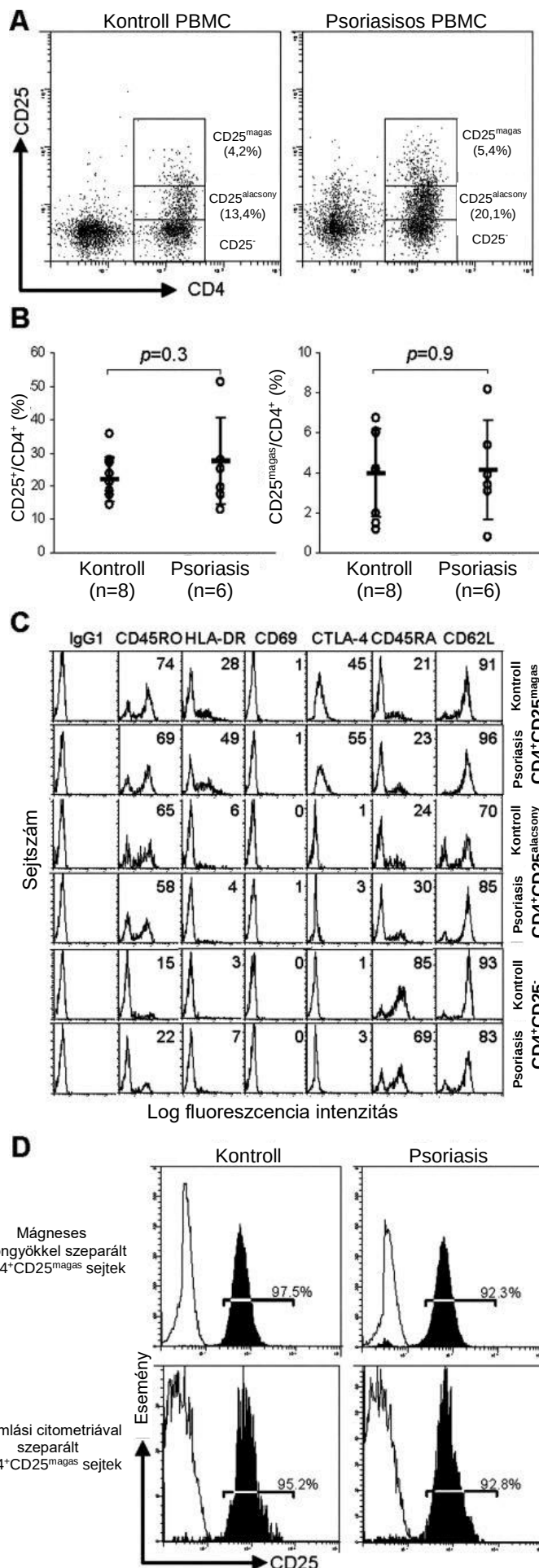
A hámréteg celluxszal történő eltávolítása az ATR-FTIR spektroszkópiával kombinálva egyszerű, gyors, nem invazív módszer a pikkelysömörös epidermis tanulmányozására, illetve esetlegesen az antipsoriaticus terápia hatékonyságának monitorizálására.

5.2.2. A regulátor T-sejtek működésének vizsgálata psoriasisban

A kellően hatékony, de a gazdaszervezetre nem káros (nem autoimmunitást eredményező) immunreakciók kivitelezése érdekében alapvetően fontos a gátló és az effektor funkciók egyensúlyának folyamatos fenntartása és finomhangolása. A kilencvenes évek második felétől számos immunregulációs hatású T-sejt csoportot írtak le, és igazolták ezen sejtek alapvető jelentőségét egyes autoimmun betegségek állatmodelljeiben is. (192) Az egyik ilyen, eredetileg egerekben azonosított CD4⁺ T-sejt a CD25 molekulát (interleukin-2 receptor α lánc) konstitutív módon expresszáló regulátor T-sejt. (193-195) T-sejt receptor (TCR) stimulációt követően a CD4⁺CD25⁺ Treg sejtek képesek más CD4⁺ vagy CD8⁺ T-sejtek aktivációját és proliferációját nem antigén specifikus módon gátolni. (194, 196) A legtöbb esetben a gátlás sejt-sejt kapcsolatot igényel, és nem függ gátló hatású citokinektől. (194, 195) Feltételezhető volt, hogy a Treg sejtek szerepet játszanak humán immunmediált betegségek kialakulásában is, mivel emberekben is a kísérleti állatokhoz hasonló gyakorisággal lehetett kimutatni a CD4⁺CD25⁺ sejteket, illetve funkcióikat tekintve is hasonlóan viselkedtek. (197-199)

Psoriasisban az effektor T-sejt funkciók látszólag túlsúlyban vannak. Pikkelysömörös betegektől származó aktivált T-sejtekkel psoriasis-szerű bőrtünetek válthatók ki súlyos immunhiányos egerekbe történő transzplantációt követően. (200) Psoriasisos bőrből létrehozott T-sejt klónok pedig képesek a pikkelysömörös, nem tünetes bőrből származó keratinocyták proliferációjának fokozására. (201, 202) Az, hogy a T-sejtek aktivációját mi tartja fenn a pikkelysömörös betegekben, ugyanakkor munkánk kezdetekor nem volt ismert. Mivel a regulátor T-sejtek működési zavara immunmediált betegségek kialakulásához vezethet, ezért célul tűztük ki, hogy megvizsgáljuk a Treg sejtek esetleges szerepét a pikkelysömör patogenezésében.

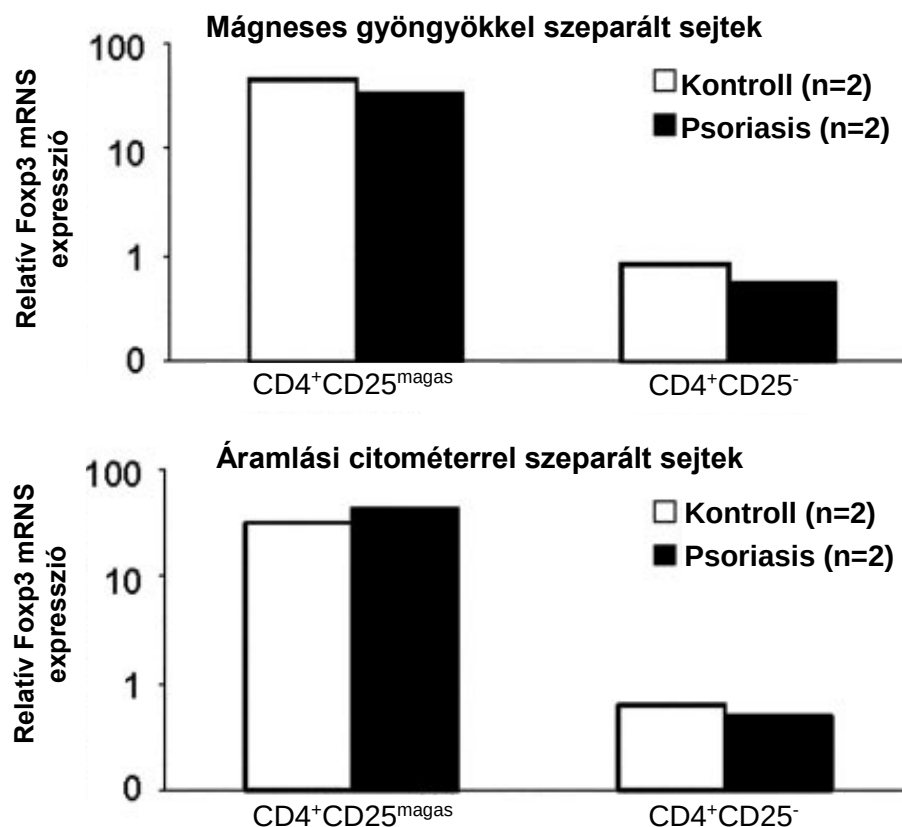
Elsőként azt vizsgáltuk meg, hogy a pikkelysömörös betegek vérében található Treg sejtek száma/aránya eltér-e az egészségesekben mért értékektől. A CD25 expresszió intenzitása alapján a humán CD4⁺ T-sejtek három populációra oszthatók: CD25^{magas}, CD25^{alacsony} és CD25⁻ sejtek. (199) Normál önkéntesekben (n=8) a CD25^{magas} és összes CD25⁺ sejtek aránya a CD4⁺ T-sejt populáción belül 4,0% és 22,0% volt. A pikkelysömörös betegekben (n=6) hasonló értékeket kaptunk: a CD25^{magas} és az összes CD25⁺ sejtek aránya 4,1% és 27,5% volt, a psoriasisos és kontroll értékek közötti különbség nem volt statisztikailag szignifikáns (8.A-B Ábra).



8. Ábra – Hasonló arányú CD4⁺CD25^{magas} Treg sejtek a kontroll és psoriasisos vérben. Egészséges kontrolloktól származó és pikkelysömörös PBMC anti-CD4 és anti-CD25 festése és áramlási citometria analízisa. **A**, Reprezentatív áramlási citometriás diagram: CD25^{magas}, CD25^{alacsony} és CD25⁻ sejtek kontroll és psoriasisos mintában. **B**, CD25⁺/CD4⁺ és CD25^{magas}/CD4⁺ sejtarányok statisztikai analízise kontroll (n=8) és psoriasisos betegek (n=6) vérében. **C**, A kontroll (n=2) és psoriasisos (n=2) vér CD25^{magas}, CD25^{alacsony} és CD25⁻ CD4⁺ sejtek sejtfelszíni és intracelluláris molekula expressziójának áramlási citometriás vizsgálata. A jobb felső sarokban lévő számok a pozitív sejtek számát jelölik. **D**, Kontroll és psoriasisos vér PBMC-ből mágneses gyöngyökkel (felső panel) és áramlási citometriával (alsó panel) szeparált CD25^{magas}CD4⁺ T-sejtek. A reprezentatív diagramok a CD25^{magas} sejtek több, mint 90%-os tisztaságát mutatják.

Szintén megvizsgáltuk a CD25^{magas}, CD25^{alacsony} és CD25⁻ sejteken számos sejtfelszíni molekula expresszióját is (8.C Ábra). Az egészséges mintákban a CD4⁺CD25^{magas} T-sejtek nagyobb mértékben fejezték ki felszínükön a CD45RO (74,1%) és a HLA-DR (28,2%) molekulákat, mint a CD4⁺CD25^{alacsony} (65,4% és 5,7%) vagy a CD4⁺CD25⁻ (14,6% és 3,2%) T-sejtek. A CD45RA expresszió ugyanakkor fordított eloszlást mutatott: a CD4⁺CD25^{magas} sejtek 21,5%-a, míg a CD4⁺CD25⁻ sejtek 84,8%-a volt CD45RA pozitív. Hasonló eredményeket kaptunk a psoriasisos betegek esetén is (8.C Ábra). Mind az egészséges mind a psoriasisos CD4⁺CD25^{magas} sejtek magas citoplazmatikus CTLA-4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4/citotoxikus T-limfocita asszociált fehérje 4) expressziót mutattak (44,9% és 55,0%), mely a Treg sejtek egyik sejtfelszíni markere. A CD4⁺CD25^{magas} sejtek szintén jelentős mértékben expresszálták a CD62L-t, ugyanakkor egyik sejtpopuláció esetén sem észleltünk jelentős CD69 (korai T-sejt aktivációs marker) expressziót. Fontos megjegyezni, hogy a három sejtpopulációban (CD25^{magas}, CD25^{alacsony} és CD25⁻ sejtek) a sejtfelszíni és intracelluláris antigén expressziós mintázatokban nem volt lényeges eltérés a normál és psoriasisos minták között. A későbbi kísérletekben elvégzett funkcionális vizsgálatokhoz CD4⁺CD25^{magas} sejteket izoláltunk mágneses gyöngyökkel vagy áramlási citometriával. Mindkét módszerrel hasonló, a CD25-t magasan expresszáló sejteket több mint 90%-ban tartalmazó populációkat kaptunk mind a kontroll mind a psoriasisos mintákból (8.D Ábra).

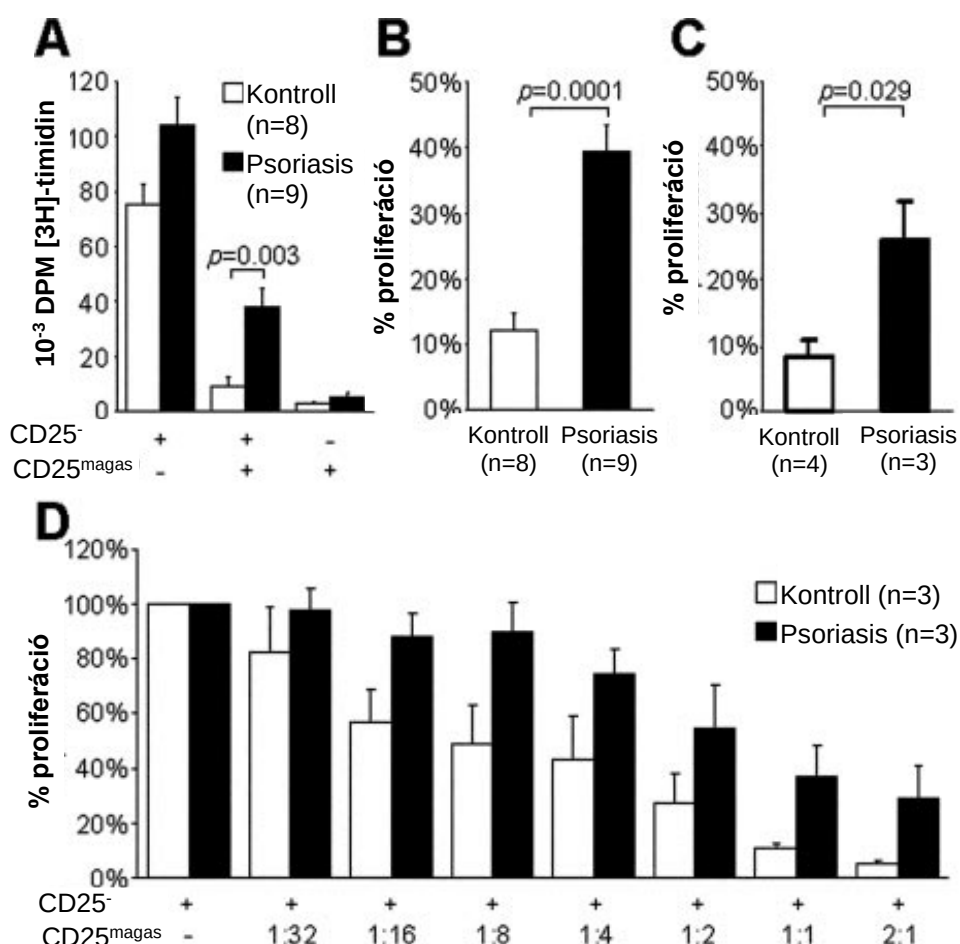
Ugyancsak megvizsgáltuk ezeknek a sejteknek a Foxp3 mRNS expresszióját valós idejű kvantitatív RT-PCR segítségével. Mind a mágneses gyöngy szelektált, mind az áramlási citometriával izolált CD4⁺CD25^{magas} sejtek hasonló mértékű, és legalább 50-szer nagyobb Foxp3 mRNS kópiaszámot tartalmaztak, mint a CD4⁺CD25⁻ sejtek (9. Ábra). Összességében ezen eredményeink arra utalnak, hogy a mágneses gyöngy szelektált és az áramlási citometriával izolált Treg sejtek fenotípusa megegyező.



9. Ábra – Foxp3 mRNS relatív expresszió psoriasisos és kontroll CD4⁺CD25^{magas} és CD4⁺CD25⁻ sejtekben. Foxp3 és 18S RNS primerrekkel végzett valós idejű kvantitatív RT-PCR eredmények, a sejtek izolálása vagy mágneses gyöngyökkel vagy áramlási citometriával történt. Valamennyi vizsgálat 2-2 különálló mintán lett elvégezve, háromszor ismételve. Az értékek az egyik kontroll személy Foxp3 expressziójához viszonyított relatív Foxp3 mRNS expressziót ábrázolják.

Ezt követően megvizsgáltuk, hogy az egészséges és psoriasisos CD4⁺CD25^{magas} Treg és CD4⁺CD25⁻ Tresp sejtek hogyan reagálnak alloantigén-specifikus T-sejt stimuláció hatására. A pikkelysömörös betegektől származó CD4⁺CD25⁻ Tresp sejtek az alloantigén stimulációra fokozottabb proliferációval válaszoltak, mint a kontroll CD4⁺CD25⁻ sejtek (10.A Ábra, bal oldali oszlop). Sem a pikkelysömörös sem a kontroll CD4⁺CD25^{magas} Treg sejtek nem proliferáltak az alloantigének hatására (10.A Ábra, jobb oldali oszlop). A Treg sejtek szabályozó aktivitása ugyanakkor károsodott volt psoriasisban. Míg a CD4⁺CD25⁻ Tresp sejtek proliferációját az 1:1 arányban hozzáadott kontroll CD4⁺CD25^{magas} Treg sejtek csaknem teljesen (átlagosan 87,8%-ban) voltak képesek gátolni (10.A és B Ábra), a psoriasisos Treg sejtek gátló képessége jelentősen csökkentnek bizonyult (átlagosan 60,6%, $p=0,0001$, 10.B Ábra). A pikkelysömörös Treg sejtek gátló képességének csökkenése hasonló mértékű volt, mint amit korábban sclerosis multiplexben és autoimmun poliglanduláris szindróma 2. típusában leírtak (203). A következőkben összehasonlítottuk a kontroll és a pikkelysömörös CD4⁺CD25⁻ Tresp sejtek proliferációját különböző Treg:Tresp arány mellett (10.D Ábra). Az 50%-os gátlás eléréséhez

szükséges Treg:Tresp arány jelentősen eltért a kontroll és a psoriasisos sejtek között. Az egészséges Treg sejtek 1:8 és 1:16 közötti aránynál gátolták a Tresp sejt proliferációt 50%-os hatékonysággal, míg psoriasisos sejtek esetén mintegy 8-szor (1:2-1:1 arány) magasabb Treg sejt számra volt szükség hasonló mértékű gátláshoz. Sőt, a pikkelysömörös Treg sejtek még 2:1 arány mellett sem tudtak ugyanolyan hatékony, csaknem teljes gátlást biztosítani, mint az egészséges kontrolloktól származó Treg sejtek már 1:1 arány mellett.

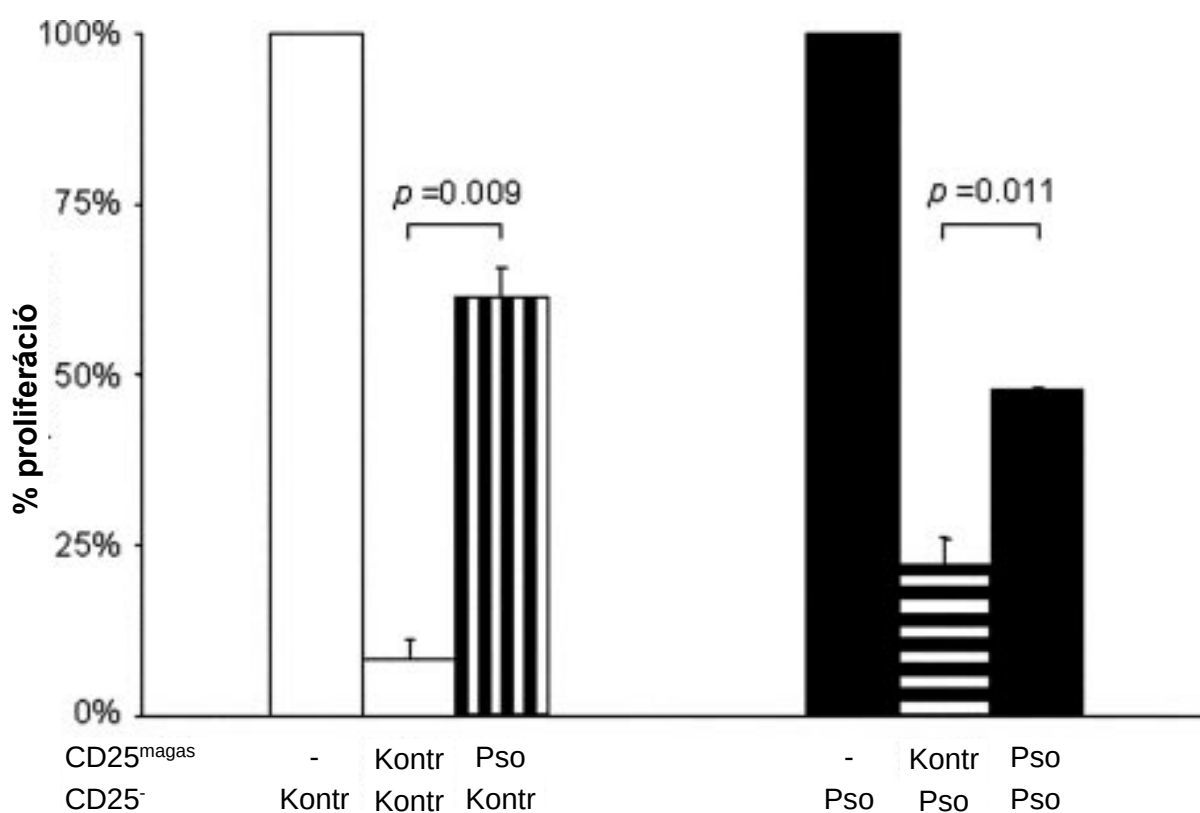


10. Ábra – A psoriasisos Treg sejtek kevésbé jól gátolják a Tresp sejtek proliferációját. A) A kontroll és psoriasisos betegek véréből származó mágneses gyöngyökkel szeparált CD4⁺CD25⁻ és CD4⁺CD25^{magas} sejteket (az ábrán CD25⁻ és CD25^{magas}) azonos arányban kevertük össze egymással, majd allogén APC jelenlétében tenyésztettük és a Tresp sejtek proliferációját timidin inkorporációval mértük. B) Alloantigén és C) anti-CD3 stimulált kontroll és psoriasisos Treg sejtek relatív gátló hatásának összehasonlítása. A stimulált CD4⁺CD25⁻ sejtek proliferációs eredményeit vettük 100%-nak. D) CD4⁺CD25⁻ és CD4⁺CD25^{magas} sejteket a jelzett arányban kevertünk össze egymással, majd allogén APC jelenlétében tenyésztettük. Az alloantigén stimulált CD4⁺CD25⁻ sejtek proliferációját tekintettük 100%-nak, a többi eredményt ehhez viszonyítottuk. Az eredmények 3-3 független kísérletből származnak.

Azért, hogy kizárjuk annak lehetőségét, hogy a különböző Treg működés a pikkelysömörös és kontroll T-sejtek eltérő alloantigén stimulációjának a következménye, poliklonális stimulációs

vizsgálatot végeztünk (10. C Ábra). A psoriasisos és a kontroll $CD4^+CD25^-$ Tresp sejteket 3 napig együtt tenyésztettük anti-CD3 antitestek jelenlétében $CD4^+CD25^{\text{magas}}$ Treg sejtekkel. Míg az egészséges Treg sejtek 1:1 aránynál csaknem teljesen gátolták az autológ Tresp sejtek proliferációját, a pikkelysömörös Treg sejtek szignifikánsan kisebb mértékű gátlásra voltak csak képesek. Azaz, mind az alloantigén-specifikus mind a poliklonális TCR stimulációval végzett vizsgálatok a psoriasisos Treg sejtek károsodott gátló funkcióit igazolták.

Azért, hogy bizonyítsuk, a psoriasisos mintákban észlelt csökkent gátlás valóban a Treg működés károsodásával és nem a pikkelysömörös Tresp sejtek fokozott proliferációs aktivitásával függ össze, keresztezett kísérleteket végeztünk, azaz a psoriasisos Treg sejtek gátló hatását egészséges Tresp sejteken vizsgáltuk, és fordítva (11. Ábra).

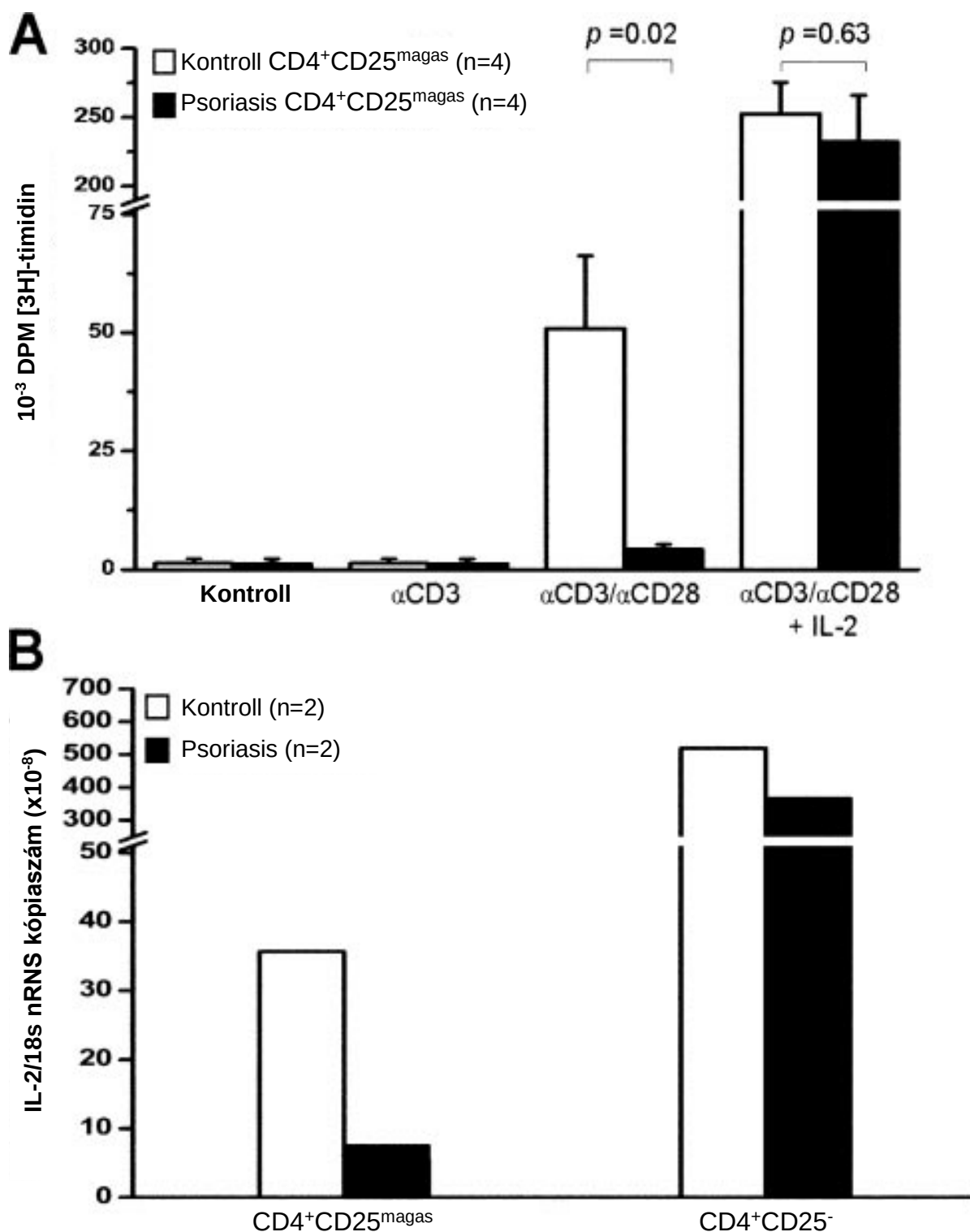


11. Ábra – A psoriasisos Treg sejtek kevésbé hatékonyan gátolják az egészséges Tresp sejtek proliferációját. A kontroll és psoriasisos betegek (az ábrán Kontr és Pso) véréből áramlási citometriás módszerrel $CD4^+CD25^-$ és $CD4^+CD25^{\text{magas}}$ sejteket (az ábrán $CD25^-$ és $CD25^{\text{magas}}$) szeparáltunk. Az egészséges $CD4^+CD25^-$ sejteket azonos arányban autológ vagy psoriasisos $CD4^+CD25^{\text{magas}}$ sejtekkel kevertük össze, illetve fordítva, majd allogén APCk jelenlétében tenyésztettük. A Tresp sejtek proliferációját timidin inkorporációs módszerrel mértük. Az eredmények két független kísérletből származnak, az oszlopok a relatív proliferációt ábrázolják. Az alloantigén stimulált kontroll és psoriasisos $CD4^+CD25^-$ sejtek proliferációját tekintettük 100%-nak, a többi eredményt ehhez viszonyítottuk.

A kontroll $CD4^+CD25^-$ sejteket allogén APC-vel inkubáltuk autológ vagy psoriasisos $CD4^+CD25^{\text{magas}}$ sejtek jelenlétében, a psoriasisos Tresp sejteket pedig autológ vagy egészséges Treg sejtekkel tenyésztettük. A Treg:Tresp sejtek azonos arányánál az

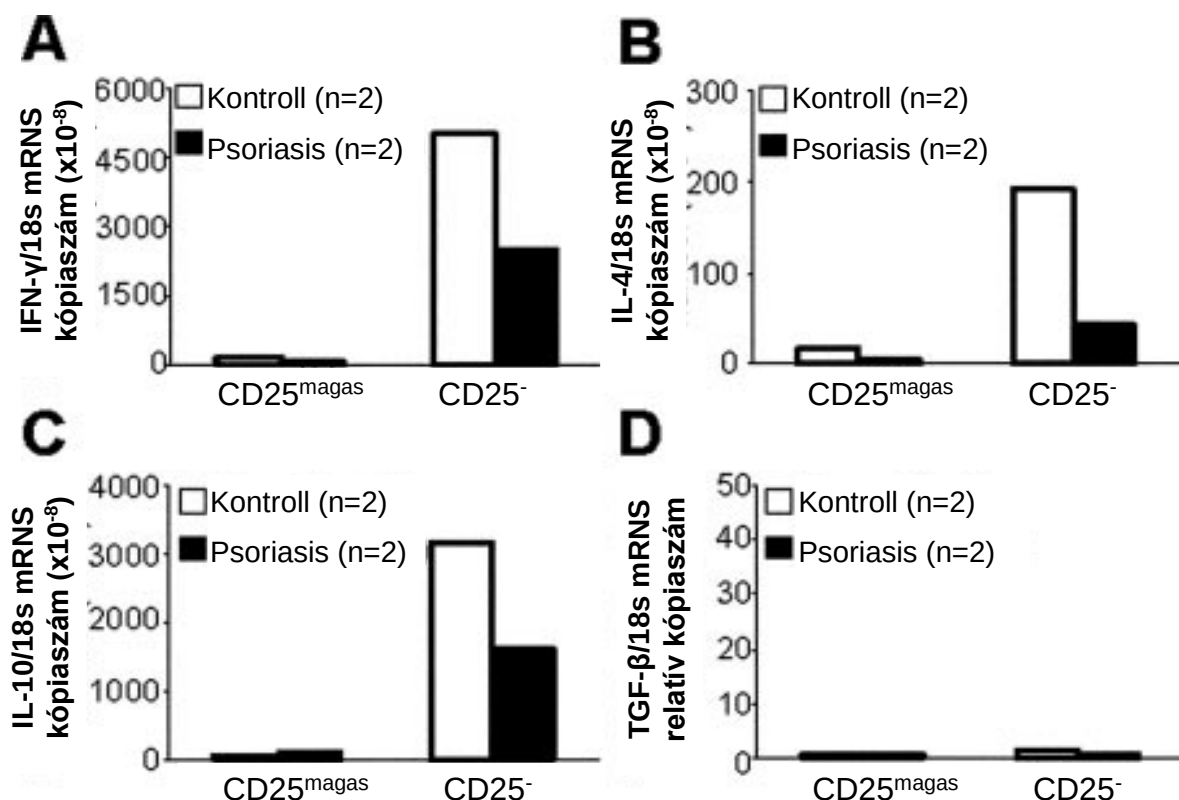
egészséges Treg sejtek 75,2%-ban gátolták a psoriasisos $CD4^+CD25^-$ sejtek proliferációját (összehasonlításként, a gátlás 88,7%-os volt autológ Tresp sejtek esetén). Ugyanakkor a pikkelysömörös betegektől származó Treg sejtek csak 34,4%-ban voltak képesek gátolni a kontroll Tresp sejtek proliferációját (az autológ psoriasisos $CD4^+CD25^-$ sejtek osztódását 52,6%-ban). Azaz a psoriasisos betegek $CD4^+CD25^{magas}$ Treg sejtjei valóban lényegesen kevésbé hatékonyan képesek csak kontrollálni az egészséges $CD4^+CD25^-$ Tresp sejtek proliferációját, mint az egészséges Treg sejtek. Az egészségesek $CD4^+CD25^{magas}$ Treg sejtjei ugyanakkor jobban képesek gátolni a hiperreaktív psoriasisos $CD4^+CD25^-$ Tresp sejtek proliferációját, mint a saját psoriasisos Treg sejtek. Az eredményeink tehát valóban a psoriasisos $CD4^+CD25^{magas}$ Treg sejtek nem megfelelő gátló működésére utalnak.

Mivel az egészséges és a psoriasisos Treg sejtek között jelentős funkcionális különbséget észleltünk, a következő kísérletekben megvizsgáltuk, hogy a Treg sejtek milyen módon reagáltak a TCR stimulációra kostimulációs szignálok jelenlétében vagy hiányában (12. Ábra). A Treg sejtekre jellemző módon sem a kontroll sem a pikkelysömörös $CD4^+CD25^{magas}$ sejtek nem proliferáltak amikor csak lemezhez kötött anti-CD3-mal stimuláltuk őket. Anti-CD3/anti-CD28 együttes stimuláció hatására mérsékelt, de jól reprodukálható proliferációt észleltünk a kontroll Treg sejtek esetén, ami összhangban van korábbi közlésekkel. (198) Ezzel ellentétben a psoriasisos $CD4^+CD25^{magas}$ sejtek teljes mértékben anergiásak maradtak a CD3/CD28 stimulációt követően. A kontroll és a psoriasisos sejtek proliferációs aktivitása közötti különbség tízszeres volt ($p=0,02$). Amennyiben a tenyészetekhez interleukin-2-t adtunk, az teljes mértékben visszaállította a pikkelysömörös $CD4^+CD25^{magas}$ sejtek proliferációs képességét, és csaknem megegyező eredményhez vezetett a kontroll és a psoriasisos sejtek esetén (12.A Ábra). További kísérletekben megvizsgáltuk a Treg sejtek saját IL-2 mRNS expresszióját valós idejű kvantitatív RT-PCR segítségével. Mind a kontroll mind a pikkelysömörös $CD4^+CD25^-$ sejtek hasonló mértékben, és viszonylag nagy kópia számban expresszálták az IL-2 mRNS-t CD3/CD28 stimulációt követően. Az egészségesektől származó $CD4^+CD25^{magas}$ sejtek egy nagyságrenddel kisebb mértékben, de még mindig jelentős kópia számban tartalmaztak IL-2 mRNS-t a stimulációt követően. Ugyanolyan aktiváció hatására, a psoriasisos $CD4^+CD25^{magas}$ Treg sejtek ugyanakkor csak további 5 nagyságrenddel kisebb mennyiségű IL-2 mRNS kópiát expresszáltak (12.B Ábra). Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a psoriasisos $CD4^+CD25^{magas}$ Treg sejtek csökkent proliferációs kapacitása a poliklonális TCR stimulációt követő nem megfelelő IL-2 termelésére vezethető vissza, nem pedig az IL-2-vel szembeni válaszkészség hiányára.



12. Ábra – A psoriasisos Treg sejtek teljesen anergiásak a CD3/CD28 stimulációval szemben. Mágneses gyöngyökkel szeparált egészséges és psoriasisos CD4⁺CD25^{magas} Treg sejteket lemezhez kötött CD3 és szolubilis CD28 jelenlétében, rekombináns IL-2 hozzáadásával tenyésztettünk. A) A sejtek proliferációját [3H]timidin inkorporációs módszerrel mértük. Az eredmények 4 kontroll és 4 psoriasisos minta független feldolgozásából származnak. B) IL-2 mRNS expresszió meghatározása valós idejű kvantitatív RT-PCR módszerrel. Anti-CD3/anti-CD28 stimulált kontroll és psoriasisos CD4⁺CD25⁻ és CD4⁺CD25^{magas} sejtekből izolált teljes RNS-t cDNS-re írtuk át, majd IL-2 és 18S specifikus primerekkel amplifikációt végeztünk. Minden kísérletet triplikátként végeztünk el, 2 kontroll és 2 psoriasisos minta felhasználásával. A kópiaszámokat plazmid standardok segítségével, a 18S RNS kópiaszámhoz viszonyítva adtuk meg.

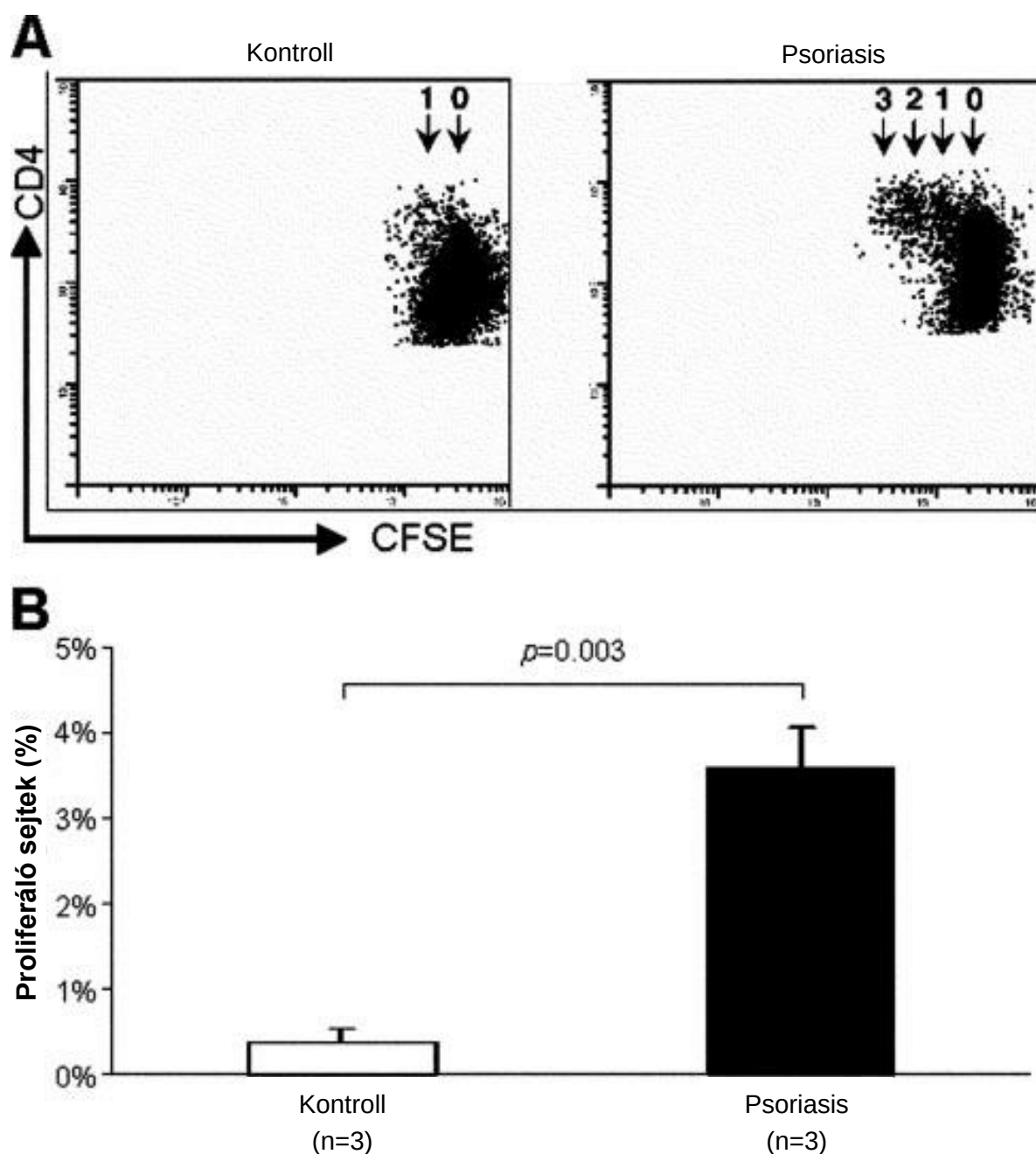
Bár a Treg sejtek hatásukat citokin-független módon fejtik ki, a Th1/Th2 egyensúlynak, illetve bizonyos Th2-specifikus citokineknek szerepet tulajdonítanak a Treg sejtek megfelelő működésében. Ezért megvizsgáltuk az egészséges és a psoriasisos $CD4^+CD25^{\text{magas}}$ Treg sejtek általános citokin profilját. A $CD4^+CD25^-$ és $CD4^+CD25^{\text{magas}}$ sejtekből izolált RNS-t cDNS-re írtuk át, majd IFN γ , IL-4, IL-10 és TGF- β specifikus primerek segítségével PCR vizsgálatot végeztünk (13. Ábra). Összességében a Treg sejtek mind a kontroll mind a psoriasisos mintákban lényegesen alacsonyabb citokin expressziót mutattak, mint az ugyanazon személyből származó Tresp sejtek. A normál és a pikkelysömörös Treg sejtek citokin expressziója között ugyanakkor nem észleltünk szignifikáns különbséget.



13. Ábra – A psoriasisos és kontroll $CD4^+CD25^{\text{magas}}$ Treg sejtek hasonló kópiaszámban expresszálják a Th1 és Th2 citokin mRNS-eket. Kontroll és psoriasisos $CD4^+CD25^-$ és $CD4^+CD25^{\text{magas}}$ sejtekből izolált teljes RNS-t cDNS-re írtuk át, majd citokin és 18S specifikus primerekkel és plazmid próbákkal amplifikációt végeztünk. Az IFN- γ (A), az IL-4 (B) és az IL-10 (C) esetén a kópiaszámokat plazmid standardok segítségével, a 18S RNS kópiaszámhoz viszonyítva adtuk meg. A TGF- β (D) esetén az értékeket egy kontroll személy eredményéhez hasonlítva, a 18S RNS-re normalizálva, relatív expresszióként adtuk meg. Valamennyi kísérletet 2 kontroll és 2 psoriasisos mintán, triplikátum formájában végeztünk el.

A $CD4^+CD25^-$ sejtek proliferációját egy másik, CFSE jelölésen alapuló módszerrel közvetlenül is meghatároztuk. Rövid (3 napos) allogén APC-vel történő tenyésztést követően a psoriasisos és kontroll Tresp sejtek is jól körülhatárolt $CD4^+CFSE^+$ populációként ábrázolódtak (14.A Ábra). Az osztódó sejtek ekkor a psoriasisos $CD4^+CD25^-$ populáció mintegy 5%-át tették ki,

míg a kontroll sejteknél kevesebb, mint 1%-ot ($p=0,003$). Azaz a psoriasisos $CD4^+CD25^-$ Tresp sejtek osztódási kapacitása valamivel magasabb volt, mint a normál $CD4^+CD25^-$ sejteké (14.B Ábra).



14. Ábra – A psoriasisos és kontroll $CD4^+CD25^-$ Tresp sejtek korai proliferációs válasza eltérő. A) Mágneses gyöngyökkel szeparált kontroll és psoriasisos $CD4^+CD25^-$ Tresp sejteket CFSE-vel jelöltük, majd allogén APC-vel tenyésztettük. Három nappal később a sejteket anti-CD4 antitestekkel festettük, majd áramlási citometriával analizáltuk. A pikkelysömörös $CD4^+CD25^-$ Tresp sejtek esetén akár 3 osztódást is észleltünk, míg a kontroll $CD4^+CD25^-$ Tresp sejtek csak egyszer osztódtak. Három-három kontroll és psoriasisos minta elemzését végeztük el, az ábra reprezentatív eredményeket ábrázol. B) A teljes CFSE jelölt $CD4^+CD25^-$ Tresp populáció osztódó részének százalékos aránya kontroll és psoriasisos mintákban.

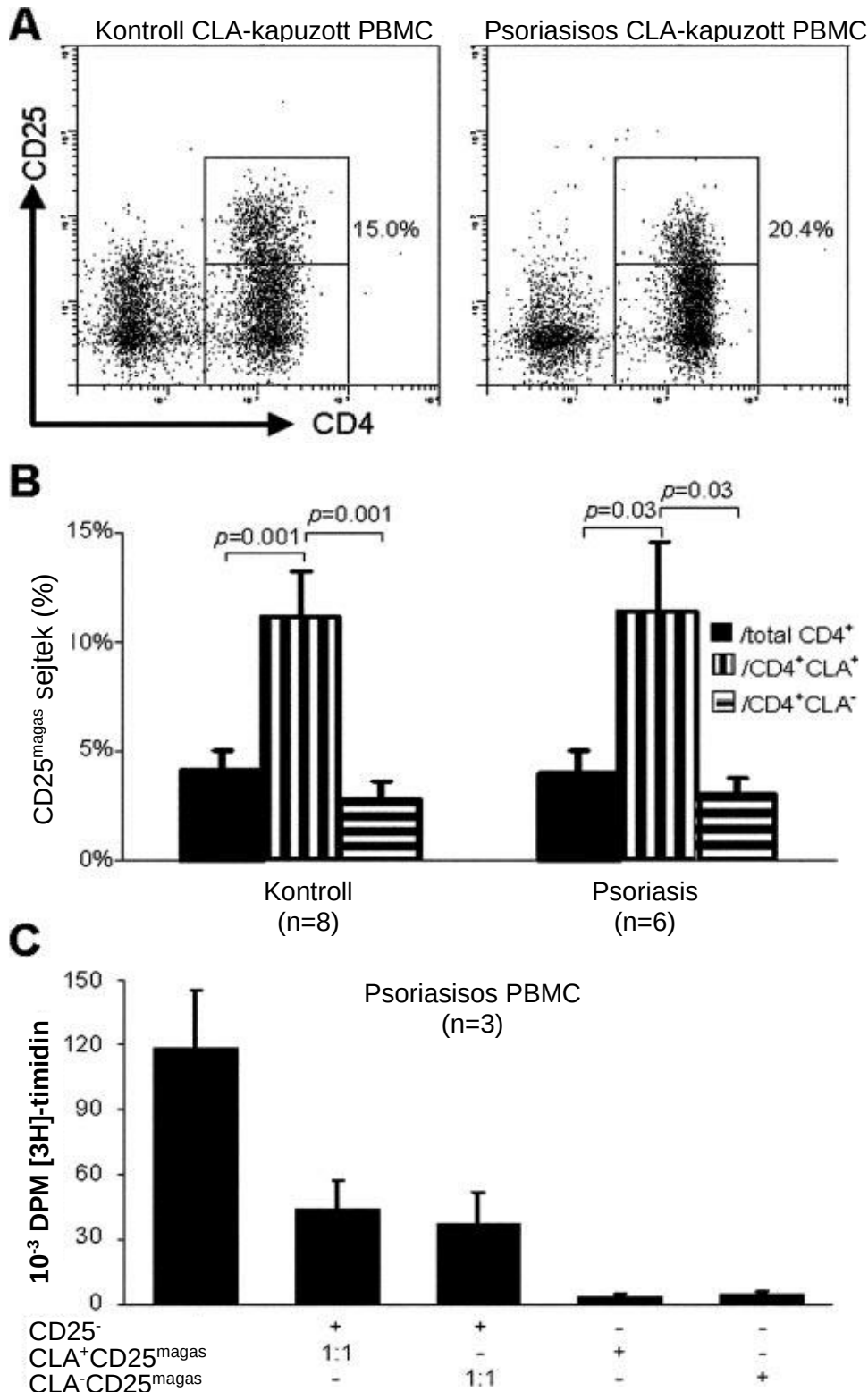
A korai proliferációs fázisban lévő T-sejtek jelentős része (psoriasis: 80,1%, kontroll: 62,2%) expresszálta a CXCR3-at, míg a nem osztódó sejteknek csak kis része (psoriasis: 8,1%, kontroll 6,2%) (13. Táblázat). A pikkelysömörös proliferáló (CFSE⁺) sejtek tehát lényegesen nagyobb arányban fejezték ki a CXCR3-at, mint a kontroll sejtek. A nem proliferáló kontroll és psoriasisos populáció között ugyanakkor nem volt különbség a CXCR3 expresszió mértékében.

13. Táblázat – A CXCR3⁺ T-sejtek lényegesen nagyobb arányban fordulnak elő a proliferáló Tresp sejtek között, és arányuk magasabb psoriasisban mint egészségesekben.

	Proliferáló populáció			Nem proliferáló populáció		
	Kontroll	Psoriasis	p	Kontroll	Psoriasis	p
Treg populációval	51,8±4,6	69,4±11	0,04	6,1±1,5	6,0±2,0	0,95
Treg populáció nélkül	62,2±6,4	80,1±2	0,04	6,2±2,4	8,1±2,5	0,09

Mivel a bőrbe vándorló (skin-homing) CLA-pozitív T-sejtek központi szerepet játszanak a bőrbetegségek, így a psoriasis patogenezisében, (204, 205) a következőkben a CLA-pozitív Treg populációt vizsgáltuk meg pikkelysömörösök és egészségesek vérében. A CLA⁺ sejtek a vérben lévő CD4⁺ populáció 14,6%-át tették ki egészségesekben (n=7), 17,2%-át psoriasisos betegekben (n=6). A CD4⁺CD25^{magas} sejtek a CLA⁺CD4⁺ sejtek 11,4%-át alkották egészségesekben, és 11,2%-át psoriasisban. Érdekes, hogy a CD4⁺CD25^{magas} sejtek mind az egészséges mind a psoriasisos vérben lényegesen alacsonyabb, 5% körüli arányban voltak jelen a teljes CD4⁺ és a CLA⁺CD4⁺ populációkban is (15. Ábra). Eredményeink arra utalnak, hogy a bőr felé elkötelezett, CLA⁺ populáció gazdagabb Treg sejtekben.

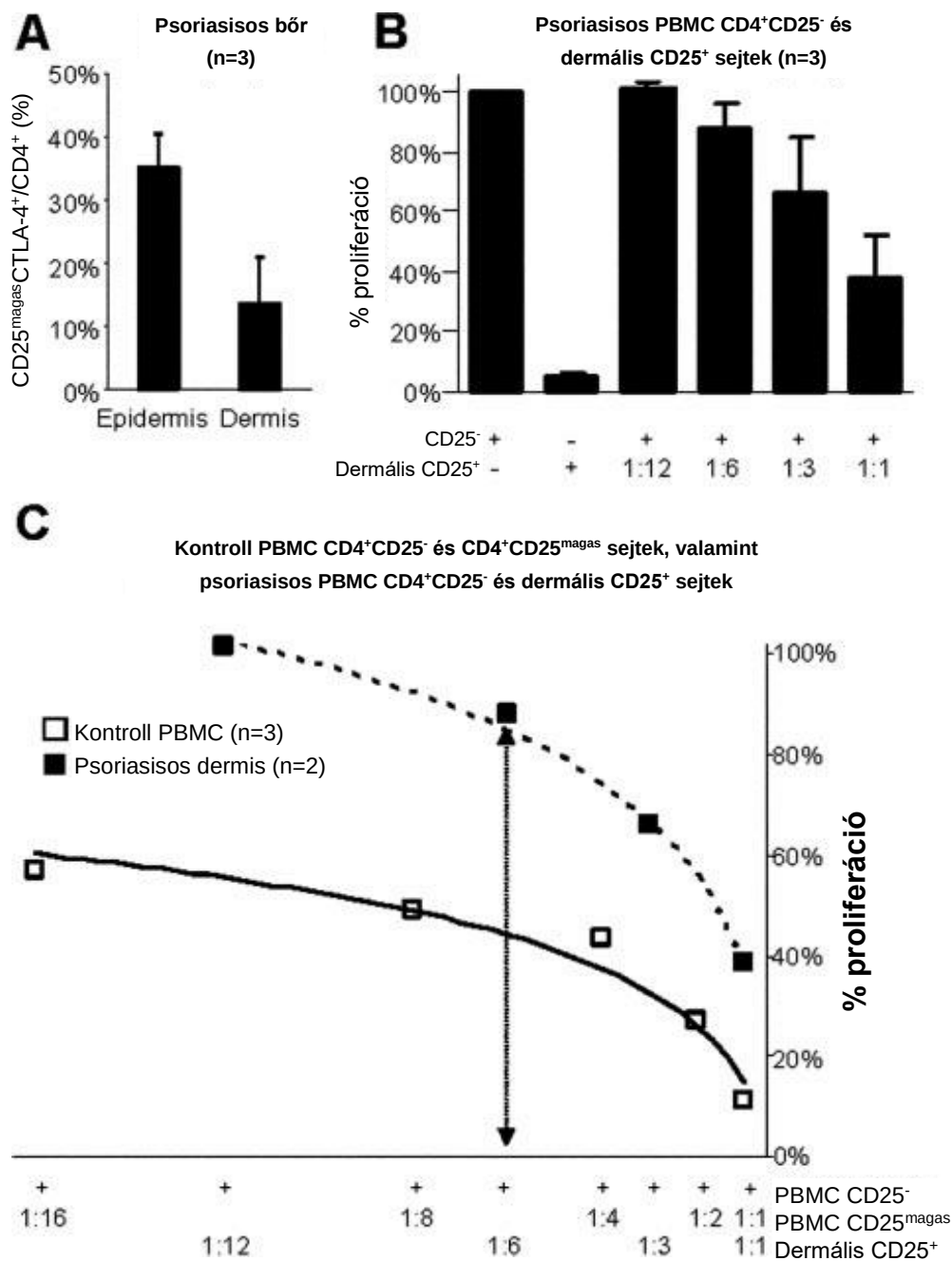
Ezt követően összehasonlítottuk a CLA⁻ és CLA⁺ psoriasisos CD4⁺CD25^{magas} sejtek gátló hatását autológ Tresp sejtek proliferációjára. A CLA⁻ és CLA⁺ sejteket áramlási citometriával szeparáltuk a CD4⁺CD25^{magas} populációból. A CLA⁻ és CLA⁺ Treg sejtek hasonló mértékben, de csak részlegesen voltak képesek a Tresp sejtek proliferációjának gátlására (15.C Ábra). Eredményeink szerint, bár a Treg sejtek nagyobb arányban fordulnak elő mind a normál mind a pikkelysömörös CLA⁺CD4⁺ T-sejt populációban, a Treg sejtek a psoriasisos vérben nem korlátozódnak kizárólag a bőr felé elkötelezett (CLA⁺) populációra.



15. Ábra – A bőr felé elkötelezett (skin homing) CLA⁺CD4⁺ T-sejt populáció jelentős arányban tartalmaz CD4⁺CD25^{magas} Treg sejteket. A) Egészséges és psoriasisos PBMC-t anti-CD4, anti-CD25 és anti-CLA antitestekkel jelöltünk, majd áramlási citométerrel analizáltunk. A reprezentatív ábra a CLA-kapuzott sejteket mutatja. B) A CD4⁺CD25^{magas} Treg sejtek aránya a teljes (CD4⁺), a bőrbe elkötelezett (CD4⁺CLA⁺) és a nem bőrbe elkötelezett (CD4⁺CLA⁻) T-sejt populációkon belül egészséges és psoriasisos mintában. C) Bőrbe elkötelezett CD4⁺CLA⁺CD25^{magas} és nem bőrbe elkötelezett CD4⁺CLA⁻CD25^{magas} Treg sejteket autológ CD4⁺CD25⁻ Tresp sejtekkel tenyésztettünk allogén APCh jelenlétében. A proliferációt [3H]timidin inkorporációval mértük. Az eredmények 3 független kísérletből származnak.

Ezt követően megvizsgáltuk, hogy a Treg sejtek jelen vannak-e a humán bőrben. Mivel az aktivált effektor T-sejtek átmenetileg expresszálják a CD25 és/vagy CTLA-4 molekulákat, míg a $CD4^+CD25^+$ sejteken a CTLA-4 expresszió az aktivációt követően akár 7 napig is megmarad, (206) az epidermális és dermális sejteket az áramlási citometriás vizsgálat előtt 48 óráig pihentettük. A 48 órás inkubációt követően az epidermális sejtek mintegy 35%-a, a dermális sejtek 14%-a expresszálta mind a CTLA-4 mind a CD25 molekulát (16.A Ábra). Mivel a konstitutív CD25 pozitivitás és a CTLA-4 expresszió a regulátor T-sejtek jellegzetes tulajdonságai, (197, 198, 206, 207) az eredményeink arra utalnak, hogy a psoriasisos bőrben lévő T-sejtek jelentős hányada Treg fenotípust mutat. A fenti eredmények alapján számításaink szerint a $CD4^+CD25^+$ regulátor sejt vs. $CD4^+CD25^-$ effektor sejt arány a pikkelysömörös tünetes bőrben a dermisben 1:6, az epidermisben 1:2. Az epidermális és dermális $CD4^+$ T-sejtek mindössze 1%-a fejezte ki a korai aktivációs marker CD69 molekulát 48 órával a szeparálást követően.

Megkíséreltük meghatározni a pikkelysömörös bőr Treg sejtjeinek funkcionális képességeit is. A pikkelysömörös tünetes dermális $CD25^+$ sejteket mágneses gyöngyök segítségével izoláltuk, majd megvizsgáltuk, mennyire képesek gátolni az autológ, perifériás vérből származó $CD4^+CD25^-$ effektor sejtek proliferációját. A nyugvó, nem adherens dermális sejtek közül a $CD25^+$ sejtek csaknem kizárólag a $CD3^+$ populációban foglaltak helyet (a $CD25^+$ sejtek 99%-a $CD3$ pozitív volt), és ezen $CD3^+CD25^+$ sejtek túlnyomó többsége (mintegy 92%) $CD4^+$ is volt. Azaz a szeparációs módszer 90%-os tisztaságú dermális $CD4^+CD25^+$ sejt populációt eredményezett. Ezek a psoriasisos dermális $CD25^+$ sejtek alloantigén stimulációval szemben anergiásak voltak (16.B Ábra, Treg önmagában), és dóziszfüggő módon képesek voltak gátolni a perifériás vérből származó $CD4^+CD25^-$ sejtek proliferációját (16.B Ábra). A perifériás vérből izolált psoriasisos Treg sejtekhez hasonlóan a tünetes bőr Treg sejtjei is csökkent gátló aktivitást mutattak az egészséges vérből származó Treg sejtekhez képest. Továbbá, az *in vivo* szituációt szimuláló Treg:Tresp aránynál (14% vs. 86%, azaz 1:6) a dermális Treg sejtek gyakorlatilag nem voltak képesek az autológ effektor sejtek gátlására (88% maradék proliferáció). Ugyanilyen arányban a kontroll perifériás vérből izolált $CD4^+CD25^{\text{magas}}$ Treg sejtek 50% körüli gátlásra képesek (16.C Ábra). Azaz a dermális Treg sejtek mind számukat mind funkciójukat tekintve képtelenek a Tresp sejtek proliferációjának megfelelő gátlására.



16. Ábra – Treg sejtek a psoriasisos epidermisben és dermisben. A) A CD25^{magas}CTLA-4⁺ Treg sejtek aránya a psoriasisos epidermisben és dermisben. Az adatok 3 független kísérletből származnak. B) A psoriasisos vérből szeparált CD4⁺CD25⁻ T-sejteket (az ábrán CD25⁻) allogén APC-vel és a jelzett arányban psoriasisos léziós bőr dermális CD25⁺ sejtekkel (az ábrán dermális CD25⁺) kevertük és tenyésztettük. A proliferációt [3H]timidin inkorporációval mértük. A dermális CD25⁺ sejtek relatív gátló képességét az alloantigén stimulált CD4⁺CD25⁻ Tresp sejtek proliferációjának százalékában adtuk meg. Három kontroll és három psoriasisos kísérlet eredményei. C) A psoriasisos dermális CD25⁺ sejtek és az egészséges vérből izolált CD4⁺CD25^{magas} Treg sejtek gátló képességeinek összehasonlítása. A psoriasisos dermális CD25⁺ sejtek és a kontroll CD4⁺CD25^{magas} T-sejtek relatív gátló képességét az alloantigén stimulált CD4⁺CD25⁻ T-sejtek proliferációjának százalékában adtuk meg. Három (kontroll) és 2 (psoriasis) független kísérlet eredményei. A vonalak a legjobban illeszkedő görbéket jelölik (folytonos:kontroll, szaggatott: psoriasis).

Megbeszélés

Vizsgálatainkkal első alkalommal sikerült kísérletes bizonyítékot szolgáltatni arra, hogy egy humán gyulladásos kórképben, a pikkelysömörben, a regulátor T-sejtek nem megfelelő működése hozzájárulhat a betegség kialakulásához/fenntartásához. Eredményeink szerint a pikkelysömörös $CD4^+CD25^{\text{magas}}$ Treg sejtek funkcionálisan károsodottak, és nem képesek az effektor T-sejtek gátlására alloantigén-specifikus és poliklonális T-sejt receptor stimulációs tesztekben. Bár ez a funkciócsökkenés nem teljes mértékű, azonos gátló hatás eléréséhez a psoriasisos Treg sejtekből lényegesen többre van szükség, mint az egészséges Treg sejtekből. Sőt, a pikkelysömörös Treg sejtek még a legmagasabb alkalmazott koncentrációban sem voltak képesek teljes mértékben gátolni az effektor sejtek proliferációját. A keresztezési kísérletek segítségével sikerült egyértelműen bizonyítanunk, hogy az észlelt háttérben valóban a Treg sejtek csökkent gátló hatása, és nem az effektor sejtek fokozott proliferációs készsége áll. Ezen eredményeinket később számos további vizsgálat is megerősítette, illetve igazolódott, hogy a csökkent gátlási funkció háttérben részben az IL-6, részben a Stat-3 jelátviteli útvonalak kóros működése áll. (208-210)

Mivel az immunválasz során a Treg populációnak növekednie kell a gátló funkciók megfelelő ellátása érdekében, (192, 211, 212) kézenfekvőnek látszik, hogy a csökkent gátló kapacitás kóros proliferációs/aktivációs működések következménye. Valóban, a pikkelysömörös Treg sejtek optimális TCR stimuláció mellett is teljes mértékben képtelenek voltak proliferációra, szemben az egészséges Treg sejteknél észlelt kismértékű, de egyértelmű expanzióval. Kísérleteink azt is igazolták, hogy a psoriasisos Treg sejtek gátolt proliferációs készségének háttérben az anti-CD3/anti-CD28 stimuláció hatására bekövetkező IL-2 expresszió jelentős csökkenése állhat. A Treg sejtek homeosztatisztikus osztódási folyamataiért ugyanakkor láthatóan nem kizárólag a poliklonális stimuláció hatására bekövetkező proliferáció felelős, hiszen a pikkelysömörös és az egészséges vérben a Treg sejtek száma csaknem teljesen azonos volt.

A $CD4^+CD25^{\text{magas}}$ Treg sejtek szabályozó működésüket a célszövetben (psoriasis esetén a bőrben) az effektor T-sejtekkel történő interakcióik során fejtik ki. Mind a psoriasisos epidermisben mind a dermisben jelentős Treg populáció van jelen, amit a bőrben lévő $CD4^+CD69^-$ T-sejt populáción belüli $CD25^+CTLA-4^+$ sejtek kimutatásával igazoltunk. Ezek a pikkelysömörös Treg sejtek azonban a keringő Treg sejtekhez hasonló mértékben funkcionálisan károsodottak. Bár a gátló hatás kiesése részlegesen kompenzálható magasabb Treg sejtszámok alkalmazásával, ezek az arányok nem valószínű, hogy *in vivo*, a pikkelysömörös bőrben megvalósulnának.

Egy másik érdekes megfigyelés a Treg sejtek perifériás homing funkciója, ugyanis a Treg sejtek egy része CLA pozitív volt. Erre a jelenségre kétféle lehetséges magyarázat létezhet:

1) a $CD4^+CD25^{\text{magas}}$ Treg sejtek tímuszon kívüli fejlődése, 2) a perifériás homing funkciók

későbbi kialakulása a tímuszból kivándorló természetes regulátor T-sejtekben. Vizsgálataink óta a Treg sejtek bőr homing funkcióját, illetve a szövet-specifikus Treg sejtek létezését számos további közlemény is megerősítette.(213-215) Igazolódott, hogy a Treg sejtek egy része a születést követően fokozatosan válik CLA pozitívvá, azaz a homing funkciók feltehetően a tímuszból történt kivándorlást követően fejlődnek csak ki.(216) Ezen bőr irányába elkötelezett Treg populáció lényegesen hatékonyabban képes gátolni a bőrben zajló immunfolyamatokat, mint a CLA negatív regulátor T-sejtek, a Treg sejtek megváltozott homing funkciója pedig más immunmediált bőrbetegségben is szerepet játszhat.(216-218)

A pikkelysömör kezelésében alkalmazott terápiák némelyike (például kortikoszteroidok, ciklosporin A) esetén a kezelést követően gyors visszaeséssel kell számolni. Feltételezhető, hogy ezek a szerek mind az effektor mind a regulátor T-sejt populáció csökkenését eredményezik. Más terápiák (pl. fényterápia) általában hosszabb remissziót eredményeznek, aminek a hátterében korábbi vizsgálatok alapján feltételeztük, hogy a patogén sejtek eliminálása mellett regulátor T-sejtek indukciója is állhat.(219) Ezt a feltételezésünket később vizsgálatokkal is alátámasztották.(220)

A Treg sejtek azonosítása és izolálása azért is fontos, mert lehetőséget teremthet kóros T-sejt proliferációval járó betegségek kezelésére. Vizsgálataink egyértelműen igazolták, hogy a Treg sejteket emberben is izolálni lehet a perifériáról, és kísérletes bizonyítékot szolgáltatott arra, hogy a Treg sejtek megfelelő arány mellett a patogén sejtek aktivitását gátolni képesek. Azaz, a Treg populáció adoptív transzferrel történő visszaállítása pikkelysömörben meggátolhatja az effektor T-sejtek aktivációját és expanzióját, ezáltal tartós remissziót eredményezhet. A Treg adoptív transzfer terápia koncepció megvalósíthatóságát azóta számos további vizsgálat igazolta.(221-223)

5.2.3. A humán Treg sejtek azonosítására és szeparálására alkalmas sejtfelszíni marker azonosítása

A $CD4^+CD25^{\text{magas}}$ Treg sejtek legfontosabb markere a FOXP3 konstitutív expressziója. A FOXP3 gén terméke, a forkhead box P3 fehérje azonban intracellulárisan helyezkedik el, így nem alkalmas a Treg sejtek sejtfelszíni markerként való azonosítására illetve szeparálására. Vizsgálataink kezdetekor a CD25 expresszió volt a legelfogadottabb sejtfelszíni marker a regulátor T-sejtek jellemzésére.(224) Az aktiválatlan $CD4^+CD25^{\text{magas}}$ Treg sejtek magas intracelluláris és alacsony sejtfelszíni CTLA-4 (CD152), és konstitutív CD122 (IL-2R béta lánc), CD45RO, HLA-DR, CD62L és CD71 expresszióval rendelkeznek, ami a Treg sejtek identifikálására is használható.(192, 225) Ezek a sejtfelszíni receptorok azonban a nem regulátor T-sejteken is megjelennek aktivációt követően, így gyakran problémát okozott a Treg és aktivált nem Treg sejtek elkülönítése, illetve ezek a markerek a Treg sejtek izolálására nem alkalmazhatók. Szintén segíthet a Treg azonosításában, hogy a sejtek felszínén nincs jelen a

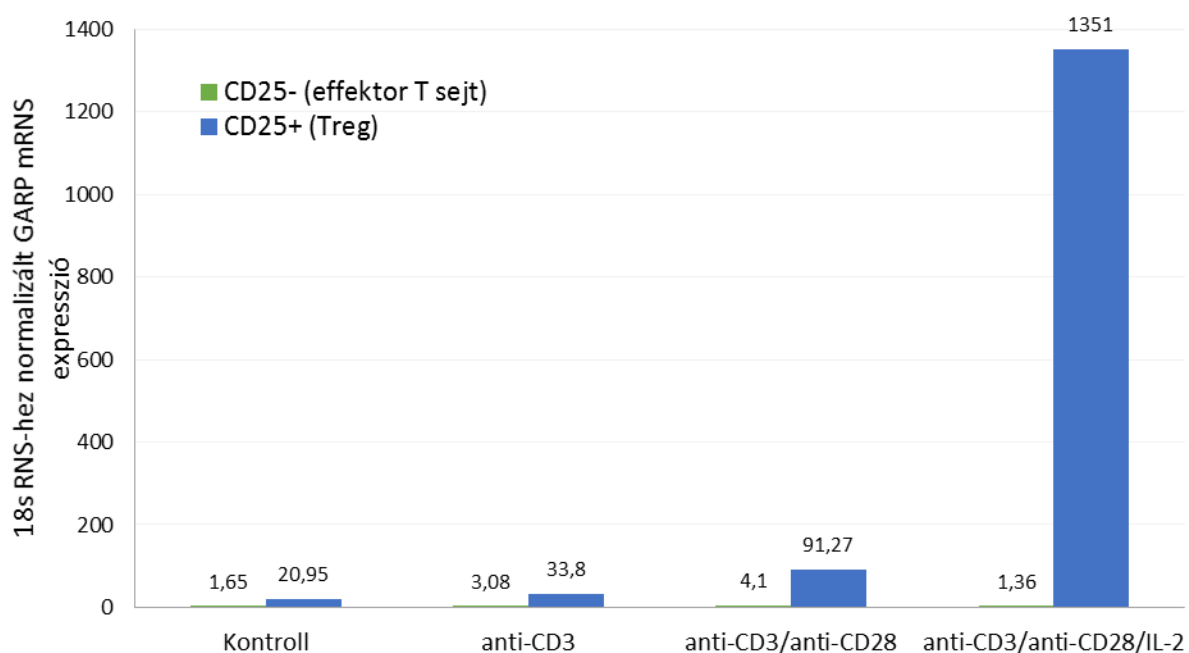
CD127 (IL-7R) molekula – ez a tulajdonság azonban a sejtek szeparálása során csak indirekt módon és körülményesen alkalmazható.(226) Mindezek miatt célunk az volt, hogy a humán Treg sejtek azonosítására és szeparálására alkalmas sejtfelszíni markert azonosítsunk.

Előzetes gén chip vizsgálataink (Gyulai R, Sugiyama H: nem publikált adatok) során normál és psoriasisos perifériás vérből CD4⁺CD25⁺ és CD4⁺CD25⁻ T-sejteket szeparáltunk, majd a sejteket stimulálatlanul vagy CD3/CD28/IL-2 aktiválást követően analizáltuk. A több beteg sejtjeiből nyert RNS-eket pooloztuk, majd Affymetrix gén-chippel analizáltuk, az eredményeket összehasonlítottuk nem aktivált vs. aktivált, psoriasis vs. normál, illetve CD4⁺CD25⁺ vs. CD4⁺CD25⁻ viszonylatban. A vizsgálat során számos gén fokozott vagy csökkent expresszióját észleltük, melyek közül több is potenciálisan szerepet játszhat a psoriasisos gyulladásos folyamatok mediálásában, illetve a regulátoros T-sejtek működésében. Eredményeink értékelhetőségét alátámasztotta, hogy az irodalomból is ismert CD4⁺CD25⁺ regulátoros T-sejtekre jellemző gének (pl. IPEX, CTLA-4, CD25) valóban magasabb expressziót mutattak a regulátoros sejt populációban.

Az egyik, a regulátoros T-sejtekben jelentősen magasabb mRNS expressziót mutató gén a GARP névű, a leucin-gazdag ismétlődéseket tartalmazó fehérjék (Leucine rich repeat containing – LRRC) családjába sorolt fehérje génje volt. Az LRRC családba számos fehérje tartozik, melyek közös jellemzője a protein-protein kapcsolatokban szerepet játszó leucinban gazdag motívumok jelenléte. Az LRRC fehérjék egy β -lemezből és egy α -hélixből épülnek fel, 3D szerkezetükre jellemző a patkószerű alak.(227) Az LRRC szerkezetet számos fehérje részeként is azonosították, mint például ribonukleáz inhibitorok, proteoglikánok, tirozin kináz receptorok és Toll like receptorok.(228, 229) Az LRRC fehérjék olyan biológiai folyamatokban játszanak szerepet, mint a receptor hormon kötődés, sejt adhézió, enzim aktivitás vagy a sejtek vándorlása.(229) A GARP (újabb nevén LRRC32) fehérje 22 leucin-gazdag ismétlődést tartalmaz az extracelluláris régióban.(230) Vizsgálataink kezdetén a GARP funkciója ismeretlen volt, expressziós mintázata alapján szerepét feltételezték a vérlemezke-endotélium interakcióban.(231) Mivel a gén chip eredmények alapján felmerült a GARP potenciális Treg sejt marker szerepének lehetősége, elsőként megvizsgáltuk a GARP mRNS expresszióját aktiválatlan és aktivált CD4⁺CD25⁻ és CD4⁺CD25⁺ sejteken (17. Ábra).

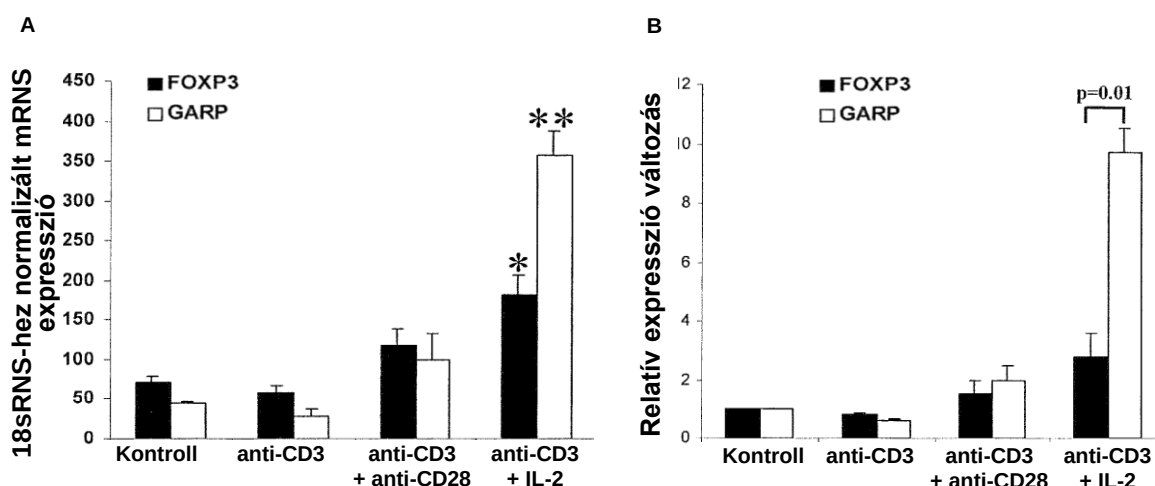
A CD4⁺CD25⁻ és CD4⁺CD25⁺ T-sejteket az előző fejezetben ismertetett módon szeparáltuk egészséges önkéntesek véréből, majd a sejteket anti-CD3-mal, anti-CD3 és anti-CD28 kombinációjával, vagy anti-CD3, anti-CD28 és IL-2 kombinációjával aktiváltuk. Az mRNS expresszió mérésére kvantitatív valós idejű PCR módszert alkalmaztunk. Eredményeink szerint a GARP mRNS nem fejeződött ki a CD4⁺CD25⁻ T-sejteken sem aktiválatlan sem aktivált állapotban. Az aktiválatlan vagy csak anti-CD3 aktivált CD4⁺CD25⁺ T-sejtek ugyancsak nem expresszálták a GARP mRNS-t, míg az anti-CD3/anti-CD28 aktivált CD4⁺CD25⁺ T-

sejtekben kismértékben, az anti-CD3/anti-CD28/IL-2 aktivált sejtekben pedig jelentősen megnőtt a GARP mRNS expresszió.



17. Ábra - GARP mRNS expresszió aktiválatlan és aktivált CD4⁺CD25⁻ és CD4⁺CD25⁺ sejtekben. A sejteket anti-CD3-mal aktiváltuk anti-28, illetve IL-2 jelenlétében vagy hiányában. A 18s RNS-hez viszonyított GARP mRNS expressziót kvantitatív valós idejű PCR-rel mértük.

Vizsgálataink szerint a GARP érzékenyebb a CD4⁺CD25⁺ T-sejtekben poliklonális stimuláció és IL-2 hatására létrejövő aktivációra mint a FOXP3, a GARP mRNS szintje ugyanis lényegesen nagyobb mértékben emelkedett meg, mint a FOXP3 mRNS (GARP: $9,7 \pm 0,82$ -szeres, FOXP3: $2,8 \pm 0,19$ -szeres emelkedés a nem aktivált sejtekhez viszonyítva) (18.A-B Ábra).



18. Ábra - FOXP3 és GARP mRNS expresszió aktiválatlan és aktivált $CD4^+CD25^-$ és $CD4^+CD25^+$ sejtekben. A sejteket anti-CD3-mal aktiváltuk anti-28 vagy IL-2 jelenlétében vagy hiányában. (A) A 18s RNS-hez viszonyított FOXP3 és GARP mRNS expressziót kvantitatív valós idejű PCR-rel mértük. (B) A relatív expresszió változás értékeinek számolásakor az aktivált sejtek normalizált génexpressziós adatait a kontroll eredményekhez hasonlítottuk, a kontroll eredményeket 1-nek véve. Az eredmények 3 független kísérletből származnak, az eredmények átlag $\pm$ SEM értéket jelölnek. * $p < 0,05$ a kontroll sejtek FOXP3 mRNS expressziójához viszonyítva. ** $p < 0,01$ a kontroll sejtek GARP mRNS expressziójához viszonyítva.

Megbeszélés

Elsőként sikerült azonosítanunk egy specifikus Treg markert, amely szelektíven jelent meg a $CD4^+CD25^+$ T-sejtekben, aktiváció hatására sem expresszálták a nem regulátor T-sejtek, és sejt felszíni expressziója miatt alkalmasnak tűnt a sejtek szeparálásában történő alkalmazásra.(232, 233) A GARP szelektív expresszióját az aktivált Treg sejtekben később mások is megerősítették,(234, 235) és a GARP elleni monoklonális ellenanyagokon alapuló módszereket saját munkacsoportunk és mások is sikerrel alkalmazták T regulátor sejtek izolálására.(236, 237) Újabb vizsgálatok alapján úgy tűnik, hogy a GARP expresszió elengedhetetlen a Treg sejtek szuppresszív funkciójához, működését valószínűleg a TGF- β befolyásolásán keresztül fejti ki.(238, 239)

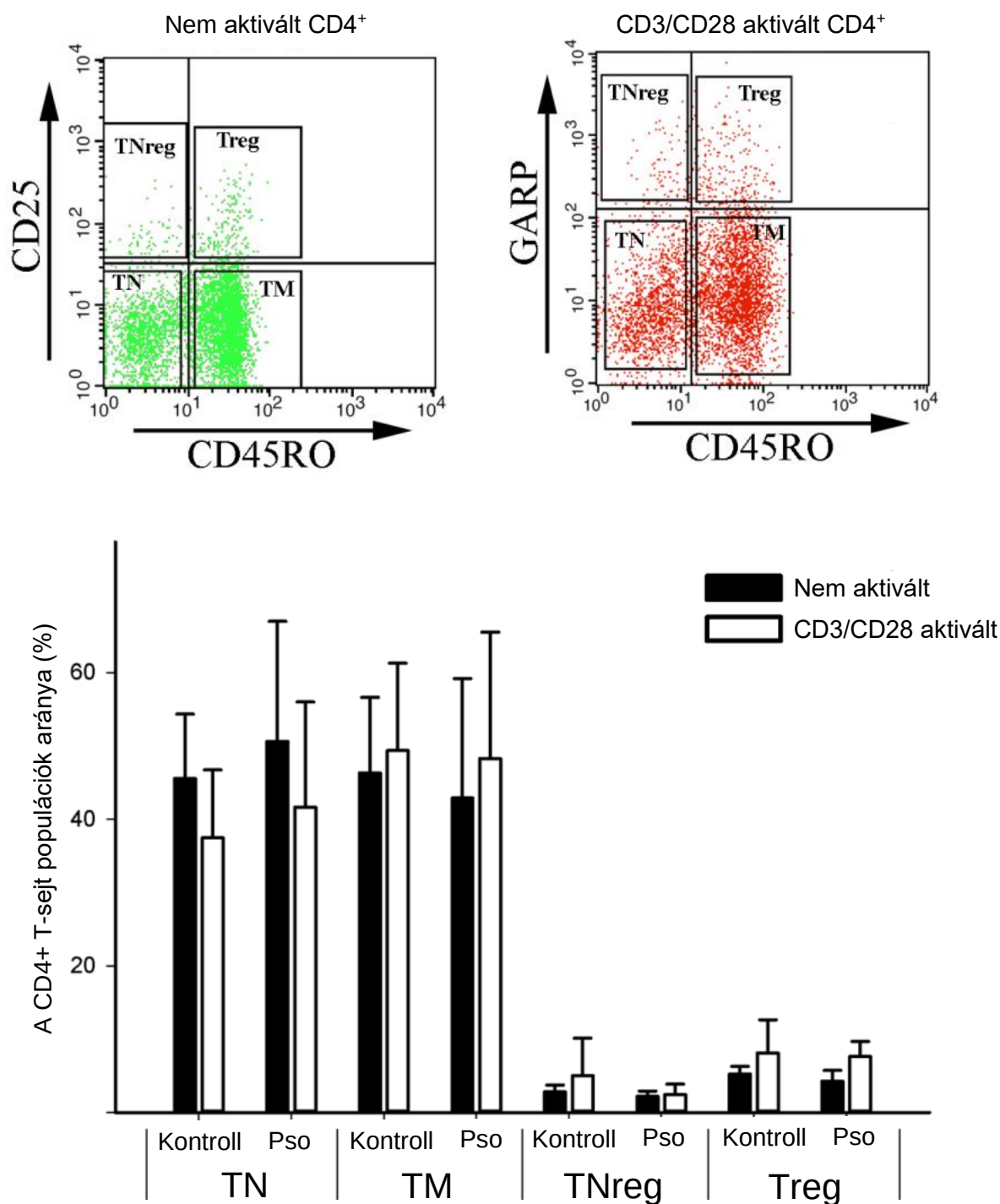
5.2.4. Az IL-1R expresszió jelentőségének vizsgálata psoriasisos T-sejtek működésében

Az előző fejezetben részletezett eredményeink alapján a pikkelysömörös $CD4^+CD25^+$ regulátor T-sejtek működése károsodott, így nem képesek a $CD4^+CD25^-$ effektor T-sejtek proliferációjának megfelelő gátlására.(99) Ugyanakkor a Treg sejtek kóros működésének okai nem ismertek. Gén chip vizsgálatainkban (lásd 5.1.3. fejezet) a már ismertetett GARP mellett a $CD4^+CD25^+$ és a $CD4^+CD25^-$ T-sejtek között a legmarkánsabb expresszió különbséget mutató gén az IL-1R gén volt. Mivel az IL-1 receptor aktivációja számos gyulladásos citokin

(pl. $\text{TNF}\alpha$, IL-17A, IL-6) felszabadulásához vezethet, (240) felmerült, hogy az IL-1 receptor aktiváció megakadályozhatja a Treg sejtek gátló működésének kialakulását. (241) Továbbá az IL-1 szerepét gyulladásos bőrbetegségek, így a psoriasis kialakulásában is számos vizsgálat támasztja alá. (242, 243) A fentiek alapján feltételeztük, hogy az IL-1 jelátviteli útvonal szerepet játszhat a pikkelysömörös regulátor T-sejtek kóros működésében, és célul tűztük ki, hogy megvizsgáljuk az IL-1 receptor kifejeződését psoriasisos és egészséges $\text{CD4}^+\text{CD25}^+$ regulátor T-sejteken és $\text{CD4}^+\text{CD25}^-$ effektor T-sejteken.

Az interleukin 1 hatásának szabályozásában számos tényező (IL-1 receptorok, agonisták és antagonisták) játszik szerepet. (244) Az 1. típusú receptor (IL-1R1) a jelátvitelért felelős receptor, melyet mind az IL-1 α mind az IL-1 β képes aktiválni. A 2. típusú receptorok (IL-1R2) csali (decoy) receptorok, mivel az IL-1 hatás kialakulásáért felelős intracelluláris jelátvivő doménnel nem rendelkeznek. Az IL-1R2 mind sejtmembránhoz kötött, mind szolúbilis, szekretált formában megtalálható. Mindkét receptor változat képes az IL-1 erős megkötésére, a ligand bekötése azonban IL-1 jelátviteli folyamatot nem indít el. A szolúbilis IL-1R2 létrejöhet a sejtfelszíni IL-1R2 leválásával, vagy különálló génről is szintetizálódhat (sIL-1R2).

Elsőként azt vizsgáltuk meg, hogy a naiv, memória, naiv Treg és Treg sejtek aránya a CD4^+ T-sejt populáción belül a pikkelysömörös betegek és egészséges kontrollok vérében eltérő-e. A CD4^+ T-sejteket egészséges és pikkelysömörös vérből izoláltuk mágneses gyöngyök segítségével. A különböző T-sejt populációkat (naiv T-sejt, naiv Treg, memória T-sejt, Treg) a CD45RO és CD25 , illetve GARP expresszió alapján azonosítottuk (lásd 4.5. fejezet – 37. oldal). Aktivált sejtek esetén az anti- CD25 antitest helyett anti-GARP antitestet alkalmaztunk, mivel saját eredményeink illetve mások vizsgálatai szerint a GARP expresszió szelektív módon képes a regulátor T-sejtek azonosítására. (232, 234) Nem aktivált T-sejtek esetén a pikkelysömörös és kontroll mintákban a különböző sejt populációk hasonló eloszlást mutattak, nem volt szignifikáns különbség a T-sejt alcsoportok arányában a psoriasisos és az egészséges minták között (19.A-B Ábra). A CD4^+ populáción belül mintegy 40% naiv,



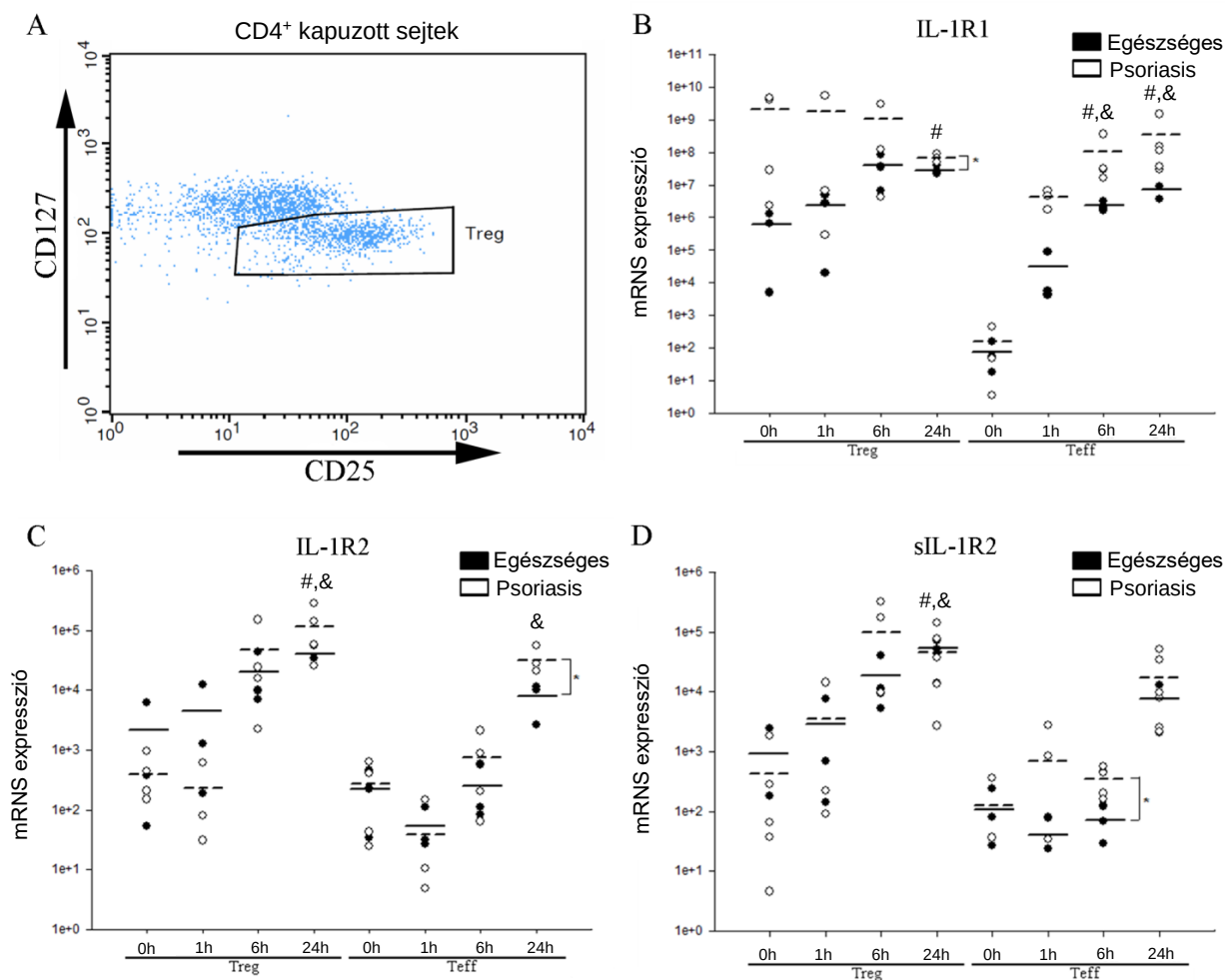
19. Ábra – A különböző CD4⁺ T-sejt populációk eloszlásának vizsgálata sejtfelszíni CD25 és CD45RO expresszió áramlási citometriás vizsgálata alapján. A CD4⁺ sejteket két napig CD3/CD28 gyöngyök jelenlétében IL-2 hozzáadásával (CD3/CD28 aktivált) vagy aktiválás nélkül (Nem aktivált) tenyésztettük. A és B) Reprezentatív áramlási citometriás kép aktiválatlan és aktivált CD4⁺ T-sejtek esetén, a különböző sejtpopulációk kapuzási stratégiájának szemléltetésére. (TN: naiv T-sejt, TM: memória T-sejt, TNreg: naiv regulátor T-sejt, Treg: regulátor T-sejt.) C) A CD4⁺ T-sejt alcsoportok eloszlása nem különbözik az egészséges (Kontroll) és a psoriasisos (Pso) vérmintákban. A CD3/CD28 aktiváció hatására a különböző sejtpopulációk egymáshoz viszonyított aránya nem változik szignifikánsan a nem aktivált sejtekhez képest.

45% memória, illetve 2-5% naiv Treg és Treg sejtet észleltünk, CD3/CD28 aktiváció után 2 nappal nem következett be jelentős változás a populációk eloszlásában (19.C Ábra).

Ezt követően azt vizsgáltuk, hogy az IL-1R1 mRNS expressziója eltérő-e a pikkelysömörös és az egészséges regulátor és effektor sejteken. Mágneses gyöngyök és áramlási citometriás módszer kombinációjával a perifériás vér mononukleáris sejtjeiből CD4⁺CD25⁻ Teff és CD4⁺CD25⁺CD127⁻ Treg sejteket szeparáltunk (20.A Ábra). Az így szeparált sejtekből 1, 6 és 24 órás CD3/CD28 aktivációt követően vagy aktiváció nélkül teljes RNS-t izoláltunk, majd valós idejű kvantitatív PCR módszerrel vizsgáltuk az IL-1R mRNS-ek kifejeződését (20.B-D Ábra). Mind az egészséges mind a pikkelysömörös aktiválatlan effektor T-sejtek igen alacsony szinten expresszálták a szignál transzdukcióért felelős receptor IL-1R1 mRNS-t (20.B Ábra, Teff 0h). Az aktiválatlan effektor sejtekhez képest az egészségesekből szeparált nyugvó Treg sejtek IL-1R1 mRNS expressziója nagyságrendekkel magasabb volt (20.B Ábra, Treg 0h, fekete körök), az aktiválatlan psoriasisos Treg sejteké pedig még ezt is meghaladta (20.B Ábra, Treg 0h, fehér körök). CD3/CD28 aktiváció hatására az IL-1R1 mRNS expresszió mind az egészséges mind a psoriasisos CD4⁺CD25⁻ effektor sejtekben jelentős mértékben megemelkedett (20.B Ábra, Teff 1h, 6h és 24h). A növekedés valamennyi időpontban kifejezettebb volt a psoriasisos sejtekben, mint az egészséges effektor T-sejtekben, de a különbség statisztikailag nem volt szignifikáns. Az egészséges CD4⁺CD25⁺CD127⁻ Treg sejtekben aktiváció hatására szintén emelkedett az IL-1R1 mRNS kópiaszám, a legmagasabb értéket 6 óránál érve el. A psoriasisos Treg sejtekben ugyanakkor a már nyugalomban is magas IL-1R1 expresszió inkább csökkenő tendenciát mutatott aktiváció hatására (20.B Ábra, Treg 1h, 6h és 24h). Összességében azonban aktivációt követően a pikkelysömörös CD4⁺CD25⁺CD127⁻ T-sejtekben még mindig magasabb volt az IL-1R1 mRNS expresszió, mint az egészséges sejtekben.

A két decoy IL-1 receptor (IL-1R2 és sIL-1R2) expressziós mintázata meglepően hasonló volt. Az aktiválatlan sejtek IL-1R2 és sIL-1R2 mRNS expressziójában nem volt szignifikáns különbség az egészséges és a psoriasisos CD4⁺CD25⁻ és CD4⁺CD25⁺CD127⁻ T-sejtek között (20.C-D Ábra, Treg 0h és Teff 0h). CD3/CD28 aktiváció hatására mindkét decoy receptor mRNS expressziója megemelkedett mind a CD4⁺CD25⁻ mind a CD4⁺CD25⁺CD127⁻ T-sejtekben. Az aktivációt követően a pikkelysömörös CD4⁺CD25⁻ effektor sejtek szignifikánsan magasabb mértékben fejezték ki a csali receptoros mRNS-ét, mint az egészséges kontroll effektor sejtek (20.C-D Ábra, Teff 6h és 24h).

Ezt követően az IL-1 receptorok sejtfelszíni expresszióját vizsgáltuk meg a pikkelysömörös és a kontroll T-sejteken. A CD4⁺ sejteket 2 napig anti-CD3/CD28 antitestekkel fedett gyöngyök és IL-2 (10 U/ml) jelenlétében (aktivált sejtek) vagy ezek nélkül (aktiválatlan sejtek)

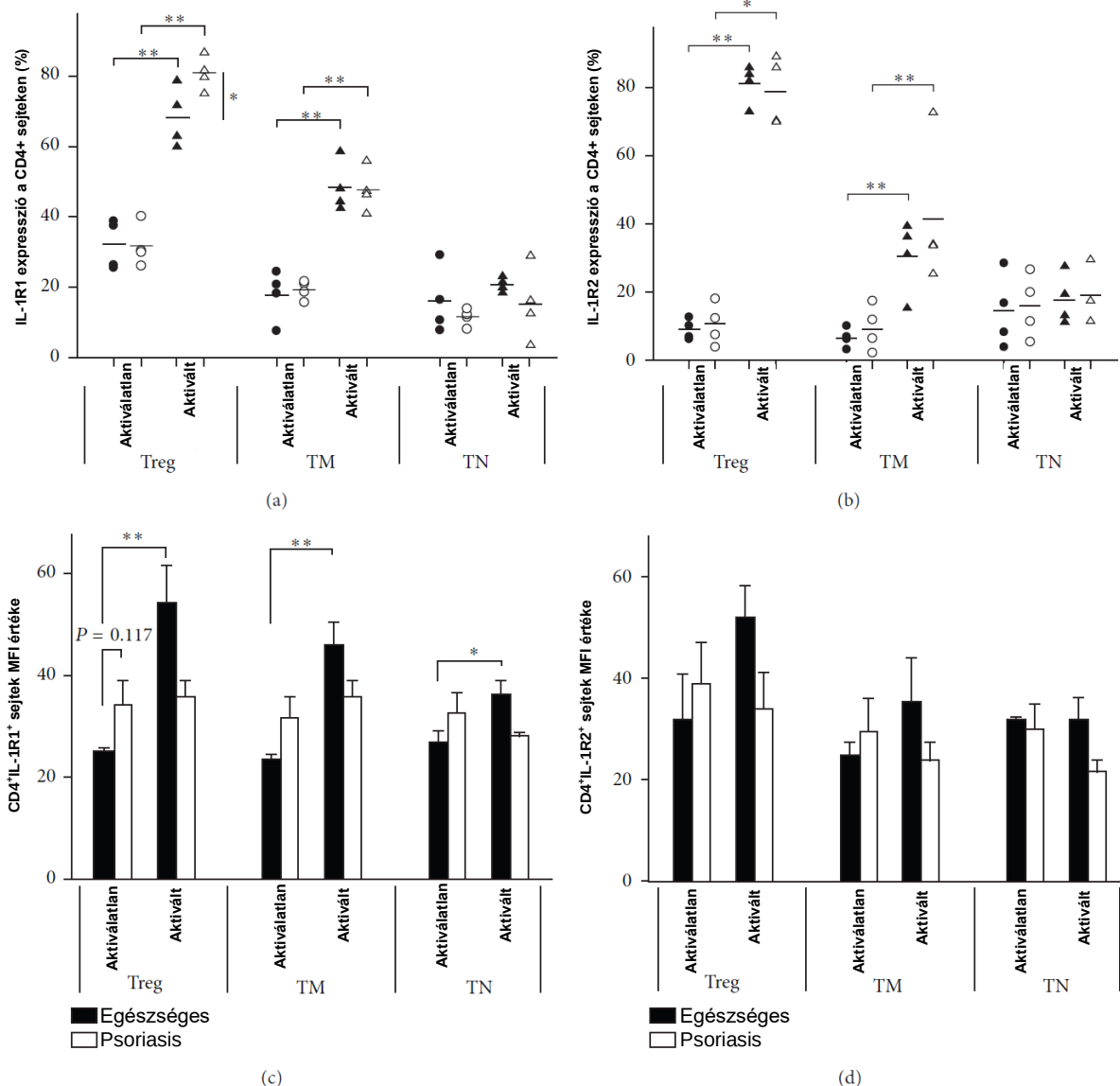


20. Ábra – Az IL-1 receptorok mRNA expressziója különbözik a pikkelysömörös T-sejtekben az egészséges sejtektől. Az egészséges és psoriasisos effektor (Teff) és regulátor (Treg) sejteket perifériás vérből szeparáltuk. A Teff sejteket mágneses gyöngyök segítségével, negatív szelekcióval szeparáltuk. A Treg sejteket a CD4⁺CD25⁺ populációból áramlási citométerrel választottuk el. A) Reprezentatív áramlási citometriás kép a CD25⁺CD127⁺ sejtek kapuzási stratégiájával. A Teff és Treg sejteket anti-CD3/CD28 antitesttel fedett gyöngyökkel aktiváltuk a jelzett időig, majd az IL-1 receptor formák mRNA expresszióját valós idejű kvantitatív PCR-rel vizsgáltuk. B) IL-1R1, C) IL-1R2, D) sIL-1R2 gének mRNA expressziója egészséges (n=3, fekete körök) és psoriasisos (n=4, fehér körök) mintákon, az átlag értékeket a vízszintes folytonos (egészséges) és szaggatott (psoriasis) vonalak jelölik. A génexpressziós értékek a 18S RNS értékéhez normalizált viszonyított értékek. * - szignifikáns különbség (p<0,05) az egészséges és a psoriasisos minták között, valamint szignifikáns különbség (p<0,05) az aktiválatlan és az adott időpontbeli aktivált sejtek mRNA szintje között az egészséges (#) és a psoriasisos (&) minták esetén.

tenyésztettük. A sejtfelszíni IL-1R1 és IL-1R2 jelenlétét áramlási citometriával határoztuk meg. A különböző T-sejt populációkat (TN, TM, TNreg, Treg) a korábban már ismertetett módon kapuztuk ki (19.A Ábra). Az IL-1R1 pozitív sejtek arányát az egészséges és a pikkelysömörös mintákban az (21.A Ábra) szemlélteti. Aktiválatlan T-sejtekben a Treg sejtpopuláció esetén észleltük a legmagasabb IL-1R1 expressziót, mind a pikkelysömörös mind az egészséges minták esetén (egészséges: 32,31%, psoriasis 31,87%). Az IL-1R1 expresszió jelentősen

alacsonyabb volt a TM populációban (egészséges: 17,89%, psoriasis 19,52%) és a TN sejteken (egészséges: 16,21%, psoriasis 11,73%). Az IL-1R1 expresszió intenzitása (21.C Ábra) a pikkelysömörös Treg sejteken magasabb volt mint az egészséges Treg sejteken (átlagos fluoreszcencia intenzitás [MFI] egészséges: 24,84, psoriasis 34,26), a különbség azonban itt sem volt statisztikailag szignifikáns ($p=0,117$). Aktiváció hatására az IL-1R1 expresszió a Treg és a TM sejtekben is megemelkedett, a különbség az aktiválatlan sejtekhez viszonyítva szignifikáns volt mind az egészséges mind a psoriasisos minták esetén (21.A Ábra). Az aktivált pikkelysömörös Treg sejtek több mint 80%-a volt IL-1R1 pozitív, míg az egészséges Treg sejtek szignifikánsan alacsonyabb arányban (68,4%, $p<0,05$) mutattak csak IL-1R1 pozitivitást. Az egészséges Treg sejteken a CD3/CD28 aktiváció hatására ugyanakkor az IL-1R1 expresszió nemcsak arányában, hanem intenzitásában is jelentősen megnőtt (MFI = 54,11, $p<0,01$), míg a psoriasisos Treg sejteken az intenzitás gyakorlatilag változatlan maradt (MFI = 35,7) (21.C Ábra). A Treg sejtekhez hasonlóan az egészséges TM sejtek esetén aktiváció hatására szignifikánsan emelkedett az IL-1R1 expresszió intenzitása (aktiválatlan TM: MFI = 23,32, aktivált TM: MFI = 45,83, $p<0,01$), míg a psoriasisos TM sejteknél csak minimális, nem szignifikáns intenzitásbeli növekedést észleltünk (aktiválatlan TM: MFI = 31,71, aktivált TM: MFI = 35,86) (21.C Ábra). Naiv T-sejtek esetén az IL-1R1 szám nem változott szignifikánsan sem az egészséges sem a psoriasisos mintákban. Ugyanakkor az egészséges TN sejtek esetén szintén szignifikáns emelkedést észleltünk az IL-1R1 expresszió intenzitásában aktiváció hatására (21.C Ábra). Összességében eredményeink szerint a CD3/CD28 aktiváció hatására az IL-1R1 expresszáló sejtek aránya jelentősen nő mind az egészséges mind a psoriasisos Treg és TM populációban, ugyanakkor a receptorok sűrűsége csak az egészséges T-sejteken emelkedik, a pikkelysömörös sejteken gyakorlatilag változatlan marad.

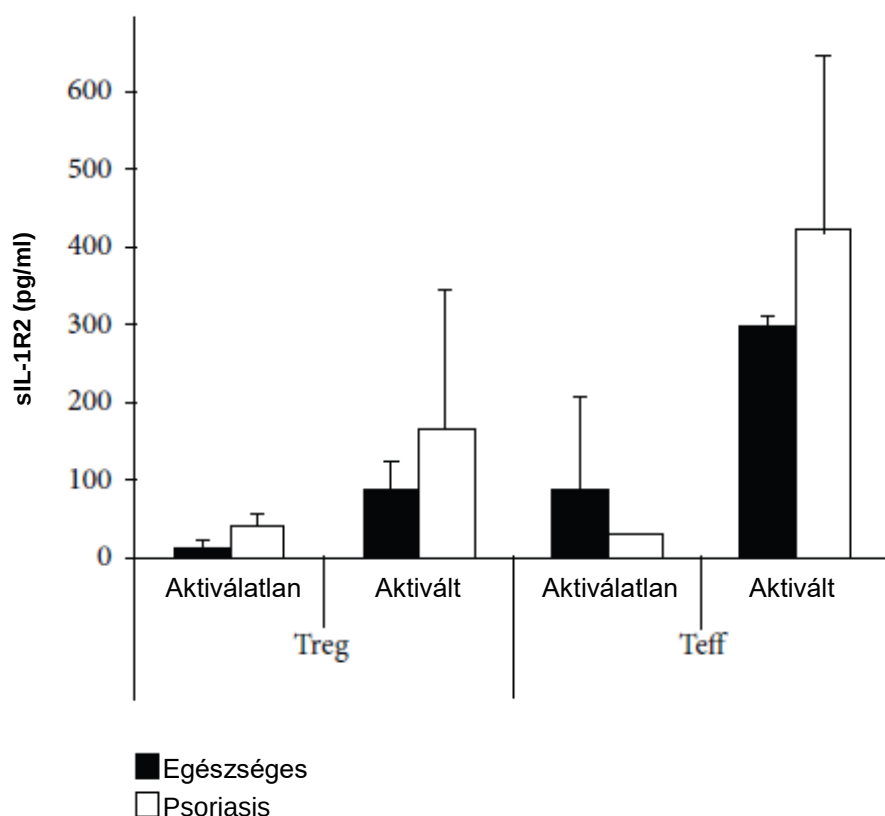
A decoy IL-1R2 a nem aktivált sejteknek csak igen kis részén volt kimutatható (21.B Ábra). Sem a sejtípusok sem az egészséges vagy psoriasisos minták között nem észleltünk jelentős különbséget aktiválatlan sejtek esetén. Aktiválást követően ugyanakkor a Treg sejtek túlnyomó része IL-1R2 pozitívnak bizonyult mind az egészséges mind a pikkelysömörös mintákban (a növekedés mindkét esetben szignifikáns volt). Bár kisebb, de szintén szignifikáns mértékben emelkedett a TM populációban az IL-1R2 pozitív sejtek aránya, míg a naiv sejteken nem okozott lényegi változást a CD3/CD28 aktiváció. Az IL-1R2 expresszió intenzitás az egészséges Treg és TM populációban némileg (nem szignifikáns mértékben) emelkedett, míg a psoriasisos mintákban és az egészséges naiv T-sejteken gyakorlatilag változatlan maradt az aktivációt követően is (21.D Ábra).



21. Ábra – Az IL-1R1 és IL-1R2 receptorok sejtfelszíni expressziója pikkelysömörös és egészséges CD4⁺ T-sejteken. A CD4⁺ sejteket 2 napig anti-CD3/CD28 antitestekkel fedett gyöngyök és IL-2 (10 U/ml) jelenlétében (aktivált sejtek) vagy ezek nélkül (aktiválatlan sejtek) tenyésztettük. A receptorok sejtfelszíni jelenlétét áramlási citometriával határoztuk meg, az ábra A) az IL-1R1 és B) IL-1R2 pozitív sejtek arányát mutatja a CD4⁺ Treg, TM és TN populációkban (n=4). A körök aktiválatlan, a háromszögek CD3/CD28 aktivált sejteket jelölnek. C) A CD4⁺IL-1R1 pozitív és D) CD4⁺IL-1R2 pozitív sejtek átlagos fluoreszcencia intenzitása (MFI). *p<0,05, **p<0,01.

A sejtfelszíni IL-1 receptorok expressziójának meghatározása után azt vizsgáltuk meg, hogy a Treg és Teff sejtek vajon aktiváció hatására képesek-e az IL-1R2 szolúbilis formájának termelésére. A szolúbilis IL-1R2 koncentrációját ELISA segítségével határoztuk meg az aktiválatlan illetve 3 napig anti-CD3/CD28 antitestekkel aktivált sejtek felulúszójában. Az aktiválatlan sejtek csak minimális mennyiségű sIL-1R2-t bocsátottak a környezetükbe, míg az aktiválás hatására jelentős növekedést észleltünk (22. Ábra). Bár a CD4⁺CD25⁻ effektor sejtek

mind aktiválatlan mind aktivált állapotban nagyobb mennyiségben szekretálták a szolúbilis IL-1R2-t mint a Treg sejtek, a különbség nem volt szignifikáns a két sejtpopuláció között. Bár mind a CD25- mind a CD25+ aktivált T-sejtek esetén a pikkelysömörös mintákban magasabb sIL-1R2 koncentrációt mértünk, mint az egészséges minták esetén, a különbség itt sem volt szignifikáns.



22. Ábra – A szolúbilis IL-1R2 fehérje szekréció nem különbözik szignifikánsan az egészséges és a pikkelysömörös regulátor és effektor T-sejtekben. A sejteket antitesttel fedett mágneses gyöngyökkel és áramlási citometriás módszerrel szeparáltuk (lásd Anyagok és Módszerek rész). Az aktiválatlan és CD3/CD28 mikrogönggyökkel aktivált T-sejtek felülúszóját 3 nap után összegyűjtöttük, majd az sIL-1R2 koncentrációt ELISA módszerrel határoztuk meg. Az ábra 3-3 egészséges és pikkelysömörös minta vizsgálati eredményeit szemlélteti. Bár aktivált sejtek esetén a pikkelysömörös mintákban kissé emelkedett sIL-1R2 szintet mértünk, a különbségek nem voltak statisztikailag szignifikánsak.

Megbeszélés

A T-sejtek központi szerepet játszanak a pikkelysömör fenntartásában, és a patogenezis lényeges eleme az IL-17/IL-23 illetve TNF α köré szerveződő citokin hálózat.(245-247) Vizsgálataink igazolták, hogy az IL-1R család tagjai eltérő módon fejeződnek ki a pikkelysömörös és az egészséges T-sejteken. Bár a regulátor, memória, naív és naív regulátor T-sejt populációk aránya a teljes CD4+ T-sejt állományon belül nem különbözik a psoriasisos betegek és az egészségesek között, az IL-1 receptorok eltérő, különös tekintettel aktivációt követően markánsan különböző expressziója, hozzájárulhat a pikkelysömör patogeneziséhez.

Az eredményeink további információt szolgáltatnak az effektor és regulátor sejtek tulajdonságairól, ugyanis a két sejtípus alapvetően eltérő módon expresszálta a jelátvitelt biztosító és a nem jelátvivő IL-1 receptorokat.

Az IL-1 egyike a veleszületett és az adaptív immunrendszert összekapcsoló citokineknek. Szerepét régóta feltételezik psoriasisban,(248, 249) és ezt újabb eredmények is alátámasztják.(243, 250) A psoriasisos bőrtünetek területén, az egészséges és a nem tünetes psoriasisos bőrhöz képest csökkent az IL-1 α aktivitás.(249, 251) Az IL-1 β esetén viszont emelkedett szintet mutattak ki a psoriasisos tünetes bőrben.(250) Epidermális sejteken indukálható IL-1R2 receptor jelenlétét figyelték meg, melynek expressziója a pikkelysömörös tünetes bőrben magasabb volt, mint az egészséges mintákban.(252) A közelmúltban az IL-1 receptor antagonistá esetén emelkedett szérumból származó IL-1 szintekről számoltak be psoriasisos betegeken.(253) Az IL-1 családba tartozó IL-1F6-ot nagyobb mennyiségben kifejező egér modellben a bőr kémiai irritációja pikkelysömörhöz hasonló bőrtünetek megjelenéséhez vezetett.(240) Az ugyanazon receptoron keresztül ható IL-1 α és IL-1 β hatására az aktivált sejtekből további citokinek (TNF α , IL-6) szabadulhatnak fel,(244) illetve az IL-1 fontos szerepet tölt be a Th17 irányba történő differenciáció korai fázisában is.(254) Mind a TNF α , mind az IL-23/Th17 tengely kiemelt jelentőséggel bír a pikkelysömör patogenezisében,(241) míg az IL-6 a regulátor T-sejtek működésével áll szoros összefüggésben.(208) Mindezek alapján az, hogy az IL-1 család tagjainak szerepe van a pikkelysömör kialakulásában, nem kérdőjelezhető meg.

Az jelátvitelt végző IL-1R1 mellett mind az IL-1 α , mind az IL-1 β az IL-1 receptor család számos más tagjához is képes kapcsolódni. A közelmúltban az IL-1 receptorok jelenlétét igazolták in vitro expandált Treg sejteken is.(255) Az IL-1R1 konstitutív módon expresszálódik a nyugvó Treg sejteken. Aktiváció hatására a receptor megjelenik más T-sejt populációkon is, de Treg sejteken továbbra is lényegesen magasabb szinten expresszálódik. Az IL-1R1-t expresszáló Treg sejtek gátló képessége ugyanakkor nem különbözött az IL-1R1- sejtétől. (256) A nem jelátvivő IL-1R2 nem volt detektálható a nyugvó Treg sejteken, viszont TCR stimulációt követően röviddel megjelent, de csak a Treg sejteken volt megfigyelhető. Az aktivált Treg sejtek képesek voltak az IL-1 β neutralizálására, ami a nem jelátvivő IL-1R2 receptorok funkcionális szerepére utal.(256) Eredményeink összhangban vannak ezen korábbi megfigyelésekkel, és felvetik, hogy az IL-1 receptorok eltérő expressziója pikkelysömörben funkcionális következményekkel járhat. Érdekes módon, míg a nyugvó Treg sejtek IL-1R1 expressziójában nincs jelentős különbség a pikkelysömörös és az egészséges minták között, aktiváció hatására az IL-1R1 expresszió lényegesen nagyobb mértékben emelkedik a pikkelysömörös Treg sejteken.

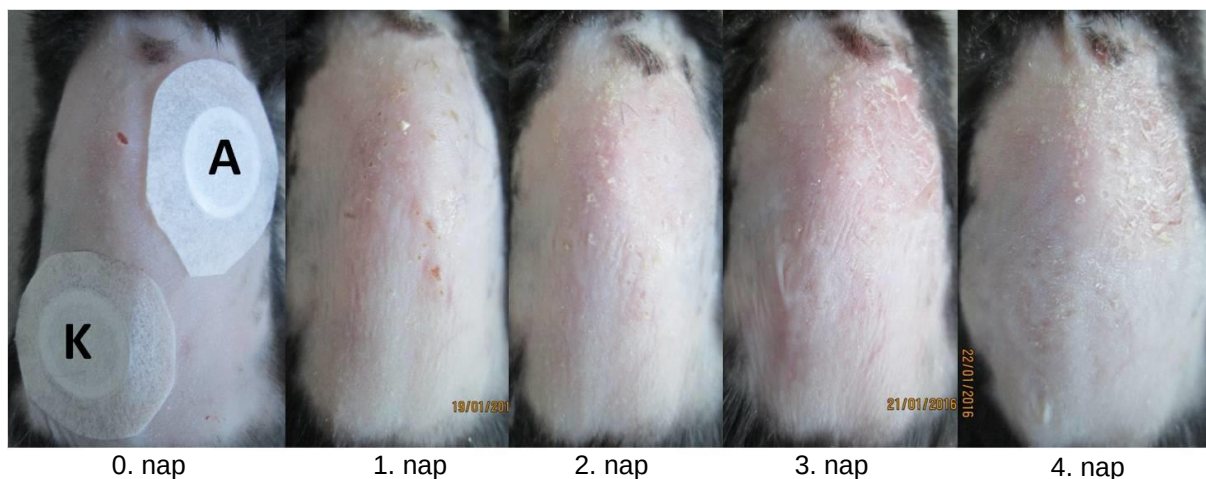
5.2.5. A bőr TRPA1⁺ nociceptív neuronjainak szerepe az imiquimod-indukált psoriasiform bőrgyulladásban

Az immunrendszer sejtjei úgy alakultak ki, hogy a potenciálisan veszélyes külső hatások ellen veleszületett és adaptív immunválasszal reagáljanak. Az elmúlt évtized során egyre több megfigyelés gyűlt össze arról, hogy az idegrendszer és az immunsejtek között nem csak a limfoid szervekben, hanem a perifériás szövetekben is szoros kapcsolat áll fenn, és az érző idegek fontos szerepet játszanak az immunfolyamatok szabályozásában. (257, 258) A bőr gazdagon innervált perifériás idegekkel, melyek viszonylag sok szenzoros és kevés autonóm rostot tartalmaznak. A bőr (auto)immun illetve allergiás betegségei, mint például az atopiás dermatitis vagy a psoriasis, általában fájdalom, diszkomfort vagy viszketés érzéssel járnak, amit specializált nociceptív vagy pruriceptív neuronok továbbítanak a központi idegrendszer felé. A pikkelysömörös plakk kialakulását a neurális denzitás fokozódása előzi meg, valamint ismert klinikai megfigyelés, hogy a psoriasisos bőrterület beidegzésének megszűnése a bőrtünetek eltűnéséhez, majd a beidegzés visszatérte a tünetek ismételt megjelenéséhez vezet. (259, 260) Egy psoriasisos egér modellben, amelynek jellegzetessége a bőr fokozott beidegzettsége, a bőr sebészi denervációja a bőrtünetek csökkenését eredményezte. (261) Riolo-Blanco és munkatársai pedig a közelmúltban mutatták meg, hogy a TRPV1⁺Nav1.8⁺ érzőidegek nélkülözhetetlenek az imiquimod indukált psoriasiform bőrgyulladás kiváltásában. (134) Vizsgálataik szerint a nociceptorok farmakológiai ablációját követően a dermális denritikus sejtek (DDC – dermal dendritic cell) nem képesek IL-23 termelésre az imiquimod-psoriasis modellben – azaz a TRPV1⁺Nav1.8⁺ nociceptorok szabályozzák az IL-23 felszabadulását a DDC-kből, ami végsősoron meghatározza a dermális $\gamma\delta$ T-sejtek IL-17 termelését. (134) Szemben a TRPV1 csatornák hőérzékelő képességével, a TRPA1 csatornák főképp exogén illetve szövetkárosodás vagy gyógyszer metabolizálódás során keletkező endogén kémiai noxák felfogására specializálódtak. (262, 263) A TRPA1 csatornák patogenetikai szerepe jól ismert krónikus viszketéssel járó kórképekben, illetve a TRPA1 nociceptorokon való jelenléte szükséges az allergiás kontakt dermatitis kialakulásához. (264-266) Mindezek miatt feltételeztük, hogy a TRPA1⁺ nociceptorok szerepet játszhatnak a psoriasis patogenezisében is – a hipotézisünket imiquimod indukált psoriasis modellben vizsgáltuk meg.

Elsőként az imiquimod kezelés hatására kialakuló psoriasiform bőrgyulladás modell beállítását végeztük el. Amint azt a Módszerek rész 4.8.1. fejezetében részleteztük, kísérleteinkhez egy új elrendezést dolgoztunk ki, melyben a psoriasiform gyulladást kisebb mennyiségű imiquimod krémmel is ki lehet váltani, illetve amely lehetővé teszi az Aldara és a kontroll krém egyidejű alkalmazását ugyanazon egér hátbőrén. A psoriasiform dermatitis kiváltására 8 mm átmérőjű Finn kamrákban vittük fel a krémeket az egerek hátbőrére, a kezelést 4 napig végeztük. Így kisebb dózissal (20 mg Aldara vagy 20 mg vazelin), kisebb hátbőr területet kezelve tudtuk

kiváltani ugyanolyan intenzitású psoriasiform bőrgyulladást, lényegesen enyhébb általános tünetek mellett.

A gyulladás jelei a 2. kezelést követően jelentkeztek az Aldarával kezelt bőrterületen (23. Ábra). Elsőként erythema (2. nap), majd hámlás (3. nap) volt megfigyelhető, amelyek a kísérlet végéig egyre fokozottabban jelentkeztek. Ezeket a bőrtüneteket mind a TRPA1 WT, mind a TRPA1 KO törzseken tapasztaltuk imiquimod kezelés hatására. A kontroll krém alkalmazása során gyulladásos bőrtünetek nem voltak megfigyelhetők egyik törzsnél sem.

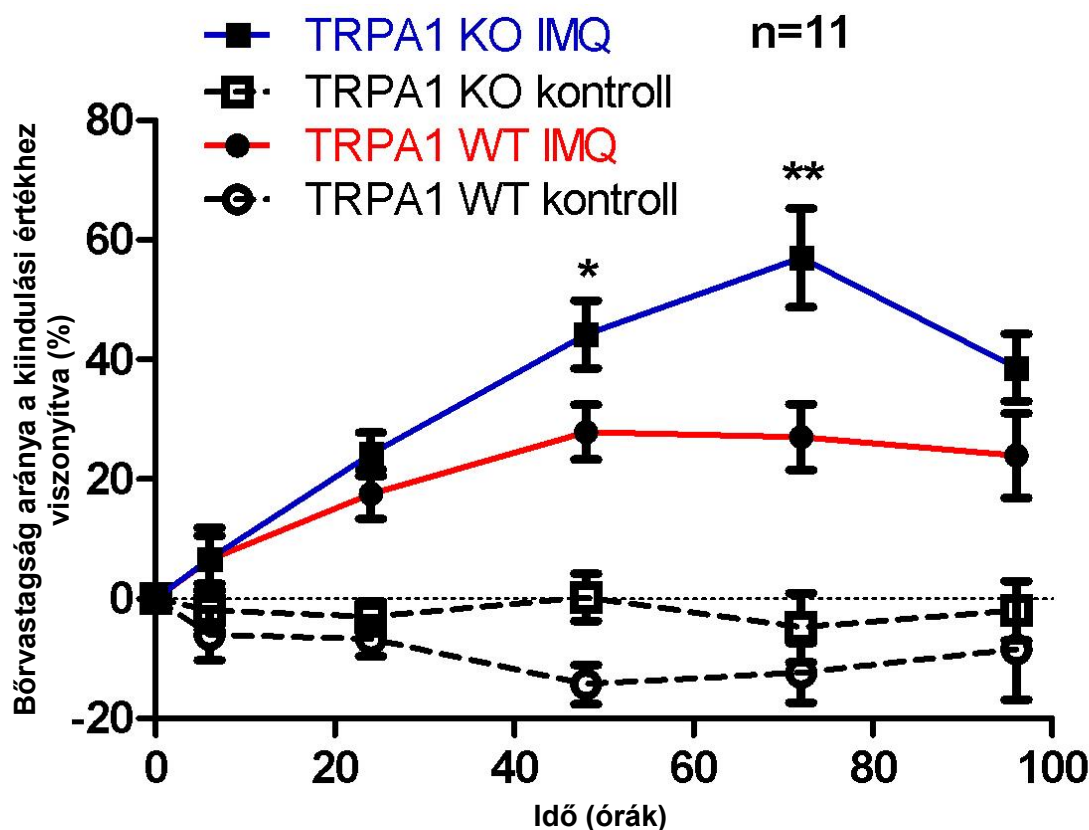


23. Ábra Imiquimod kezelés hatására kialakuló psoriasiform bőrgyulladás tünetei. A: Aldara (5% imiquimod), K: Kontroll (vazelin).

Gyulladás során kialakuló ödéma

Az imiquimod hatására kialakuló gyulladás jelentős ödéma képződést okozott mind a TRPA1 WT mind a TRPA1 KO törzsekben (24. Ábra). A 4 napos kísérlet során már az első kezelést követően mindkét törzsből 15-20%-os duzzadás volt megfigyelhető az Aldara kezelt területen a kontrollhoz képest. A TRPA1 WT törzs esetében a duzzadás a második kezelést követően érte el maximumát, a növekedés a kiindulási állapothoz képest 30% körüli volt. Ezzel szemben a TRPA1 KO törzs esetében a duzzadás mértéke már a 2. napon meghaladta a vad típusnál észlelteket, a harmadik kezelésig tovább növekedett, ekkor érte el 55-60%-os maximumát. A kísérlet 2. és 3. napján szignifikáns különbség volt megfigyelhető a TRPA1 WT és KO törzsek

imiquimod kezelt hátbőr területeinek duzzadása során. A TRPA1 receptor hiánya tehát a duzzadás mértékét a kísérlet 2. és 3. napján szignifikáns mértékben, 20-30%-al növelte.

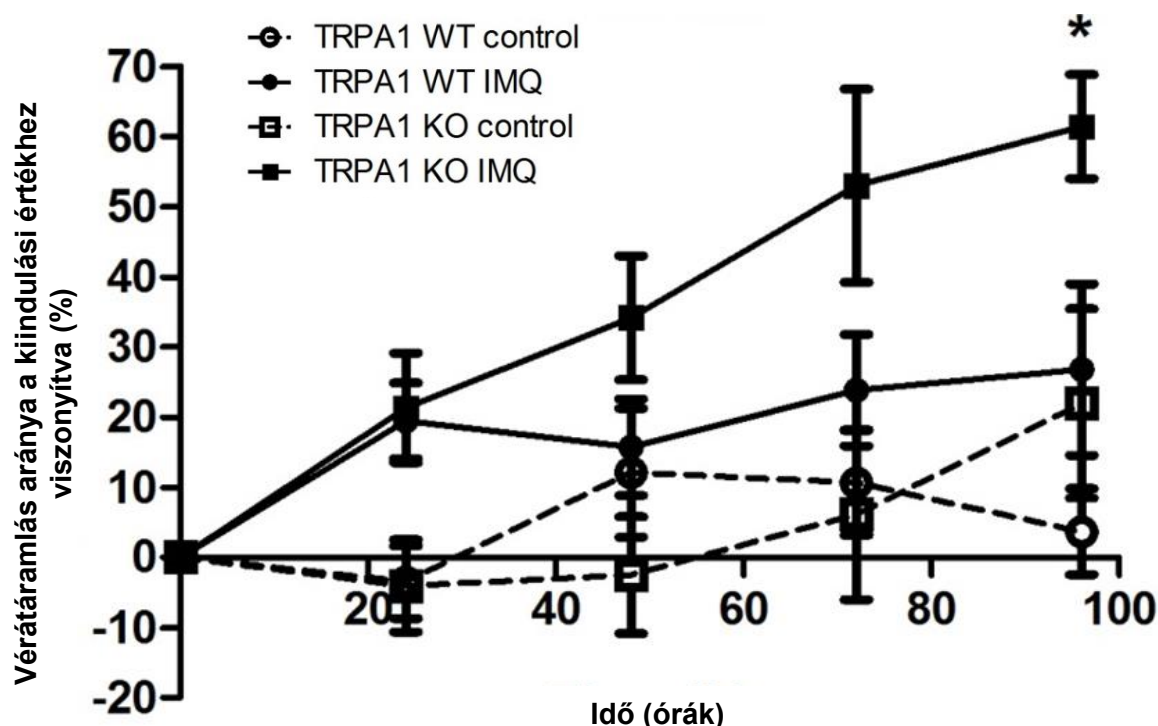


24. Ábra – Imiquimod indukált psoriasiform gyulladás során kialakuló szöveti duzzanat változása TRPA1 WT és KO egerek hátbőrén. A hátbőr vastagságát mikrométerrel mértük 0,1 mm pontossággal a kezelés előtt valamint a kezelést követően a megadott időpontokban (24h, 48h, 72h, 96h). Az adatokat a hátbőr vastagság %-os változásában adtuk meg a kiindulási értékekhez viszonyítva. (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$).

Bőrszövet vérátáramlásának változása Aldara kezelés hatására

A psoriasisos gyulladás jellegzetes tünete az erythema, a bőr kivörösödése, amit a bőr vérátáramlásának fokozódása okoz. Kíváncsiak voltunk, hogy a szöveti ödémaképződéshez hasonlóan a TRPA1 receptorok szerepet játszanak-e az imiquimod indukált gyulladás során a szöveti vérátáramlás szabályozásában. A szöveti vérátáramlást LASCA lézer Doppler módszerrel határoztuk meg az Aldara kezelést megelőzően, illetve a kezelése során minden nap (25. Ábra). A vérátáramlás a kiindulási értékekhez viszonyítva nem vagy csak igen kismértékben, nem szignifikáns módon emelkedett meg a vazelinrel kezelt állatokban. Az Aldara hatására a TRPA1 WT egerekben már az első kezelési naptól mintegy 20%-os perfúziós növekedést észleltünk, mely a kísérlet negyedik napjáig csaknem változatlan maradt. A TRPA1 KO egerekben ezzel szemben a kísérlet végéig folyamatosan növekvő áramlásfokozódást észleltünk, mely a 4. napon már meghaladta a 60%-os emelkedést, és szignifikánsan magasabb volt, mint a TRPA1 vad típusú egerekben mért értékek. Azaz, az

imiquimod kiváltott psoriasiform bőrgyulladásban a TRPA1 az ödémaképződéshez hasonlóan a szöveti vérátáramlás szabályozásában is szerepet játszik, hiányában fokozott gyulladás alakul ki.

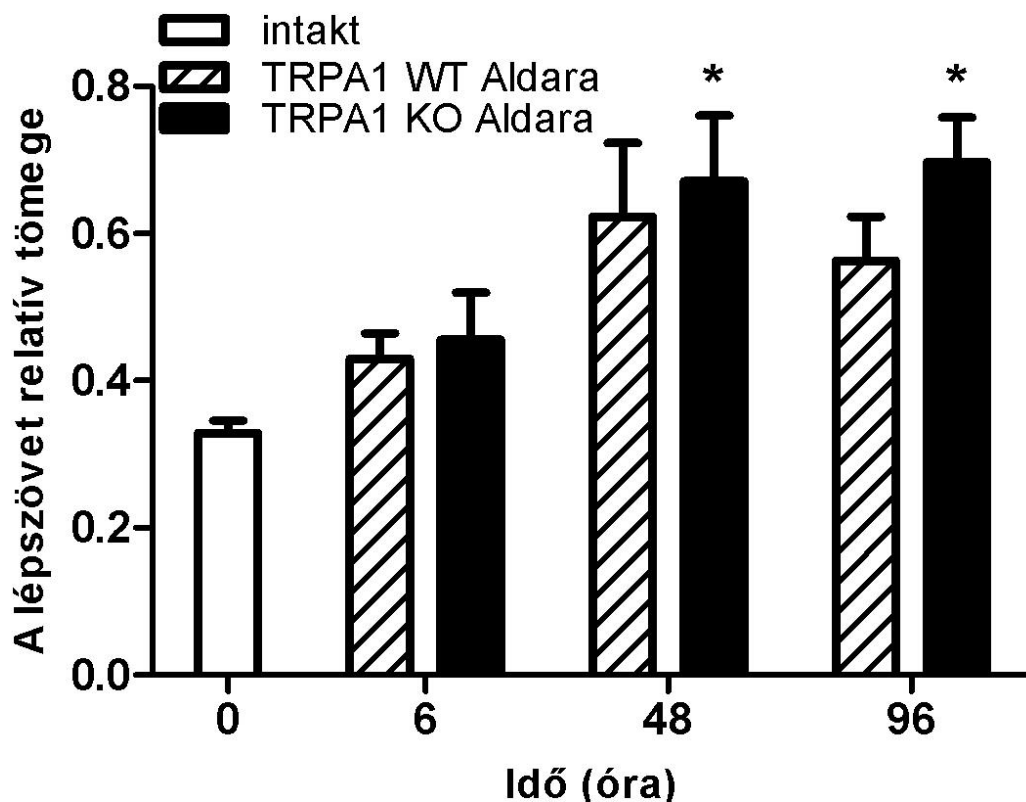


25. Ábra – Imiquimod indukált psoriasiform gyulladás során kialakuló szöveti vérátáramlás-változás TRPA1 WT és KO egerek hátbőréen. A hátbőr szöveti vérátáramlását LASCA lézer Doppler módszerrel határoztuk meg a kezelés előtt valamint a kezelést követően a megadott időpontokban (24h, 48h, 72h, 96h). Az adatokat a hátbőr vérátáramlás %-os változásában adjuk meg a kiindulási értékekhez viszonyítva. (* $p < 0,05$).

Az Aldara kezelés szisztémás hatásának vizsgálata

Van der Fits és munkatársai az általuk kidolgozott, imiquimod indukálta psoriasiform dermatitis modellben, C57BL/6 egerek esetén leírták, hogy az imiquimod kezelés igen jelentős szisztémás hatást vált ki (van der Fits et al. 2009).⁽¹³⁵⁾ Kíváncsiak voltunk, hogy az általunk alkalmazott új kísérleti elrendezésben, melyben a psoriasiform bőrgyulladást kisebb mennyiségű krémmel, valamint az Aldara és a kontroll krém egyidejű alkalmazásával, Finn kamrák használatával váltottuk ki, mennyire érvényesülnek ezek a szisztémás hatások. Ennek érdekében nyomon követtük a lép tömegének változását Aldara kezelés során.

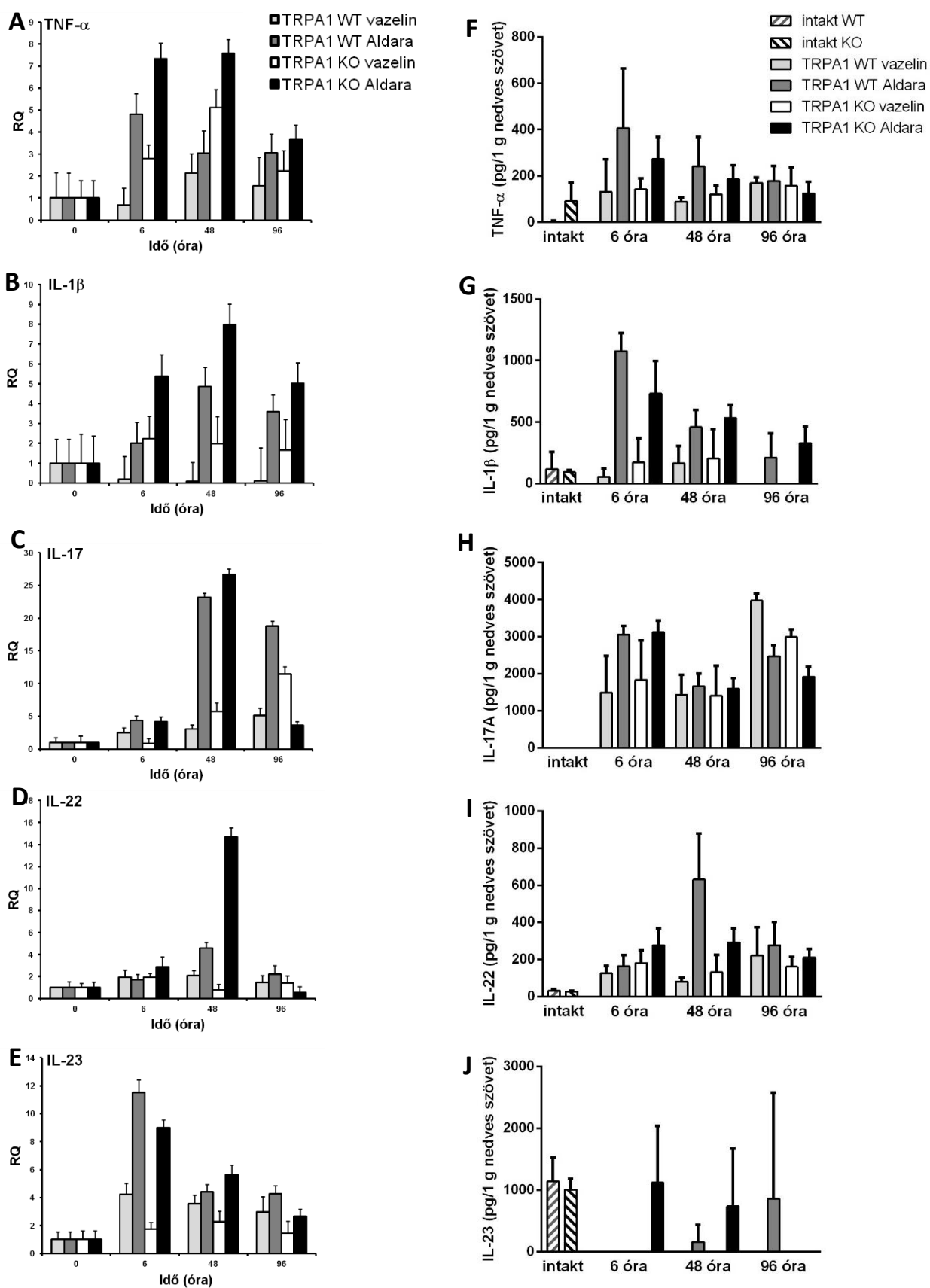
A kezeletlen (intakt) egerek lépének relatív tömegéhez viszonyítottuk az Aldarával kezelt TRPA1 WT és KO egerek lépének relatív tömegét a kísérlet különböző időpontjaiban. Nem tapasztaltunk szignifikáns lépmegnagyobbodást az Aldara kezelt TRPA1 WT és kezeletlen kontroll egerek között egyik vizsgált időpontban sem. Ezzel szemben az Aldarával kezelt TRPA1 KO egerek esetében a lép tömegének szignifikáns növekedését figyeltük meg a kezeletlen egerekhez képest a 3. és 4. kezelést követően (26. Ábra).



26. Ábra – Lépszövet relatív tömegének változása imiquimod indukált bőrgyulladás során TRPA1 WT és KO egerekben. A lép tömegét az állat súlyához viszonyítottuk, és az adatokat a kezelést nem kapott (intakt) állatok relatív léptömegéhez viszonyítva adtuk meg. * $p < 0,05$ (intakt vs. KO Aldara, páros t-teszt) $n=6$ /csoport.

Citokin génexpresszió

Az imiquimod indukálta psoriasiform bőrgyulladás során zajló sejtes válasz feltérképezése céljából meghatároztuk az IL-1 β , IL-23, IL-17, IL-22 és TNF α koncentrációját a kezelés különböző időpontjaiban levett TRPA1 WT és a TRPA1 KO csoportok szövetmintáiban. A kezelt területekben mért mRNS szinteket a kezeletlen szövetben mért expresszióhoz hasonlítottuk (27.A-E Ábra). A TRPA1 vad genotípusú egerekben az imiquimod kezelés az irodalmi adatokkal megegyezően az összes citokin mRNS expresszióját jelentősen fokozta.(134, 136) A TNF α és az IL-23 esetén az mRNS expresszió értéke a 6 órás időpontban volt a legmagasabb, míg az IL-1 β , IL-17 és az IL-22 esetében később, a 48 órás időpontban. A 96 órás időpontban az mRNS expresszió az összes citokin esetén már csökkenő tendenciát mutatott. Az IL-1 β mRNS expressziója imiquimod kezelés hatására a TRPA1 KO egerekben már 6 órával az Aldara kezelést követően jelentősen megnőtt, és minden időpontban a WT-hoz képest 2-2,5-szer nagyobb expresszió növekedést mutatott (27.B Ábra). Hasonlóan, a TNF α és az IL-22 esetén is 1,5-25-szer magasabb mRNS értékeket mértünk a TRPA1 KO egerekben, mint a vad típusú állatokban imiquimod kezelés hatására (27.A és D Ábra).



27. Ábra – Citokin mRNS expresszió (A-E) és citokin fehérje koncentráció (F-J) TRPA1 WT és TRPA1 KO egerekben imiquimod indukált bőrgyulladás során. TNF α , IL-1 β , IL-17A, IL-22 és IL-23 citokinek koncentrációja Aldara kezelés hatására TRPA1 WT és TRPA1 KO egerekben. n=4/csoport.

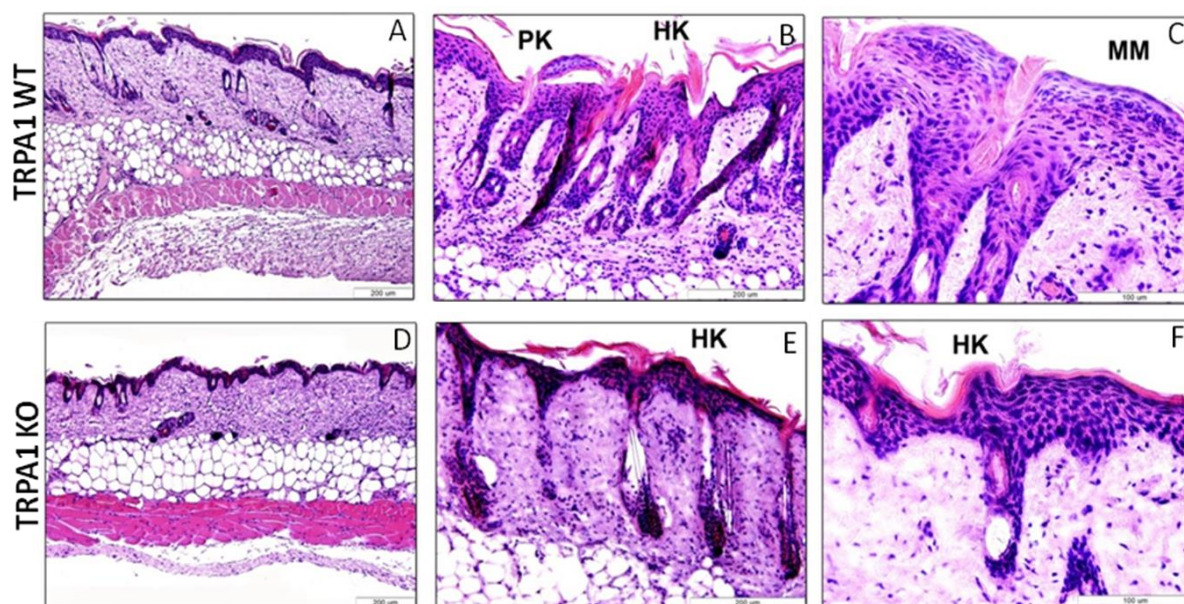
Az IL-23 mRNS expressziója már a 6 órás mintavételi időpontban elérte a maximumát mindkét törzs esetében, majd az ezt követő mintavételi időpontokban a génexpresszió fokozatos csökkenése volt megfigyelhető (27.E Ábra). Ugyanakkor sem az IL-23 sem az IL-17 gén mRNS expressziójában nem volt különbség a két törzs között – a TRPA1 WT törzsben kisebb mértékben csökkent az RNS szint a késői időpontokban, mint a KO egerek esetében (27.C és E Ábra).

A gyulladásos citokin fehérjék meghatározása

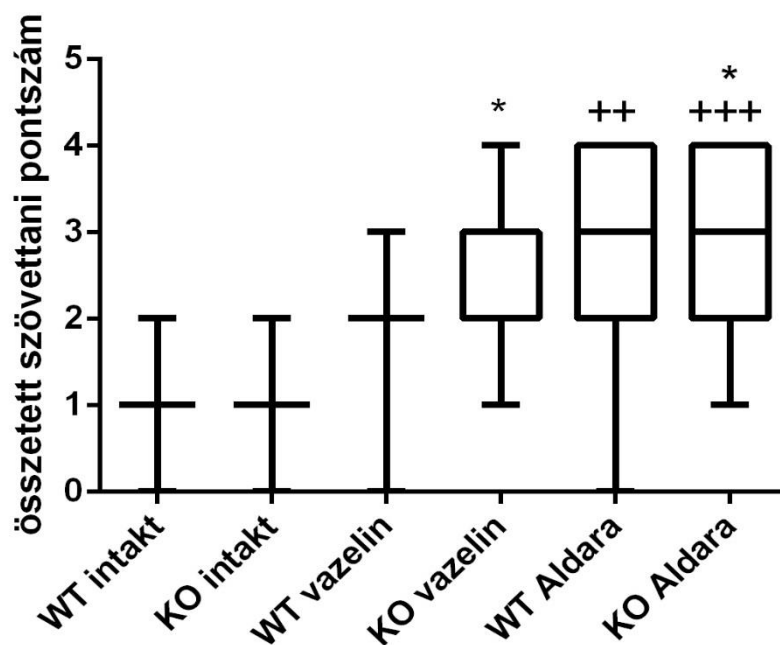
A következő lépésben a psoriasiform bőrtünetekben meghatároztuk a TNF α , IL-1 β , IL-17, IL-22 és IL-23 fehérjék koncentrációját a TRPA1 WT és a TRPA1 KO csoportok szövetmintáiban (27.F-J Ábra). Érdekes módon a TNF α , az IL-1 β és az IL-17 esetén is a szöveti citokin koncentráció már igen korán, 6 órával az imiquimod kezelést követően jelentősen megemelkedett (mind a WT mind a KO állatokban). Ugyanakkor a citokin mRNS expresszió vizsgálatokkal szemben a fehérje koncentrációk esetén egyik esetben nem volt szignifikáns különbség a KO és a WT csoportok között.

Aldara indukálta hátbőr gyulladás szövettani elváltozásai

Az Aldara kezelés hatására kialakuló hátbőr gyulladás szövettani képén TRPA1 WT és KO törzsek esetében is megfigyelhetők a pikkelysömörös bőr jellegzetes hisztopatológiai elváltozásai: keratinociták hiperproliferációja, parakeratózis, hiperkeratózis. Az epidermiszben és a dermiszben is gyulladásos sejtes beszűrődés látszik (limfociták, granulociták, makrofágok). Az epidermiszben neutrofil granulociták alkotta gyűlem, Munro-féle mikroabszcesszusok figyelhetők meg és látható a dermisz ödémásodása, papilláinak megnyúlása (28.B, C, E, F Ábra:). A szemikvantitatív pontozás alapján a TRPA1 WT és KO törzsek Aldara indukálta hátbőr gyulladásának hisztopatológiai képe között szignifikáns különbséget tapasztaltunk, a TRPA1 KO törzsben fokozottabb volt a psoriasiform gyulladás (29. Ábra). A vazelinnel kezelt kontroll bőrmintákból készült szövettani metszeteken a bőr általános hisztopatológiai képe látható (28.A, D Ábra).



28. Ábra – Aldarával kiváltott psoriasiform gyulladás során kialakuló hisztopatológiai változások TRPA1 WT és KO egér hátbőréen. A: TRPA1 WT/kontroll; B: TRPA1 WT/Aldara, 200x; C: TRPA1 WT/Aldara, 400x; D: TRPA1 KO/kontroll; E: TRPA1 KO/Aldara, 200x; F: TRPA1 KO/Aldara, 400x (HK: hiperkeratózis, PK: parakeratózis, MM: Munro-féle mikroabszcesszusok).



Mann-Whitney +: vaseline vs. Aldara, *: WT vs. KO

29. Ábra - A TRPA1 WT és KO típusú egerek hátbőréen Aldarával kiváltott psoriasiform bőrgyulladás kombinált szövettani pontozása.

Megbeszélés

Mind az idegrendszer mind az immunrendszer a külvilágból és a belső környezetünkből érkező ingerek érzékelésére specializálódott. A két rendszer sok tekintetben hasonlít egymásra, funkcióikban részben átfedik, részben kiegészítik egymást. Mindkét rendszer jellegzetessége, hogy a korábbi eseményekből származó memória létrehozása révén képes tanult, az adott ingerhez igazodó jövőbeli válaszok kialakítására. A bőr a külvilág felé nem csak határvonalként működik, hanem az onnan érkező jelek felfogását is végzi. A bőr védelmi feladatainak fontos eszköze a fizikai (mechanikai) és kémiai ellenállóképesség, amit jelez, hogy e tulajdonságok elvesztése vagy károsodása patológiás állapotok, betegségek kialakulását eredményezi. A bőr ugyanakkor számos speciális immunsejtet (például Langerhans sejt, dermális dendritikus sejt, IL-17 termelő γδ T-sejt) is tartalmaz, melyek jelenléte és funkciója elengedhetetlen a bőr megfelelő működéséhez.(267, 268) A bőrt behálózzák a perifériás (érző és autonóm) idegrendszerhez tartozó idegek, és ezek segítségével a bőr számtalan ártalmatlan vagy potenciálisan káros hatást képes felfogni, azonosítani.(269) A hátsó gerincvelői gyökökben elhelyezkedő érző idegek jelentős része expresszál TRP csatornákat, melyek feltehetően szerepet játszanak a különféle érzetek felfogásában is. A közelmúltban igazolták, hogy a TRPV1⁺Nav1.8⁺ érzőidegek nélkülözhetetlenek az imiquimod indukált psoriasiform bőrgyulladás kiváltásában is, hiányukban a dermális denritikus sejtek nem képesek IL-23 termelésre.(134)

Eredményeink szerint a TRPA1⁺ neuronok a TRPV1⁺ nociceptorokkal éppen ellentétes funkciókért felelősek. Vizsgálataink során a TRPA1 KO állatokban az imiquimod hatására kifejezettebb szöveti vérátáramlás növekedést és duzzanatot, szöveti infiltrációt észleltünk, mint a vad típusú egerekben. Mivel a különbség a vad és a génhányos egerek között a 2-3. napon válik kifejezetté, feltételezhető, hogy ebben elsősorban a sejtes infiltráció és proliferáció különbözősége játszik szerepet. Jelenleg folyó immunhisztológiai vizsgálatok hivatottak eldönteni, hogy pontosan melyik sejt(ek) hiánya/többlete felelős az észlelt eltérésért.

A citokin gén expressziós vizsgálatokkal az IL-1β, a TNFα és az IL-22 esetén is lényegesen magasabb mRNS értékeket mértünk a TRPA1 KO egerekben, mint a TRPA1 vad genotípusú állatokban. Ugyanakkor sem az IL-23 sem az IL-17 gén mRNS expressziójában nem volt különbség a két törzs között. Meglepő módon a szöveti citokin fehérje koncentrációk csak részben korreláltak a citokin mRNS expressziós értékekkel, és egyértelmű különbség nem volt igazolható a WT és a KO egerek között. Érdekes módon az IL-1β, a TNFα és az IL-17 esetén is a szöveti citokin koncentráció már igen korán, 6 órával az imiquimod kezelést követően jelentősen megemelkedett (mind a WT mind a KO állatokban), annak ellenére, hogy például az IL-17 esetén ebben az időpontban még csak minimális citokin mRNS expressziót észleltünk. Feltehető, hogy a szöveti citokin tartalom legalább két részből tevődik össze: részben a helyben, *de novo* szintetizált fehérjékből, részben a beáramló sejtekből felszabaduló

preformált citokinekből. Egy közelmúltban megjelent vizsgálat szerint a pikkelysömörös bőrben a neutrofilek alkotják a legnagyobb IL-17 tartalmú sejtcsoportot.(270) Ugyanakkor a plakkokból izolált neutrofilokban az IL-17 mRNS-t nem lehetett kimutatni, azaz ezek a sejtek a bőrbe vándorolva előre elkészített IL-17-t juttathatnak a környezetükbe. Shao és munkatársai nemrégiben számoltak be arról, hogy a pikkelysömörös epidermisben jelentős mennyiségben jelen lévő lipocalin-2 nevű antimikrobiális peptid koncentráció függő kemotaktikus ingert jelent a neutrofilek számára, így szerepet játszhat a pikkelysömör kialakulásában.(271) Feltehető, hogy az IL-17 gátló gyógyszerek igen gyors hatása is a nagy mennyiségű, neutrofil eredetű IL-17 neutralizálásában rejlik.(270) Arra, hogy a TRPA1 KO egerekben észlelt fokozott psoriasiform gyulladás hátterében a neutrofilek fokozott beáramlása állna, egyelőre nincs bizonyítékunk.

A dermisben elhelyezkedő TRPV1+ nociceptiv idegvégződések feltehetően a velük mikroanatómiai kapcsolatban álló dermális dendritikus sejteken keresztül vesznek részt az IL-17 termelő γδ T-sejtek aktiválásában.(134) A kísérleteinkben a TRPA1 KO egerekben észlelt fokozottabb gyulladás magyarázatául szolgálhat, hogy a TRPA1+ aktiválása a nociceptiv neuronokból antiinflammatorikus hatású neuropeptidek (CGRP és somatostatin) felszabadulását eredményezi.(272) Ismert, hogy a CGRP a bőrben erőteljes gyulladáscsökkentő hatással bír,(273) így TRPA1 KO egerekben a kisebb mennyiségben felszabaduló CGRP végső soron fokozottabb gyulladást tehet lehetővé. Előzetes eredményeink szerint az imiquimod képes aktiválni a TRPA1 csatornákat, így közvetlenül is kiválthatja az antiinflammatorikus neuropeptidek felszabadulását a kezelt bőrben.

Vizsgálataink során a psoriasiform egérmodellt is módosítottuk. A jelenleg elterjedt alkalmazott modellben az imiquimod kezelés igen jelentős szisztémás hatást vált ki, ami szignifikáns módon befolyásolhatja a bőrben észlelt változásokat.(135) Az általunk kidolgozott új kísérleti elrendezésben, melyben a psoriasiform bőrgyulladást kisebb mennyiségű hatóanyaggal, valamint az imiquimod és a kontroll krémek egy állaton történő alkalmazásával váltjuk ki, a szisztémás mellékhatások ugyan észlelhetők (26. Ábra), de csaknem elhanyagolhatóan alacsony mértékben jelentkeznek. Érdekes módon a TRPA1 hiánya nem csak a bőrben, hanem a lépben is kifejezettebb gyulladásos választ váltott ki.

Összefoglalva, eredményeink a neuroimmun szabályozás újabb aspektusára világítanak rá. Feltehető, hogy a különböző TRP csatornák aktiválása eltérő módon befolyásolja a kialakuló immun reakciókat az adott szövetben, így a TRP csatornák fontos szerepet játszanak a szövetspecifikus immunreakciók finomhangolásában. A TRP csatornák specifikus aktiválásáva vagy gátlása új célpont lehet a bőr immunmediált betegségeinek kezelésében.

5.3. A PSORIASIS KLINIKAI JELLEMZŐINEK VIZSGÁLATA

5.3.1. A betegség súlyossága, az életminőség és a kezelési szokások felmérése kelet-közép-európai psoriasisos betegeken

Mivel a kelet-közép-európai régió pikkelysömörös betegeiről nem rendelkezünk epidemiológiai adatokkal, a vizsgálat célja a psoriasis epidemiológiai jellemzőinek általános, áttekintő felmérése volt. A vizsgálatba bevont 913 beteg közül 123 volt magyar (2. Táblázat). Mivel a vizsgálatba bevont betegek az adott rendelésen egymást követően megjelenő (nem válogatott) psoriasisos betegek voltak, így feltételezhető, hogy többé-kevésbé reprezentálták az adott rendelés betegösszetételét. A betegek csaknem 60%-a férfi volt, az átlagéletkor 46,8 év volt (2. Táblázat). A bőrtünetek átlagosan 29,1 éves korban jelentek meg, a diagnózis felállítása átlagosan egy évet késett a tünetek megjelenéséhez képest. A 913 betegből 222 (24%) esetén fordult elő szülők, 114 (12%) esetben testvérek, 169 (19%) esetben egyéb családtagok között psoriasis. Társbetegségekről 572 (63%) beteg számolt be az alábbi megoszlásban: magas vérnyomás betegség (n=285; 31%), obesitas (n=145; 16%), májbetegség (n=99; 11%), gyomor-bélrendszeri betegség (n=80; 9%), atherosclerosis (n=62; 7%), 2 típusú diabetes mellitus (n=65; 7%), szívelégtelenség (n=57; 6%). Reumatológus által diagnosztizált arthritis psoriatica 132 (14%) beteg esetén fordult elő. A komorbiditások tekintetében szignifikáns országok közti különbségek mutatkoztak.

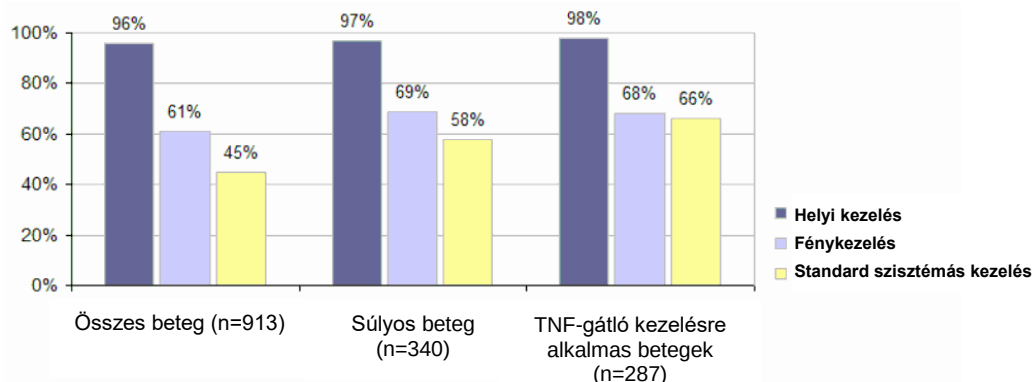
14. Táblázat – Testfelszín érintettség (BSA), Psoriasis Felszín és Aktivitási Index (PASI), bőrgyógyászati életminőség index (DLQI), vizuális analóg skála (VAS), és az orvos elégettsége a beteg által kapott kezeléssel.

Ország	BSA (%)*		PASI*		DLQI*		VAS*		Az orvos elégedetlen a beteg kezelésével n (%)**
	Átlag (SD)	Medián (tartomány)	Átlag (SD)	Medián (tartomány)	Átlag (SD)	Medián (tartomány)	Átlag (SD)	Medián (tartomány)	
Balti országok	39,5 (27,1)	34 (4-99)	23,2 (17,8)	15,3 (1,5-57,2)	9,7 (6,4)	9 (0-26)	58,4 (22,4)	58 (12-94)	16 (35,6)
Csehország	30,5 (20)	25,5 (1-87)	14 (10)	11,7 (0,3-58,4)	10,9 (6,4)	11 (0-29)	45,4 (25,4)	45,5 (3-97)	93 (59,6)
Magyarország	28 (18,4)	26 (1-90)	14,6 (10,3)	12 (0,6-47,2)	9,7 (6,9)	9 (0-30)	39,9 (23,9)	35 (4-100)	76 (61,8)
Lengyelország	28,2 (19,7)	22 (2-99)	13 (9)	11,9 (1-58,2)	10,8 (6)	10 (1-29)	38,9 (23)	36,5 (2-98)	84 (40,2)
Románia	36,9 (26,9)	29 (1-98)	20,2 (14,3)	17 (0,4-61,6)	14,4 (7,6)	15 (0-30)	56,1 (26)	60 (5-100)	104 (67,1)
Szlovákia	21,1 (17,3)	17 (0,5-94)	13,4 (11,3)	10,5 (0,4-55,2)	11,4 (7,4)	11 (0-27)	38 (23,2)	36 (2-90)	75 (42,9)
Szlovénia	17 (14,2)	13 (1-79)	6,7 (6,2)	4,8 (0,8-35,2)	11,2 (7,1)	9 (0-29)	41,8 (25,6)	43 (3-90)	34 (69,4)
Összes	28,7 (21,5)	23 (0,5-99)	15 (11,8)	12 (0,3-61,6)	11,4 (7)	11 (0-30)	44 (25,2)	41 (2-100)	482 (52,9)

A bőrtünetek kiterjedtségét és azok életminőségre gyakorolt hatását a 14. Táblázat szemlélteti. Az átlagos testfelszín érintettség (BSA) 28,7% volt, az átlagos PASI érték 15. A betegek igen jelentős része számolt be súlyos életminőség romlásról (átlagos DLQI 11,4, átlagos VAS 44).

Míg a magyar betegek tüneteinek aktivitása és életminőség mutatói is a régió átlagával csaknem megegyeztek, az orvosok az átlagosnál kevésbé voltak elégedettek a beteg korábbi kezelésének eredményével.

Csaknem minden beteg (873, 96%) részesült a vizsgálatot megelőző három év során helyi kezelésben (30. Ábra). 558 beteg (61%) kapott fénykezelést, míg 412 beteg (45%) valamilyen standard szisztémás kezelésben részesült. A 340 súlyos psoriasisos beteg között alig valamivel volt nagyobb azok aránya, akik korábban fényterápiában (58%) vagy szisztémás kezelésben (69%) részesültek, mint az összes beteg esetén. A résztvevő országok között is jelentős eltérések voltak az alkalmazott gyógyszerek megoszlásában. A methotrexát alkalmazása a legmagasabb a Balti országokban és Romániában volt, a legalacsonyabb Szlovákiában. Ciklosporint ugyanakkor a legtöbben Szlovákiában szedtek, a dithranolt pedig leggyakrabban Lengyelországban alkalmazták. Azon 482 beteg közül, akiknek a kezelésével a kezelőorvos nem volt elégedett, 312 (68%) részére javasolta volna az orvos biológiai terápia beállítását.



30. Ábra. Korábbi vagy jelenlegi terápiák az összes (n=913), a súlyos (n=340) és a TNF-gátló kezelésre alkalmas (n=287) psoriasisos betegek esetén.

Megbeszélés

A kutatás célja az volt, hogy Közép-Kelet Európában a pikkelysömör epidemiológiai jellegzetességeire vonatkozó első átfogó vizsgálatot elvégezzük. A vizsgálatba 9 országból csaknem 1000 beteg került bevonásra, közülük 123 magyar volt. A bevont betegpopuláció összetétele megfelelt a nyugati országokban szokásos típusos pikkelysömörös populációnak.⁽²⁷⁴⁾ A betegek mintegy egyharmadának súlyos tüneteinek voltak, és 15%-nak volt ízületi érintettsége. A vizsgált populációban magas vérnyomás betegség, elhízás, érelmeszesedés, cukorbetegség és szívelégtelenség fordult elő társuló betegségként. A

magas vérnyomás, az elhízás és a cukorbetegség esetén nem észleltünk jelentős országok közötti különbségeket, ami ezeknek a betegségeknek az általános jellegét tükrözi.

A vizsgált mintában az átlagos PASI érték 15, az átlagos DLQI 11 volt. A betegek több mint felének (n=539, 59%) a PASI értéke magasabb volt mint 10, és hasonló arányú (n=467, 51%) volt a 10-nél magasabb DLQI-val rendelkező betegek csoportja. Mindkét feltétel azonban csak 340 beteg esetén (37%) teljesült, azaz a betegség súlyosságának fizikai és pszichés mérőszámai alapján mért értékek, hasonlóan korábbi közleményekhez, az általunk vizsgált populációban sem voltak egymással teljes mértékben konzisztensek.(275, 276) Ismert, hogy a PASI érték nem szignifikáns prediktor az életminőség szempontjából, és a pszichés faktorok sokkal inkább meghatározzák a betegség által okozott rokkantságot, mint a bőrtünetek súlyossága, elhelyezkedése vagy fennállása.(277, 278) Bár a felmérés célja a régió általános adatainak összegzése volt, a betegség súlyossága és az életminőség tekintetében fontos és lényeges különbségeket észleltünk az országok között is. Például az átlagos %BSA (39.5%), PASI (23.2) és VAS (58.4) értékek a Balti államokban voltak a legmagasabbak (legsúlyosabb bőrtünetek), az életminőség értékek itt voltak a legalacsonyabbak (DLQI 9,7 – legjobb életminőség). Ezzel szemben Romániában jelentették a második legmagasabb %BSA (36,9%), PASI (20,2), és VAS (56.1) értékeket, ugyanakkor a DLQI itt volt a legrosszabb (14,4). Érdekes, hogy az orvosok kezeléssel szembeni elégedettsége szintén nagyon erős országonkénti változatosságot mutatott. Például Szlovéniában, ahol a legalacsonyabbak voltak a betegség súlyossági mutatók, az orvosok csaknem 70%-a nem volt elégedett a betegek aktuális kezelésével. Ez arra utalhat, hogy a betegek és az orvosok elvárásai országról-országra változhatnak, amit számos tényező, például kulturális vagy finanszírozási faktorok is befolyásolhatnak.

A leggyakoribb kezelési módot az általunk vizsgált populációban is a lokális terápiák képezték, ezen belül is a kortikoszteroid externák. A szisztémás szerek közül a methotrexátot a betegek 21%-a részére javasolta a bőrgyógyásza, ami csaknem kétszerese egy nem sokkal korábban publikált németországi adatnak (10,1%).(279) A vizsgálatba bevont betegek 15%-a szedett korábban vagy a felmérés idejént cyclosporint, míg a németországi vizsgálatban ez mindössze 4,8% volt.(279) Figyelemre méltó, hogy a felmérésben szereplő súlyos betegek kezelése nem tért el jelentősen a teljes populáció kezelésétől. A súlyos betegek közül szisztémás kezelésben részesülők aránya (58%), bár viszonylag alacsony volt, meghaladta a korábban más felmérések alapján publikált adatokat. Egy másik németországi felmérés szerint például a súlyos pikkelysömörös betegek 45%-a, egy nyugat-európai felmérés szerint pedig mindössze 21%-a részesült szisztémás kezelésben.(274, 275) A szisztémás szerek alkalmazásának magasabb aránya talán a vizsgálatunkban a többi felméréshez képest észlelt magasabb PASI értékekkel magyarázható.

A hagyományos antipszoriátikus terápiás lehetőségek mellett a vizsgálatban szereplő betegek mintegy 30%-a részesült legalább egy balneoterápiás kezelésben. Az eredetileg Európából származó fürdőkezelés világszerte egyre népszerűbb alternatívát jelent a pikkelysömör kezelésére.(280) Szlovákiában volt a legmagasabb a fürdőkezelésben részesült betegek aránya (50%), míg a többi országban (sajnálatos módon, Magyarországon is) csak 25-30%. Az eltérések feltehetően a fürdőkezelések elérhetőségének országok közötti különbözőségéből adódhatnak, hiszen hazánkban például a balneoterápia bőrgyógyászati javaslatra nem hozzáférhető kedvezményesen (míg reumatológiai javaslatra igen).

Összefoglalva, a felmérés az első pikkelysömörre vonatkozó átfogó epidemiológiai vizsgálat Közép-Kelet Európában. A vizsgálat eredményei általában összevethetőek voltak a korábban, más régiókban végzett hasonló felmérések eredményeivel. Ugyanakkor egyes esetekben a vizsgált országok között jelentős különbségeket is észleltünk.

5.3.2. A dohányzás szerepe a periodontitis kialakulásában psoriasisban

A pikkelysömörös betegeken magasabb a krónikus periodontitis gyakorisága, mint a nem psoriasisos populációban.(55, 281) Ugyanakkor az is ismert, hogy a dohányzás a krónikus periodontitis egyik patogenetikai tényezője.(282, 283) A pikkelysömörös betegek között magasabb a dohányosok aránya, a dohányzás a psoriasis tüneteinek súlyosbodását okozza, illetve az antipszoriátikus kezelések hatékonyságát ronthatja.(58) Mindezek ellenére munkánk kezdetekor nem volt ismert, hogy a dohányzás milyen hatással van a periodontitis kialakulására psoriasisban. Ezért megvizsgáltuk, hogy a dohányzó pikkelysömörös betegeken eltér-e a periodontitis kialakulásának valószínűsége és súlyossága a nem dohányzó psoriasisos betegekhez viszonyítva.(284) A vizsgálatba 82 psoriasisos és 89 egészséges kontroll önkéntest vontunk be. A vizsgálat résztvevői teljes periodontális vizsgálaton estek át, a periodontitises tünetek súlyosságának osztályozását a jelenleg publikált egyik legrészletesebb és legszigorúbb klasszifikációs rendszer (133) alapján végeztük (a vizsgálat menetét a Módszerek rész 4.2.4. fejezetében részleteztük). Mind a betegeket mind a kontroll önkénteseket dohányzó és nemdohányzó csoportokba osztottuk, és a csoportokat összehasonlítottuk egymással a periodontitis státusz szempontjából.

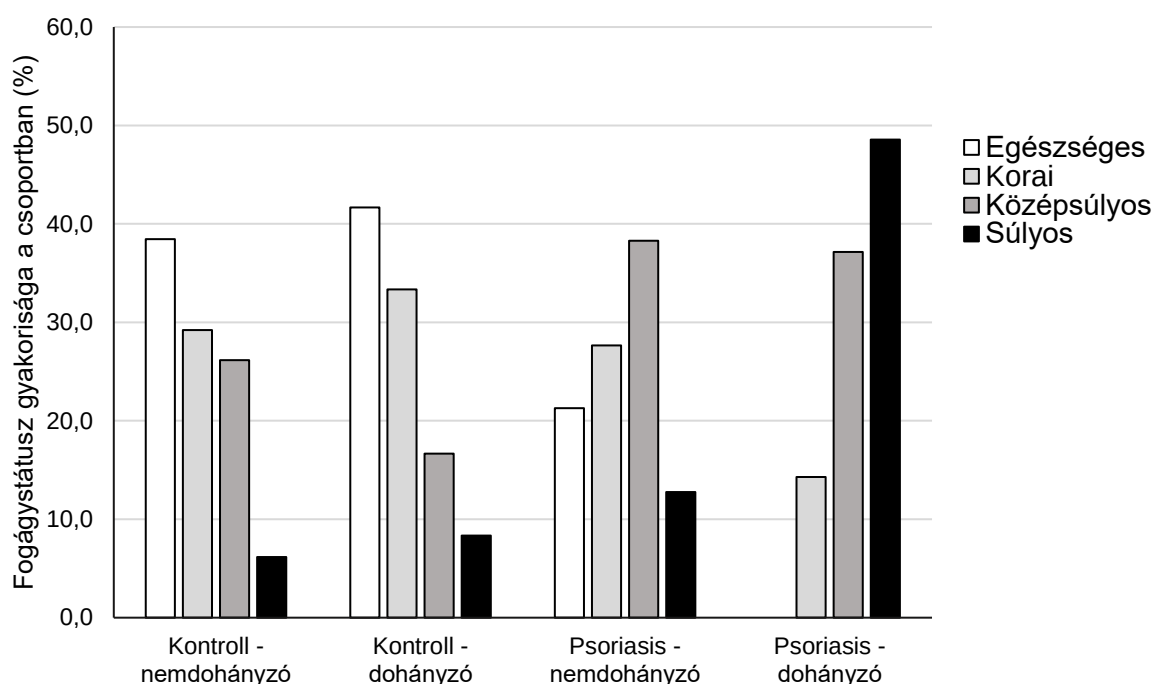
A csoportok összetételét a 15. Táblázat tartalmazza. A pikkelysömörös csoportban a nők aránya kissé magasabb volt, míg a kontroll csoportban a nemek egyenlő arányban voltak reprezentálva. Statisztikai vizsgálatot végeztünk, hogy megállapítsuk, a nemnek van-e hatása a betegség súlyosságára, de az összefüggés nem bizonyult szignifikánsnak sem a betegek ($\chi^2=5,184$ $p=0,189$) sem a controlok ($\chi^2=3,029$, $p=0,387$) esetén. A betegek és a controlok életkorban csaknem teljesen megegyeztek. A négy alcsoportba való beosztás diagnózis (psoriasis vs. kontroll) és dohányzási státusz (dohányzó vs. nem dohányzó) alapján nem

változtatta meg szignifikánsan ezen paramétereket. A pikkelysömörös csoportban 35 személy (43%) dohányzott, míg a kontroll csoportban 24 (27%).

15. Táblázat – A vizsgálati és kontrol csoportok illetve alcsoportok leíró statisztikai összehasonlítása.

	PSORIASIS (n=82)	KONTROLL (n=89)	SZIGNIFIKANCIA
Életkor (átlag±SD, évek)	50,9±13,4	50,3±13,7	
dohányzó alcsoport	48,5±14,0	43,3±12,4	
nemdohányzó alcsoport	54,7±12,9	52,9±14,7	
Nem N:F (n(%):n(%))	45 (55%):37 (45%)	44 (49%):45 (51%)	
dohányzó alcsoport	22 (63%):13 (37%)	12 (50%):12 (50%)	
nemdohányzó alcsoport	23 (49%):24 (51%)	33 (51%):32 (49%)	
Dohányzó (n(%))	35 (43%)	24 (27%)	
Periodontális státusz a dohányzóknban (n)	egészséges: 0	egészséges: 10	referencia kategória
	korai: 5	korai: 8	p<0,001
	középsúlyos: 13	középsúlyos: 4	p<0,001
	súlyos: 17	súlyos: 2	n.s.
Periodontális státusz a nemdohányzóknban (n)	egészséges: 10	egészséges: 25	referencia kategória
	korai: 13	korai: 19	n.s.
	középsúlyos: 18	középsúlyos: 17	p = 0,05
	súlyos: 6	súlyos: 4	p<0,05

A psoriasisos + dohányzó csoportban nem volt egészséges fogíny státuszú beteg. A csoportban 5 betegnek (14%) korai, 13 betegnek (37%) középsúlyos, 17 betegnek (49%) súlyos periodontitise volt. A nem dohányzó pikkelysömörös betegek közül 10 (21%) volt egészséges fogíny státuszú, míg 13 (28%) korai, 18 (39%) középsúlyos és 6 (12%) súlyos fogínygyulladásban szenvedett. A nem pikkelysömörös dohányzók közül 10 (42%) volt egészséges fogíny státuszú, 8-nak (33%) korai, 4-nek (17%) középsúlyos, 2-nek (8%) súlyos periodontitise volt. A nemdohányzó kontroll csoportban 25 esetben (38%) egészséges fogínyt, illetve 19 (29%) korai, 17 (26%) középsúlyos és 4 (7%) súlyos periodontitist észleltünk. Tehát a dohányzó pikkelysömörös betegek és a nemdohányzó kontroll önkéntesek esetén ellenkező irányú tendenciát lehet megfigyelni. Míg a psoriasisos dohányosok között a súlyos periodontitis volt a leggyakoribb és nem észleltünk egészséges fogínyű beteget, addig a kontroll nemdohányzó csoportban az egészséges fogínyűek voltak többségben, és csak elvétve fordult elő súlyos fogínybetegség (31. Ábra).



31. Ábra – Elterő tendenciák: a dohányzó psoriasisos betegek között a periodontális betegség súlyos stádiuma a leggyakoribb, míg a nem dohányzó nem pikkelysömörös kontrollok többségének egészséges a fogínye vagy csak korai fogínybetegsége van.

A fogínybetegség kialakulásának esélyhányadosait, szignifikancia és megbízhatósági intervallumait az 16. Táblázat tartalmazza. Statisztikailag a pikkelysömör fennállása önmagában 4,373-szorosára (OR a nemdohányzó kontroll csoporthoz hasonlítva, $p < 0,05$) növelte a súlyos periodontitis kialakulásának valószínűségét, míg dohányzással együtt a rizikó 24,278 volt (OR a nemdohányzó kontroll csoporthoz hasonlítva, $p < 0,001$). Ez az esélyhányados 4,43-szor magasabb, mint a dohányzás (OR 1,25) és a psoriasis (4,373) esélyhányadosok kombinációja, ami a két tényező szinergista hatására utal a súlyos fogínybetegség kialakulásában. Más szavakkal, a súlyos periodontitis kialakulásának rizikója psoriasisos betegeken dohányzás esetén hatszor magasabb, mint dohányzás nélkül. A dohányzás ugyanakkor a pikkelysömörös betegek között szignifikánsan emelte a periodontitis mindhárom súlyossági fokozatának kialakulás valószínűségét ($p < 0,001$). Végül a dohányzás hossza ugyancsak szignifikáns módon emelte a középsúlyos és a súlyos periodontitis kialakulásának valószínűségét mind a psoriasisos ($\chi^2 = 12,204$, $p = 0,014$) mind a kontroll ($\chi^2 = 9,869$, $p = 0,02$) csoportban.

16. Táblázat – A klinikai csoportokhoz tartozó esélyhányadosok és szignifikancia értékek.

ÖSSZEHAISONLÍTÁS	STÁDIUM	OR	SZIGNIFIKANCIA	95% CI (felső;alsó)
DOHÁNYZÓ KONTROLL (vs. nemdohányzó kontroll)	korai	1,053	n.s	0,394;3,177
	középsúlyos	0,588	n.s	0,158;2,187
	súlyos	1,250	n.s	0,197;7,942
NEMDOHÁNYZÓ BETEG (vs. nemdohányzó kontroll)	korai	1,944	n.s	0,706;5,353
	középsúlyos	2,647	p = 0,05	0,985;7,113
	súlyos	4,373	p = 0,05	1,114;17,169
DOHÁNYZÓ BETEG (vs. nemdohányzó kontroll)	korai	1,711	n.s	0,618;4,732
	középsúlyos	2,500	n.s	0,924;6,761
	súlyos	24,278	p<0,001	5,207;113,189
DOHÁNYZÓ BETEG (vs. nemdohányzó beteg)	korai	6,082	p<0,001	1,516;2,440
	középsúlyos	1,722	p<0,001	3,535;3,689
	súlyos	4,480	p<0,001	1,651-6,851
DOHÁNYZÓ BETEG (vs. dohányzó kontroll)	korai	1,904	p<0,001	1,202; 3,016
	középsúlyos	9,900	p<0,001	1,568;6,262
	súlyos	2,589	n.s.	2,108;2,695

Megbeszélés

A jelen vizsgálatunk eredménye szerint önmagában a pikkelysömör a súlyos periodontális betegség kialakulásának valószínűségét több mint négyszeresére növeli (a nemdohányzó kontrollokhoz képest), míg a dohányzást ezt tovább fokozza, több mint 24-szeresre növeli. Azaz, azokban a pikkelysömörös betegekben, akik dohányoznak is, mintegy hatszor nagyobb valószínűséggel alakul ki súlyos periodontális betegség, mint azokban a betegekben, akik nem dohányoznak. Ésszerű lenne azt feltételezni, hogy ez a rizikó-fokozódás csak az egyes rizikófaktorok összeadódásából ered. Ennek a hipotézisnek a tesztelésére az egyes esélyhányadosokat kombináltuk, és kiszámítottuk a szinergia faktort. A kombinált esélyhányados az adott állapot valószínűségét adja meg akkor, ha valamennyi rizikófaktor jelen van. A csak psoriasis (4,373) illetve csak dohányzás (1,250) értékekből származtatott kombinált valószínűségi érték 6,60 volt, ami lényegesen kevesebb a megfigyelt 24,278-nál. Ebből egyértelmű, hogy a dohányos pikkelysömörös betegek esetén észlelt érték nem egyszerűen a psoriasis és dohányzás okozta hatások összegződéséből ered. A szinergia érték kiszámítása (részletesen lásd az eredeti közleményben) ugyancsak támogatta ezt a feltételezést, és a két tényező (psoriasis és dohányzás) között szinergisztikus hatást mutatott ki a parodontitis tekintetében.

Mivel saját eredményeink és mások vizsgálata is igazolták, hogy a dohányzás önmagában is képes periodontális betegség kialakítására, azt a következtetést vonhatjuk le, hogy a dohányzás növeli a periodontális betegség kialakulásának valószínűségét mind az

egészséges mind a pikkelysömörös populációban, de a psoriasis hajlamosít a betegség súlyosabb formáinak kialakulására.

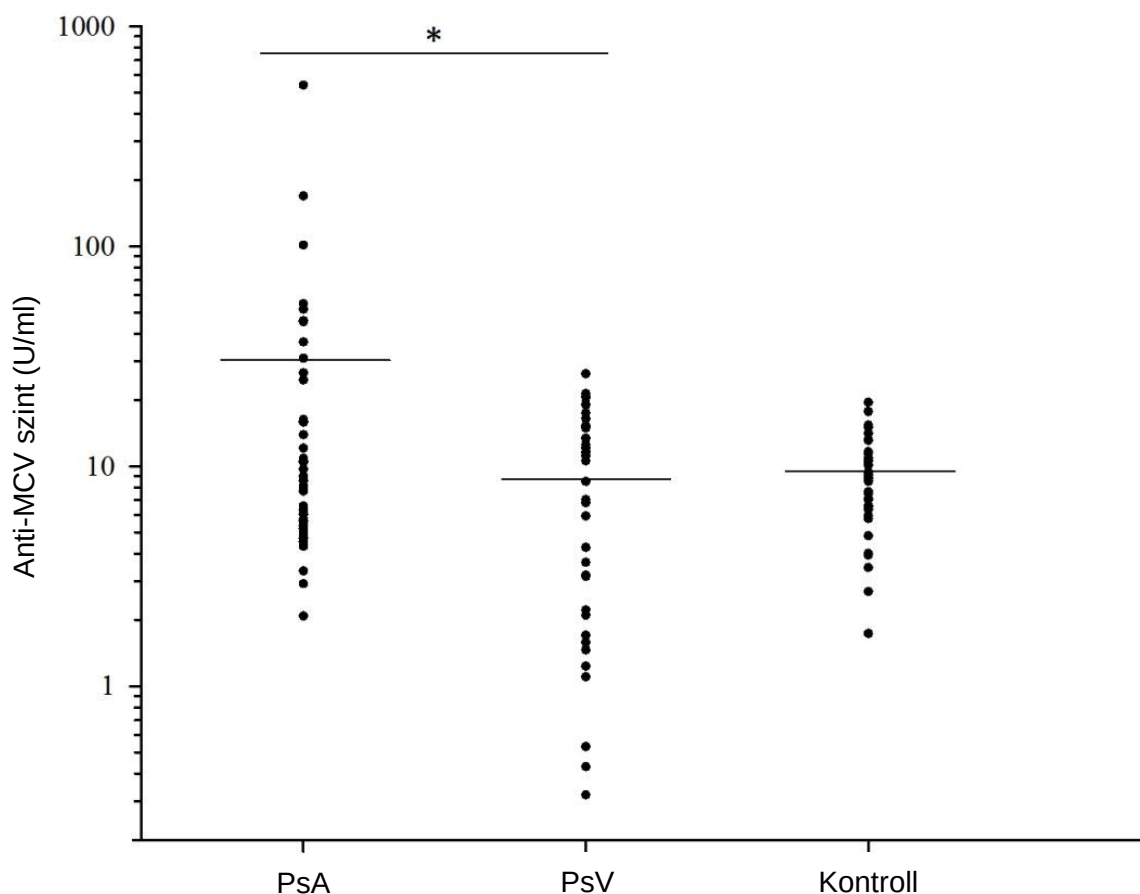
Azt, hogy a dohányzás és a psoriasis hogyan fejt ki szinergisztikus hatást a periodontális betegség kialakulása szempontjából, csak részlegesen tudjuk megmagyarázni. Ismert, hogy az enyhe és súlyos periodontális betegség között az egyik legkifejezettebb különbség, hogy a késői stádiumokban a gyulladásos reakcióban a T-sejtek helyett a B-sejtek dominálnak.(285) Feltételezhető, hogy a B-sejtek aktiválására is képes psoriasis-citokinek, pl. IL-6, IL-8, IL-12, IL-18, TNF α és INF γ végső soron B-sejtes immunválasz felé tolják el a gyulladásos reakciót. A cigaretta füst továbbá a TLR4 expressziójának fokozásán keresztül a T-sejtek INF γ termelését aktiválhatja, ami ugyancsak a B-sejt irányú polarizáció irányába hathat.(286)

Összefoglalva, eredményeink, amelle, hogy alátámasztják a pikkelysömör és a periodontális betegség kapcsolatáról szóló korábbi megfigyeléseket, új adatokat is szolgáltatnak a dohányzás és a psoriasis szinergisztikus hatásáról a periodontális betegség előidőzésében.

5.3.3. Citrullinált peptidek vizsgálata psoriasisban és arthritis psoriaticában

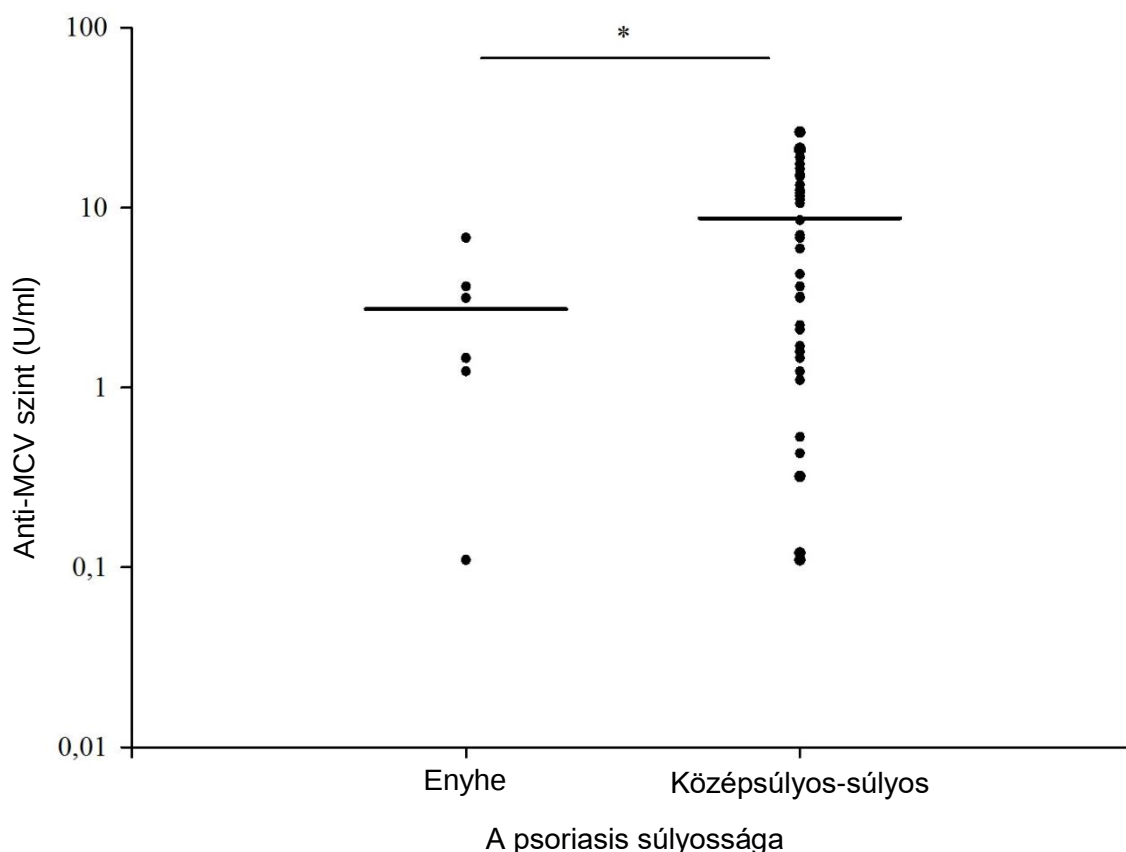
A citrullinált fehérjék/peptidek elleni antitestek (ACPA-k), különösen a mutáns citrullinált vimentin elleni antitest a rheumatoid arthritis új biomarkerei. Mára az ACPA-k detektálása az RA diagnosztikájának specifikus és szenzitív markerévé vált (287, 288). Bár az ACPA-k jelenlétét kiterjedten vizsgálták RA-ban, csak elvétve történtek vizsgálatok arthritis psoriaticában vagy ízületi tünetek nélküli psoriasis vulgarisban. Ezért célul tűztük ki, hogy megvizsgáljuk az anti-MCV antitestek prevalenciáját PsA-ban és PsV-ben. A vizsgálatba 46 PsA és 42 PsV beteget, valamint 40 egészséges önkéntest vontuk be. A PsA csoportban minden betegnek volt a vizsgálat idején vagy azt megelőzően psoriasisos bőrtünete, míg a PsV csoportban egyik betegnek sem volt a vizsgálat idején vagy korábban pikkelysömörös ízületi gyulladása. A szérumban anti-MCV szintet ELISA módszerrel mértük. Az antitest szinteket korreláltattuk a betegek klinikai és egyéb laboratóriumi paramétereivel. A csoportok főbb demográfiai és klinikai jellemzőit a 3. Táblázat foglalja össze.

A PsA betegek szérumban az anti-MCV antitestek átlagos koncentrációja $30,32 \pm 82,14$ U/ml volt, ami szignifikánsan magasabb, mint a csak bőrtünetekkel rendelkező psoriasisos betegek illetve kontrollok szérumban mért $8,71 \pm 7,41$ U/ml illetve $9,50 \pm 4,23$ U/ml átlagérték (32. Ábra). A módszertanilag javasolt 20 U/ml küszöbérték alapján 11 PsA beteg (24%) és 3 PsV beteg (8%) volt anti-MCV antitest pozitív, míg a kontrollok közül mindenki anti-MCV antitest negatív. A PsA csoport értékei statisztikailag szignifikánsan eltértek mind a PsV mind a kontroll csoporttól, ugyanakkor a PsV és kontroll csoportok között nem volt statisztikailag értékelhető különbség.



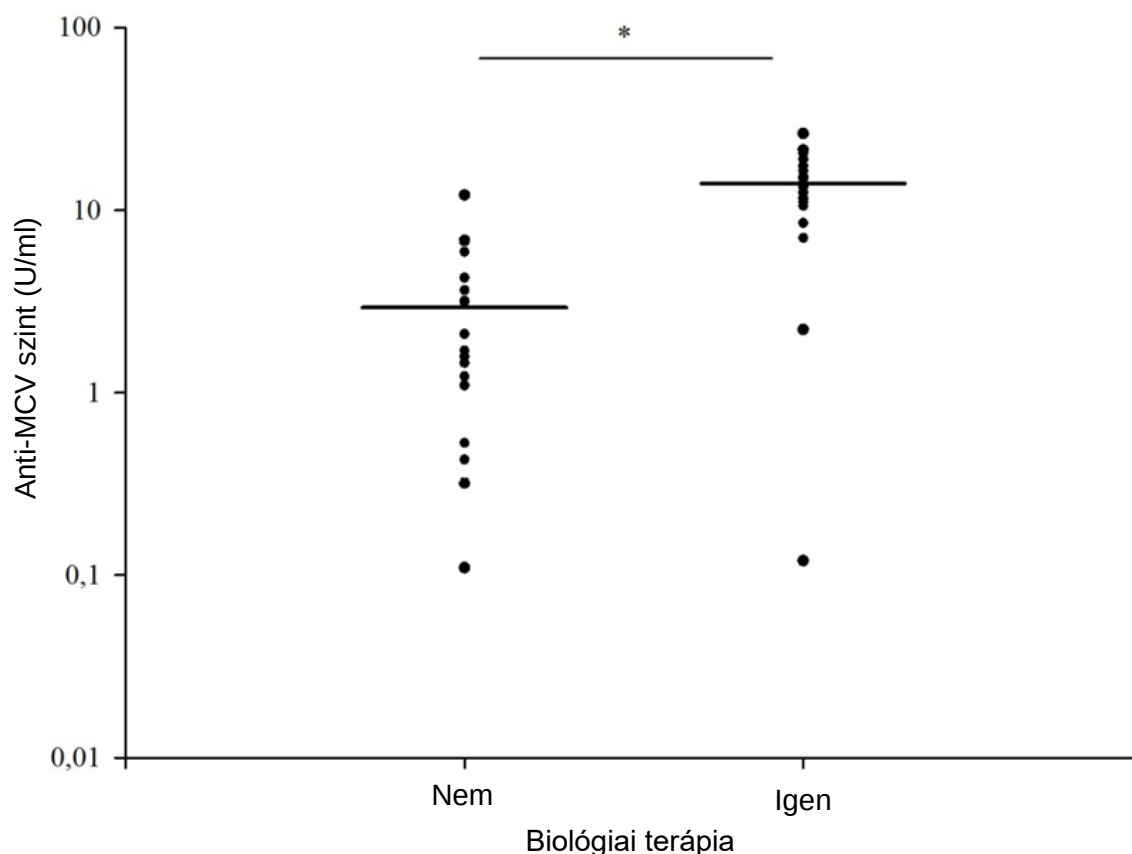
32. Ábra – Anti-MCV szérumszintek arthritiss psoriaticás (PsA), csak bőrtünetekkel rendelkező pikkelysömörös (PsV) betegeken, illetve egészséges önkénteseken (Kontroll). Az egyes pontok az adott személy antitest szintjét mutatják, a vízszintes vonalak az átlagértékeket. Az átlagos antitest szint a PsA csoportban $30,32 \pm 82,14$ U/ml volt, míg a PsV csoportban $8,71 \pm 7,41$ U/ml, illetve a kontroll csoportban $9,50 \pm 4,23$ U/ml. (* $P < 0,05$)

A PsV betegek esetén a magas anti-MCV titer súlyosabb bőrtünetekkel társult. A súlyos (korábban vagy jelenleg szisztémás kezelésben vagy fényterápiában részesülő) betegek anti-MCV szintje $9,73 \pm 7,54$ U/ml volt, szignifikánsan magasabb, mint az enyhe (jelenleg vagy korábban szisztémás vagy fényterápiában nem részesült) betegeké ($2,73 \pm 2,37$ U/ml) (33. Ábra) – bár mindkét csoportban az átlagok a gyártó által ajánlott cut-off érték alatt maradtak.



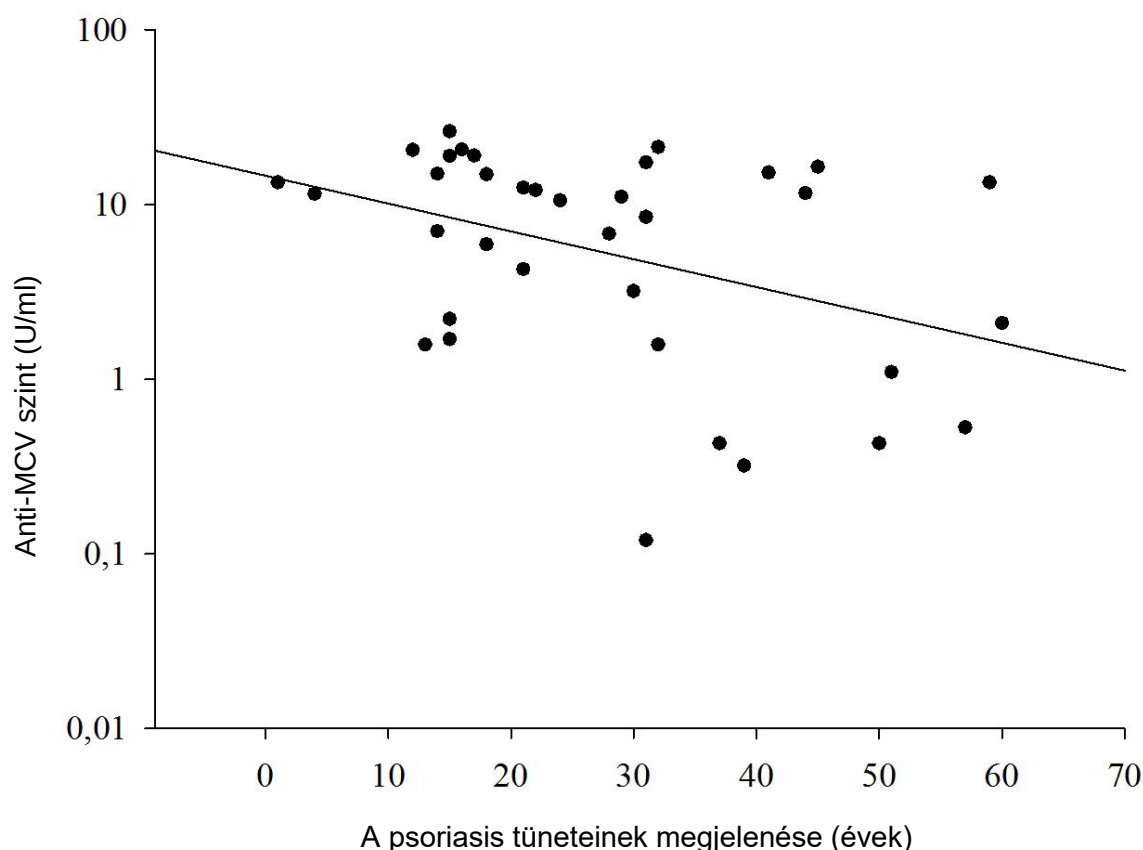
33. Ábra – Az anti-MCV titerek csak bőrtünetekkel rendelkező psoriasisos betegeken. Az egyes pontok az adott személy antitest szintjét mutatják, a vízszintes vonalak a csoportok átlagértékeit. A közép-súlyos-súlyos csoportban az anti-MCV szintek szignifikánsan magasabbak ($9,73 \pm 7,54$ U/ml) voltak, mint az enyhe psoriasisos csoportban ($2,73 \pm 2,37$ U/ml) (* $P < 0,05$).

Továbbá, a közép-súlyos-súlyos PsV csoporton belül a biológiai terápiában részesülő betegek anti-MCV szintjei ($14,01 \pm 6,22$ U/ml) szignifikánsan magasabbak voltak, mint a biológiai terápiában nem részesülő közép-súlyos-súlyos betegek értékei ($3,01 \pm 3,34$ U/ml, $P < 0,01$) (34. Ábra). Ugyanakkor, az anti-MCV szintek nem mutattak összefüggést a psoriasis mintavétel idején meghatározott aktivitásával (PASI és DAS28 értékek). Eredményeink szerint tehát az anti-MCV értékek nem a betegség pillanatnyi aktivitásától, hanem a betegség lefolyásának súlyosságától függnek inkább a csak bőrtünetekkel rendelkező betegek esetében. Hasonló elemzés elvégzésére a PsA csoportban nem volt lehetőség, mert a csoport csaknem valamennyi tagja biológiai kezelésben részesülő súlyos arthritises beteg volt. A PsV csoporthoz hasonlóan a pillanatnyi betegségaktivitás (DAS28) itt sem korrelált az anti-MCV szintekkel ($P = 0,843$).



34. Ábra – Az anti-MCV titerek csak bőrtünetekkel rendelkező közép súlyos-súlyos psoriasisos betegeken. Az egyes pontok az adott személy antitest szintjét mutatják, a vízszintes vonalak a csoportok átlagértékeit. A biológiai terápiával kezelt csoportban az anti-MCV szintek szignifikánsan magasabbak ($14,01 \pm 6,22$) voltak, mint a nem biológiai terápiával kezelt súlyos psoriasisos csoportban ($3,01 \pm 3,34$ U/ml, $*P < 0,01$).

Ismert, hogy a pikkelysömör korai (40 év alatti) és késői (40 év feletti) megjelenési formái mind genetikailag mind klinikailag jól elkülönülnek egymástól (176, 177). Ezért a következő lépésben megvizsgáltuk az anti-MCV szintek és a pikkelysömörös tünetek megjelenésének életkora közötti esetleges korrelációt. Amint az a 35. Ábrán látható, a korai kezdetű psoriasisban az anti-MCV szintek szignifikánsan magasabbak voltak, mint a késői kezdetű psoriasisos betegek esetén. Az arthritis psoriatica csoportban hasonló összefüggést nem észleltünk a betegség kezdetének időpontja és az anti-MCV szintek között.



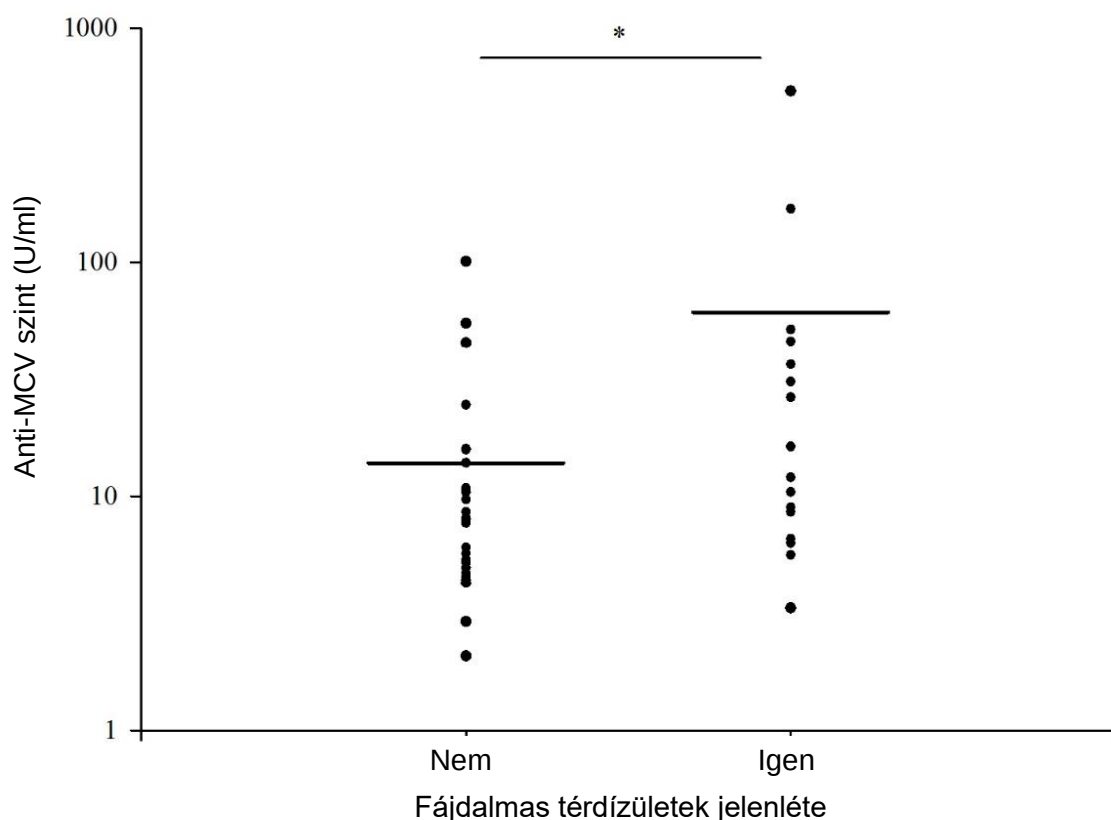
35. Ábra – Az anti-MCV szint fordított arányban áll a csak bőrtünetekkel rendelkező pikkelysömörös betegek esetén a psoriasis megjelenésének idejével. Az egyes pontok az adott személy antitest szintjét mutatják, illetve azt az életkort, amikor az adott személynél a pikkelysömör megjelent. ($P = 0,019$).

A továbbiakban a betegek klinikai és laboratóriumi jellegzetességei illetve az anti-MCV szint közötti esetleges összefüggéseket igyekeztünk feltárni. A PsA betegeket anti-MCV pozitív és anti-MCV negatív csoportokra osztottuk a javasolt cut-off érték (20 U/ml) alapján. A vizsgált paramétereket az 17. Táblázat foglalja össze. A PsV betegek között hasonló elemzést nem tudtunk végezni, az anti-MCV pozitív betegek alacsony száma ($n=3$) miatt. A vizsgált paraméterek közül kettő bizonyult a magas anti-MCV titerrel korrelálónak. A fájdalmas térdízületek jelenléte szignifikánsan gyakoribb volt az anti-MCV pozitív csoportban (63,64% vs. 25,71%, $P = 0,032$). Ha a fájdalmas térdízülettel rendelkező és nem rendelkező csoportokban vizsgáltuk az anti-MCV szintet, előbbiben az átlagos anti-MCV szint szignifikánsan magasabb volt ($61,18 \pm 133,76$ U/ml vs. $13,87 \pm 20,22$ U/ml, $P = 0,013$) (36. Ábra). Nem volt ugyanakkor összefüggés a fájdalmas térdízületek és az életkor illetve a testsúly között. Az anti-MCV pozitivitással összefüggést mutató másik változó a körömtünetek jelenléte volt a PsA csoporton belül. Anti-MCV antitestek a körömtünetekkel is rendelkező betegek esetén 63,6%-ban voltak kimutathatók, szemben a nem körömtünetes betegek 17,1%-val ($P = 0,006$).

17. Táblázat – Klinikai és laboratóriumi értékek összehasonlítása az anti-MCV pozitív és anti-MCV negatív PsA betegek között

	Anti-MCV pozitív	Anti-MCV negatív
Nem (férfi : nő)	3 : 8	21 : 14
Életkor (átlag ± SD; évek)	57,91 ± 9,26	53,23 ± 12,48
Jelenleg dohányzik (%)	9%	23%
Életkor a PsV diagnózisakor (átlag±SD; évek)	44,27 ± 13,73	37,23 ± 14,48
Életkor a PsA diagnózisakor (átlag±SD; évek)	46,55 ± 15,78	44,86 ± 13,34
PsA súlyosság (enyhe : középsúlyos-súlyos)	0 : 11	0 : 35
Psoriasis guttata (%)	9%	3%
Arthritis mutilans	9%	0%
Axiális típus (%)	27%	14%
Distális típus (%)	9%	3%
Aszimmetrikus oligoarthritis (%)	64%	51%
Szimmetrikus polyarthritis (%)	36%	46%
Terápia		
Kapott helyi szteroid kezelést (%)	73%	83%
Kapott sulfasalazint (%)	27%	20%
Kapott szisztémás szteroid kezelést (%)	27%	9%
Kapott 311nm NB-UVB terápiát (%)	18%	3%
Kapott PUVA terápiát (%)	0%	3%
Kapott MTX terápiát (%)	73%	89%
Kapott biológiai terápiát (%)	18%	11%
DIP érintettség (%)	18%	37%
Erózió (%)	18%	26%
ANTI-MCV szint (átlag ± SD; U/ml)	102,41 ± 150,99	7,67 ± 3,77 *
ANA pozitivitás (%) [†]	50%	33%
RF pozitivitás (%) [†]	0%	14%
DAS28 érték (átlag ± SD)	4,49 ± 0,98	4,52 ± 1,02
Psoriasisos bőrtünetek		
Köröm psoriasis (%)	64%	17% *
Hajas fejbőr psoriasis (%)	64%	74%
Arcbőr tünetek (%)	9%	11%
Felső végtag tünetek (%)	55%	63%
Törzs tünetek (%)	36%	29%
Genitális tünetek (%)	9%	17%
Alsó végtag tünetek (%)	55%	60%
Arthritises tünetek		
Nyomásérzékeny ízületek száma (átlag ± SD)	7,27 ± 3,58	10,57 ± 6,29
Hát (%)	36%	51%
Vállak (%)	36%	37%
Könyökök (%)	18%	14%
Csukló (%)	45%	46%
Kezek (%)	45%	74%
Csípő (%)	0%	23%
Térdek (%)	64%	26% *
Láb (%)	73%	57%
Duzzadt ízületek száma (átlag ± SD)	3,45 ± 2,94	2,43 ± 3,27
Duzzadt vállak (%)	0%	0%
Duzzadt könyök (%)	9%	0%
Duzzadt csukló (%)	18%	6%
Hand joints (%)	45%	40%
Duzzadt térd (%)	27%	6%
Talpi ízületek (%)	18%	29%

- Szignifikáns különbségek az anti-MCV pozitív és negatív csoportok között. (P < 0.05).



36. Ábra – Anti-MCV szintek a fájdalmas térdízülettel rendelkező és nem rendelkező betegek csoportjában. Az egyes pontok az adott személy antitest szintjét mutatják, a vízszintes vonalak a csoportok átlagértékeit. A két csoport között szignifikáns különbség igazolódott (fájdalmas térdízület nincs: $13,87 \pm 20,22$ U/ml, fájdalmas térdízület van: $61,18 \pm 133,76$ U/ml, $P < 0,05$).

Megbeszélés

Vizsgálataink szerint a PsA-s betegek anti-MCV szintje szignifikánsan magasabb, mint a PsV-s betegeké vagy az egészséges kontrolloké. Bár az átlagos antitest szint a PsA csoportban egyértelműen emelkedett volt, hozzávetőleg egy nagyságrenddel elmaradt az RA-s betegek esetén korábban publikált több száz U/ml szinttől.(289) Az eredményeinkhez hasonló, mérsékelt emelkedett anti-MCV szinteket írtak le a PsA betegek alcsoportjaiban, illetve Bechterew kórban.(290, 291) Korábbi vizsgálatok szeint az anti-MCV antitestek szintje RA-ban jól korrelál a betegség aktivitásával.(289, 292) Az általunk vizsgált populációban a köröm tünetek és a fájdalmas térd ízületek jelenléte szignifikánsan gyakrabban fordult elő az anti-MCV pozitív PsA betegek között, mint az anti-MCV szeronegatív betegekben (64% vs. 17%). A körömlemez termelését végző köröm mátrix és a DIP ízület extensor inainak szoros mikroanatómiai viszonya miatt,(293) kézenfekvőnek tűnik azt feltételezni, hogy az anti-MCV szintek körömtünetekkel való asszociációja végső soron az entesitis és az anti-MCV szintek összefüggéséből ered. Így, az anti-MCV szint emelkedése a szisztémás entesitis markere

lehet PsA-ban. Ugyanakkor hipotézisünket nem tudtuk közvetlenül is igazolni, mivel a mintavételkor az entesitis értékek nem kerültek rögzítésre.

Az átlagos anti-MCV titer a csak bőrtünetekkel rendelkező psoriasisos betegek csoportjában nem különbözött az egészségesek esetén mért értékektől. Ugyanakkor, amennyiben a PsV csoportot tovább osztottuk a tünetek súlyossága alapján, az anti-MCV titerek szignifikánsan magasabbnak bizonyultak a középsúlyos-súlyos alcsoportban. Ezt támasztotta alá az is, hogy a biológiai terápiában részesülő (azaz a legsúlyosabb tünetekkel rendelkező) betegek anti-MCV szintje szignifikánsan magasabb volt, mint a nem biológiai terápiával kezelt középsúlyos-súlyos betegeké. Bár az átlagos anti-MCV titer a javasolt mérési küszöbértékek alatt volt, ezek az eredmények felvetik a magasabb anti-MCV titer és a súlyosabb betegség lefolyás összefüggésének lehetőségét. Egyelőre nem tisztázott, hogy ennek háttérében esetlegesen finomabb képalkotó módszerekkel észlelhető szubklinikus ízületi érintettség állhat-e. Ugyancsak felmerülhet, hogy ezen betegek esetén a későbbiekben kell-e számolnunk PsA kialakulásának lehetőségével.

A (biológiai) terápia és az ACPA szintek közötti összefüggés tekintetében egyes közlemények RA-ban 6-12 hónapos TNF inhibitor kezelést követően a szérumszintű reumatoid faktor (RF) és anti-CCP szinteket jelentős csökkenéséről számoltak be.(294-296) Egy másik közleményben az anti-MCV szinteket 18-24 hónap TNF gátló terápia után szignifikánsan alacsonyabbnak találták.(297) Több további vizsgálatban sem sikerült azonban az anti-CCP szint lényeges változását igazolni 22, 30 vagy 54 hét infliximab kezelést követően RA-ban.(298-300) Bár ezekből a vizsgálatokból nem vonható le egyértelmű következtetés, az anti-CCP szinteket valószínűleg nem befolyásolja (legalábbis nem növeli) az anti-TNF terápia. A pikkelysömörös betegek szérumában mért alacsony (a gyártó által javasolt küszöbérték alatti) anti-MCV titer értékek esetén feltételezhető, hogy az alkalmazott biológiai terápiák nem befolyásolták ezeket az eredményeket. Ha a terápia hatással lett volna az anti-MCV szintekre, akkor a biológiai terápia során egyre csökkenő titereket kellett volna mérnünk. Véleményünk szerint a TNF inhibitor kezelésben részesülő PsV betegek csoportjában mért magasabb antitest értékek nem közvetlenül a kezeléssel, hanem a kezelést indokló súlyosabb betegséggel indokolhatóak. Ezt támasztja alá az is, hogy az anti-MCV pozitivitás RA-ban súlyosabb betegség lefolyással és rosszabb radiológiai prognózissal társul.(289) Azt az elképzelést, miszerint a súlyosabb betegség psoriasisban is magasabb anti-MCV szintekkel társulna, szintén támogatta az anti-MCV inverz korrelációja a pikkelysömör megjelenésének életkorával. Jól ismert, hogy a korai életkorban fellépő psoriasis általában erőteljesebb genetikai meghatározottsággal bír, súlyosabb lefolyást mutat, és gyakrabban társul PsA-val.(301, 302)

Összefoglalva, az RA biomarkereként elterjedt anti-MCV antitestek eredményeink szerint a pikkelysömörös betegek egyes alcsoportjainak elkülönítésére is alkalmazhatók. A PsA korai,

enyhe formáinak diagnosztizálása jelentős kihívás elé állíthatja a klinikust, így ezekben az esetekben az anti-MCV pozitivitás megerősítheti a PsA klinikai diagnózisát. Továbbá klinikailag manifeszt arthritises tünetek hiányában a magasabb anti-MCV titer psoriasisban súlyosabb betegség lefolyást jelezhet előre.

5.3.4. A gyógyszer ellenes antitestek szerepének vizsgálata a psoriasis TNF gátló kezelésében

A TNF α gátlásán alapuló biológiai terápia napjainkra széles körben elterjedt a pikkelysömör és más immunmediált kórképek kezelésében. Jelenleg három TNF inhibitor (TNFi) érhető el a psoriasis kezelésére. Az infliximab egér-humán kiméra monoklonális IgG1 típusú anti-TNF antitest, míg az adalimumab teljesen humán monoklonális IgG2 típusú anti-TNF antitest. Az etanercept a TNF receptor-2 és humán IgG1 Fc részéből előállított fúziós fehérje.(303) Ismert, hogy a TNF inhibitorok alkalmazása gyógyszer ellenes antitestek (anti-drug antibodies – ADA) kialakulásához, és immunreakciók felléptéhez vezethet.(304) Kimutatták a gyógyszer ellenes antitestek jelenléte és a gyógyszerek csökkent plazma szintje között összefüggés áll fenn, ami részleges vagy teljes hatásvesztést eredményezhet a pikkelysömörös betegek kezelése során.(305, 306) Míg az etanercept ellenes antitesteknek látszólag nincs hatásuk a klinikai hatékonyságra,(307, 308) az infliximab és adalimumab elleni antitestek csökkent klinikai hatásosságot eredményeztek.(306, 309) Bár az ADA-k jelenléte, a plazma TNFi koncentráció és a klinikai hatékonyság között látszólag szoros az összefüggés, korábban nem történt még ezen paraméterek és a plazma TNF α koncentráció egyidejű vizsgálata pikkelysömörös betegeken. Ezért egy keresztmetszeti vizsgálat során megvizsgáltuk a plazma TNF α koncentráció, az adalimumab, infliximab és etanercept ellenes antitest képződés, és a plazma TNFi koncentráció lehetséges összefüggéseit plakkos típusú psoriasis anti-TNF kezelése során.

A vizsgálatba 77 súlyos psoriasisban szenvedő beteget vontunk be, akik a vizsgálat idején az SZTE Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinikán TNF-inhibitor kezelésben részesültek. 22 beteg etanercept, 28 beteg infliximab, 27 beteg adalimumab kezelést kapott. (18. Táblázat)

18. Táblázat – A vizsgálati populáció demográfiai és klinikai jellemzői (átlag±SD)

Kezelési csoport	Etanercept (n=22)	Infliximab (n=28)	Adalimumab (n=27)	Összesen (n=77)
Életkor (év)*	46,6±12,6 (21–73)	51,2±12,7 (26–78)	48±15,7 (23–76)	48,8±13,7 (21–78)
Férfi betegek (n [%])	13 (59,1%)	17 (60,7%)	17 (63%)	46 (61,0%)
Testsúly (kg)*	85,7±24,1 (54–156)	93,7±20,5 (52–143)	88,7±18,8 (54–130)	89,7±21,0 (52–156)
Testtömeg index (BMI)*	27,7±5 (20,2–38,5)	32,4±7,3 (18,4–53,9)	30,1±5,3 (20,8–42,2)	30,2±6,3 (18,4–53,9)
Dohányzó betegek	8 (36,4%)	10 (35,7%)	10 (37%)	28 (36,4%)
Aktuális biológiai terápia időtartama (hónap)*	28,4±18,8 (5–66)	19,9±16,4 (3–63)	17,8±10,4 (3–39)	21,6±15,8 (3–66)
Korábban más biológiai terápiát kapott (n [%])	8 (36,4%)	8 (28,6%)	20 (74,1%)	36 (46,7%)
Korábbi biológiai terápiák (n)	IFX: 3 ADL: 2 EFA: 1 UST: 2	ETA: 2 ADL: 4 EFA: 1 ADL, ETA: 1	ETA: 4 IFX: 10 EFA: 1 ETA, IFX: 3 ETA, EFA: 2	
PASI érték az első biológiai terápia indításakor*	16,6±4,6 (9,6–25,6)	18,4±5,6 (9,3–32,7)	20,8±9,2 (4,1–52,1)	18,7±7,0 (4,1–52,1)
PASI érték a jelenlegi biológiai kezelés indításakor *	14,7±5,7 (1,2–25,6)	17,9±5,5 (9,3–32,7)	15,0±5,0 (5,8–26)	16,0±5,5 (1,2–32,7)
Arthritis psoriatica fennállása (n)	7 (31,8%)	13 (46,4%)	14 (51,9%)	34 (44,2%)
Egyéb immun-szuppresszív kezelés (n)	0 (0%)	8 (28,6%)	1 (3,7%)	9 (11,7%)

IFX=infliximab, ADL=adalimumab, EFA=efalizumab, UST=ustekinumab, ETA=etanercept

A három csoport nem különbözött jelentősen egymástól az alábbi demográfiai és klinikai paraméterekben: átlagos életkor, nemi arány, átlagos testtömeg, átlagos BMI, dohányosok aránya, a jelenlegi biológiai terápia időtartama, átlagos PASI érték az első biológiai terápia indításakor, átlagos PASI érték a jelenlegi biológiai terápia indításakor, illetve arthritis psoriatica fennállása.

A vizsgálat ideje alatti biológiai terápia előtt 30 beteg részesült egy, 6 beteg pedig két megelőző biológiai terápiás kezelésben. Az adalimumab csoport betegei szignifikánsan több megelőző biológiai terápiás kezelést kaptak, mint a betegek a másik két csoportban (adalimumab vs. etanercept, $p<0,05$; adalimumab vs. infliximab, $p<0,01$), ugyanakkor az infliximab és etanercept csoport között ebben a tekintetben nem volt szignifikáns különbség. A 77 beteg közül 9 részesült egyidejű betegség módosító antireumatikus gyógyszer (DMARD) kezelésben (8 methotrexát és 1 leflunomid). Az egyidejű DMARD kezelés az infliximab csoportban gyakoribb volt, mint a két másik csoportban.

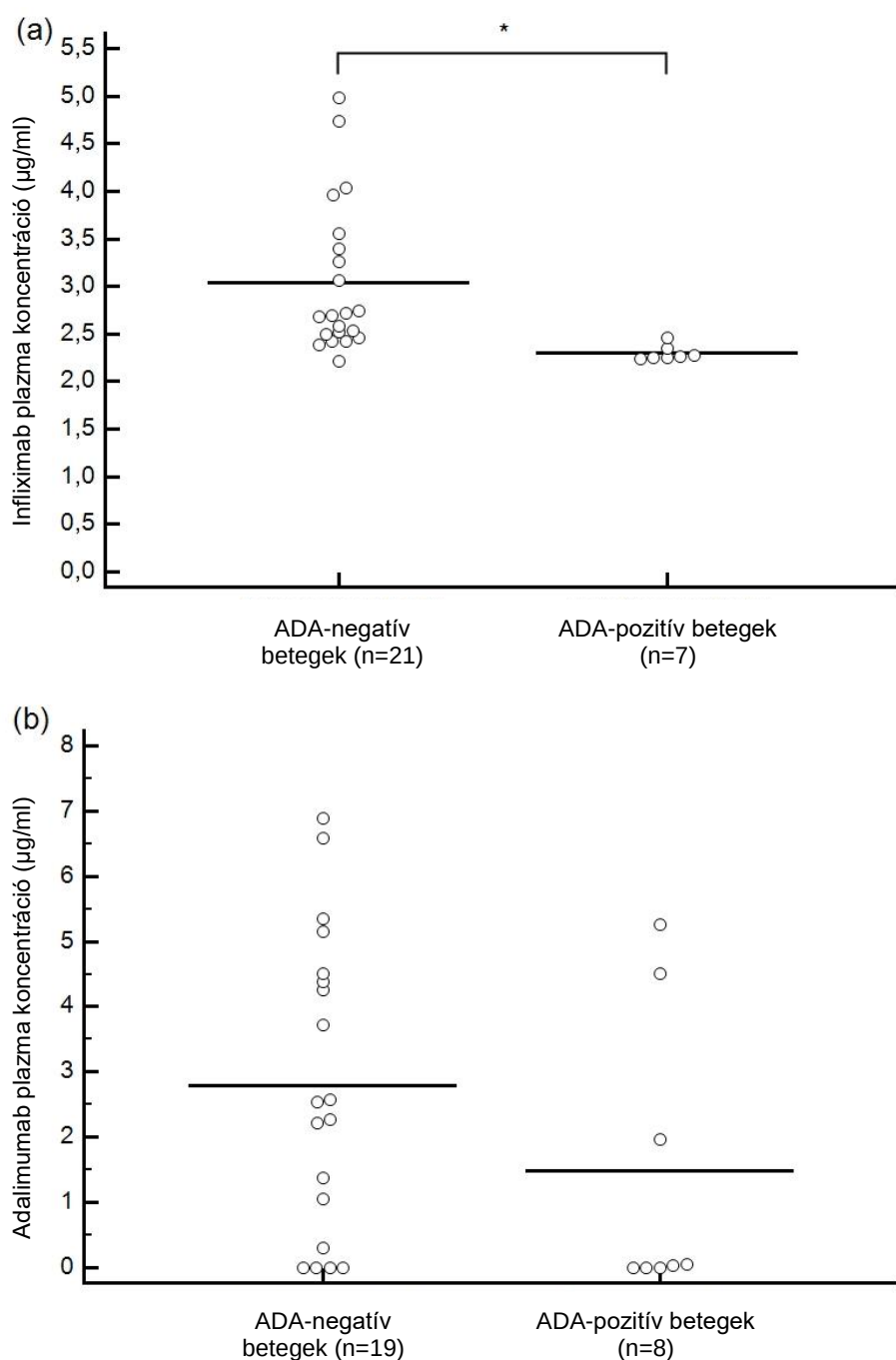
Gyógyszer ellenes antitesteket a 77 betegből 15 esetében (19,5%) detektáltunk: az infliximab csoportban 7, az adalimumab csoportban 8 esetben (19. Táblázat). Az etanercept kezelésben részesülő betegek esetén nem észleltük ADA-k jelenlétét. Érdekes módon az esetek többségében (11/15) az ADA megjelenését az infliximab vagy adalimumab kezelést legfeljebb egy éve kapó betegeken észleltük ($p<0,01$), annak ellenére, hogy a 12 hónapnál rövidebb vagy hosszabb ideje kezelésben részesülő betegek száma hasonló volt ($n=22$ és $n=33$).

19. Táblázat – Kezelési időtartam, átlagos TNF plazma koncentráció, átlagos TNF-inhibitor plazma koncentráció és PASI értékek a mintavétel idején

	Etanercept	Adalimumab		Infliximab	
ADA pozitív/negatív betegek	ADA– (n=22)	ADA– (n=19)	ADA+ (n=8)	ADA– (n=21)	ADA+ (n=7)
12 hónapnál rövidebb ideje TNFi kezelést kapó betegek (n)	4	5	5	6	6
12 hónapnál hosszabb ideje TNFi kezelést kapó betegek (n)	18	14	3	15	1
TNF plazma koncentráció (pg/ml)*	7,0±6,3	1,0±2,0	3,6±6,3	2,5±3,9	13,2±12,9
TNF-inhibitor plazma völgykoncentráció (µg/ml)*	7,6±2,0	2,8±2,3	1,5±2,2	3,0±0,8	2,3±0,1
PASI érték a mintavételkor *	2,5±2,5	2,4±3,5	12,5±8,6	1,6±1,6	9,3±11,2
PASI érték változása a kiindulási értékhez képest (%)*	83,8±13,4	83,9±19,1	34,0±35,0	90,2±11,1	53,1±32,6

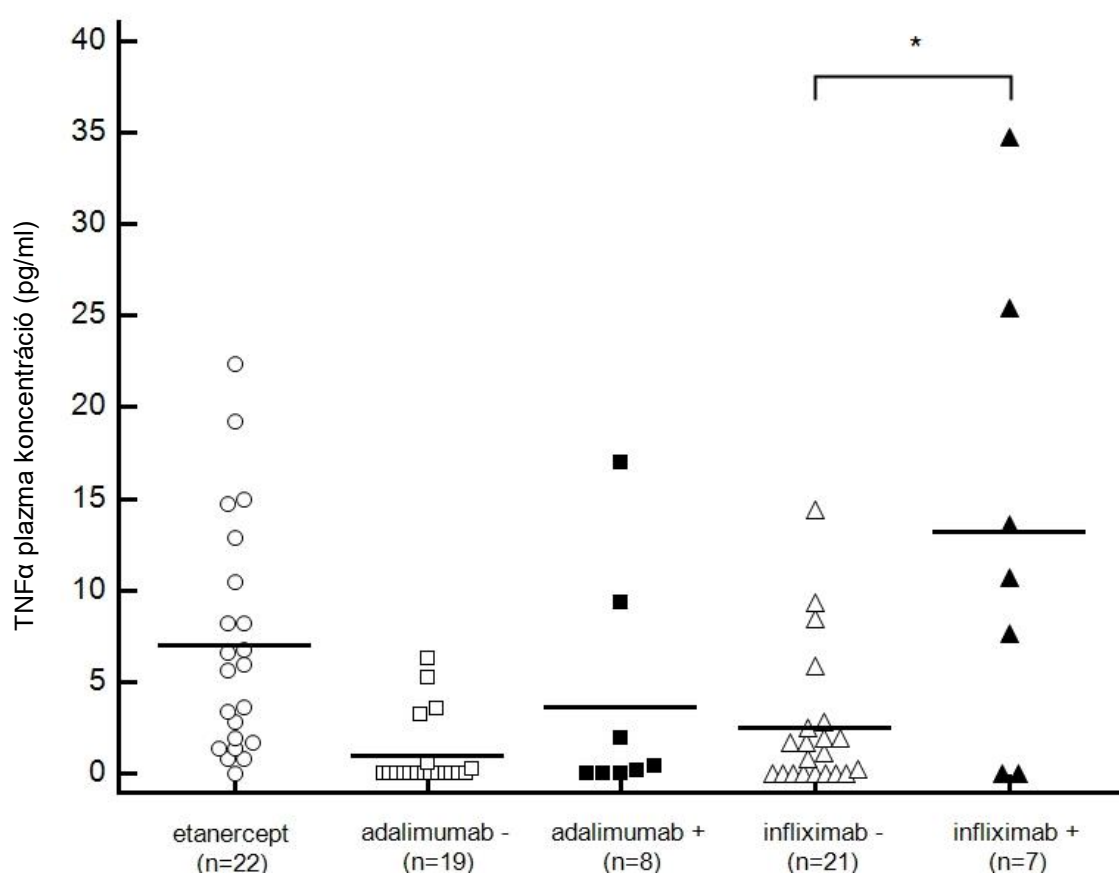
*átlag±SD

A gyógyszerek átlagos völgykoncentrációja (azaz a következő kezelés előtt maradék koncentráció) adalimumab, etanercept és infliximab esetén $2,4\pm2,3$ (0–6,9), $7,6\pm2,0$ (4,1–11,3), és $2,9\pm0,8$ (2,2–5,0) µg/ml volt. Infliximab esetén az átlagos völgykoncentráció az ADA-negatív betegekben szignifikánsan magasabb volt, mint az ADA-pozitív betegekben (ADA-negatív: $3,0\pm0,8$ [2,2–5,0] µg/ml, ADA-pozitív: $2,3\pm0,1$ [2,2–2,5] µg/ml [$p<0,05$]) (37.A Ábra). Az ADA-negatív betegekben az átlagos reziduális adalimumab koncentráció $2,8\pm2,3$ (0–6,9) µg/ml volt, míg az ADA-pozitív betegekben $1,5\pm2,2$ (0–5,3) µg/ml ($p=0.18$) (37.B Ábra). A gyógyszer ellenes antitestek kialakulása tehát mind az infliximab mind az adalimumab esetén alacsonyabb TNF-gátló gyógyszer szinteket eredményezett a vérben a kezelési ciklusok végén.



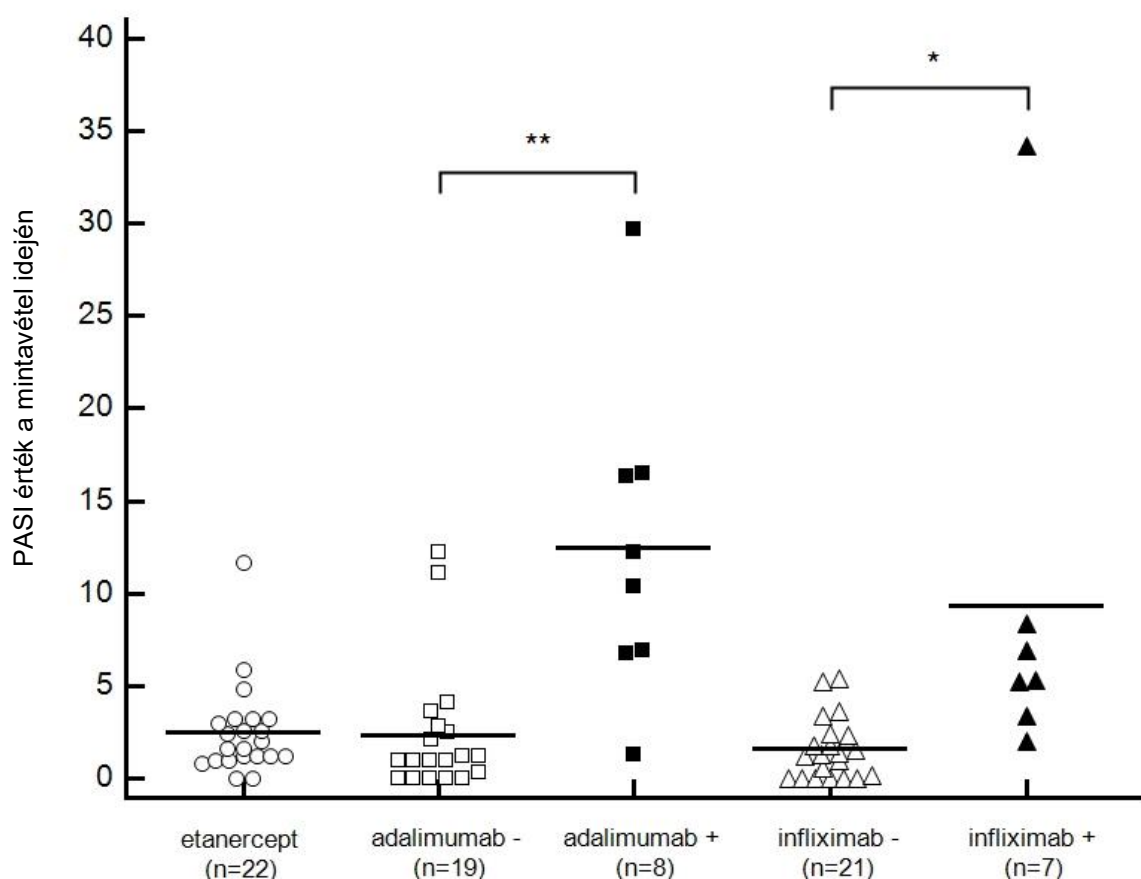
37. Ábra – Átlagos plazma TNF-inhibitor koncentráció az ADA-negatív és ADA-pozitív infliximab (A) és adalimumab (B) terápiában részesülő betegekben. Az átlagos reziduális plazma infliximab koncentráció szignifikánsan alacsonyabb volt az ADA-pozitív betegekben ($2,3 \pm 0,1$ µg/ml), mint az ADA-negatív betegekben ($3,0 \pm 0,8$ µg/ml). Adalimumab esetén az anti-adalimumab negatív betegekben magasabb volt az adalimumab átlagos plazma völgykoncentrációja (ADA-negatív: $2,8 \pm 2,3$, ADA-pozitív: $1,5 \pm 2,2$ µg/ml), azonban a különbség statisztikailag nem volt szignifikáns. * $p < 0,05$

A plazmában mért TNF α koncentráció szignifikánsan alacsonyabb volt az ADA-negatív betegekben mint az ADA-pozitívokban infliximab kezelés során (ADA-negatív: $2,5 \pm 3,9$ [0–14,4] pg/ml, ADA-pozitív: $13,2 \pm 12,9$ [0–34,8] pg/ml; $p < 0,05$). Hasonlóan, az adalimumab csoportban az ADA-negatív betegek TNF α koncentrációja alacsonyabb volt, mint az ADA-pozitív betegeké (ADA-negatív: $1,0 \pm 2,0$ pg/ml, ADA-pozitív: $3,6 \pm 6,3$ pg/ml; $p = 0,16$). Érdekes, hogy bár az etanercept csoportban nem detektáltunk gyógyszer ellenes antitesteket, a betegek vérében mért átlagos TNF α koncentráció ($7,0 \pm 6,3$ pg/ml) szignifikánsan magasabb volt, mint az ADA-negatív infliximab és adalimumab kezelésben részesülő betegek esetén (infliximab: $p < 0,01$; adalimumab: $p < 0,001$). (38. Ábra).



38. Ábra – Plazma TNF α koncentráció a TNF-inhibitor kezelésben részesülő psoriasisos betegekben. Az antitest negatív infliximab kezelt betegek (infliximab -) esetén az átlagos TNF α koncentráció $2,5 \pm 3,9$ (0–14,4) pg/ml volt, míg az antitest pozitív betegekben (infliximab +) $13,2 \pm 12,9$ (0–34,8) pg/ml. Az adalimumab kezelt csoportban az átlagos TNF α koncentráció alacsonyabb volt az ADA-negatív betegekben (adalimumab -), mint az ADA-pozitív betegek (adalimumab +) esetén (ADA-negatív: $1,0 \pm 2,0$ pg/ml, ADA-pozitív: $3,6 \pm 6,3$ pg/ml). * $p < 0,05$.

Bár a kezelés kezdetekor nem volt különbség az ADA-negatív és ADA-pozitív csoportok átlagos PASI értékeiben, a mintagyűjtéskor az infliximabbal kezelt betegek csoportjában az ADA-negatív betegek PASI értékei szignifikánsan alacsonyabbak voltak, mint az ADA-pozitív betegek esetén (ADA-negatív: $1,6 \pm 1,6$, ADA-pozitív: $9,3 \pm 11,2$, $p < 0,05$, az életkorra és nemre történő korrekciót követően). Az adalimumab csoportban az ADA-negatív betegek átlagos PASI értéke ugyancsak szignifikánsan alacsonyabb volt, mint az antitest pozitív betegek PASI értéke (ADA-negatív: $2,4 \pm 3,5$, ADA-pozitív: $12,5 \pm 8,6$, $p < 0,01$, az életkorra és nemre történő korrekciót követően). (39. Ábra)



39. Ábra – A mintavétel idején észlelt PASI értékek a TNF-inhibitor kezelésben részesülő psoriasisos betegekben. Az átlagos PASI érték a mintavétel idején szignifikánsan alacsonyabb volt az ADA-negatív betegekben mind az infliximab mind az adalimumab csoportokban. (infliximab: ADA-negatív: $1,6 \pm 1,6$; ADA-pozitív: $9,3 \pm 11,2$; adalimumab: ADA-negatív: $2,4 \pm 3,5$; ADA-pozitív: $12,5 \pm 8,6$) * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$

Megbeszélés

A biológiai terápiák elleni antitestek általunk detektált gyakorisága (anti-infliximab 25%, anti-adalimumab 28,6%, anti-etanercept 0%) megfelelt a korábban közölt eredményeknek. (305, 306, 309-312) Az ADA-pozitív betegek esetén észlelt klinikai javulás szignifikánsan kisebb volt, mind az ADA-negatív csoportban. Ismert, hogy az ADA-pozitivitás, illetve az alacsonyabb

plazma gyógyszer szint gyengébb klinikai hatékonysággal párosul mind infliximab mind adalimumab esetén.(122, 306, 309, 310, 313) Saját megfigyeléseink, miszerint a TNFi plazma völgykoncentrációk alacsonyabbak az ADA-pozitív csoportban, támogatják ezeket a eredményeket. A biológiai terápiás szer szerkezete az egyik legfontosabb tényező az immunogenitás és az ADA kötődés szempontjából. Bár etanercept esetén mi nem detektáltuk neutralizáló antitestek jelenlétét, nem-neutralizáló antitestek előfordulását korábban leírták.(314) Mivel ezek az antitestek az etanercept fúziós régiójához kötődnek, a TNF-kötő részt szabadon hagyják, így az etanercept funkcióját nem befolyásolják. Ugyanakkor az immunkomplexek képződése a gyógyszer gyorsabb eliminációját okozhatja, alacsonyabb plazma koncentrációt eredményezhet, ami végső soron csökkent klinikai hatásossághoz vezethet.(304, 315)

Bár a psoriasis klinikai aktivitása a három terápiás csoportban csaknem azonos volt, az átlagos TNF plazma koncentrációk jelentősen különböztek. A legalacsonyabb átlagos koncentrációt az adalimumab csoportban mértük, míg a legmagasabbat az etanercepttel kezelték esetén. Egy nemrégiben megjelent közleményben hasonló, paradox eredményről számolnak be, nevezetesen, hogy 12 hetes etanercept kezelést követően a szérum TNF koncentráció megemelkedett.(316) A szerzők szerint a kezelés utáni etanercept szint a keringő TNF-etanercept komplexek és a kezelés előtti szabad TNF szint összegződéséből adódik. Ez a magyarázat kézenfekvőnek tűnik a mi eredményeink magyarázatára is, de a kísérletek során alkalmazott ELISA kitek (a gyártó szerint) csak a szabad TNF-et detektálják (a TNFi-TNF komplexeket nem).

Az átlagos plazma TNF koncentráció szignifikánsan magasabb volt az ADA pozitív infliximabbal és adalimumabbal kezelt betegekben, mint az ADA-negatívokban. A vizsgálat ugyanakkor nem igazolt egyértelmű statisztikai összefüggést a plazma TNF szint és a pikkelysömör TNF-inhibitor kezelés alatti klinikai aktivitása között. Ezt részben a betegcsoportok viszonylag kis létszáma is okozhatta, hiszen a jól reagáló betegeknél általában alacsonyabb TNF szinteket detektáltunk. Az is feltételezhető ugyanakkor, hogy a plazma TNF koncentráció nem áll szükségszerűen közvetlen kapcsolatban a TNF-gátló terápia hatékonyságával. Más tényezők, mint például a léziós bőr TNF koncentrációja, szorosabban korrelálhatnak a klinikai tünetek aktivitásával. Egy közelmúltban megjelent közlemény szerint a TNF-inhibitorok számos gyulladásos tényező aktivitását csökkentik a tünetes bőrben, így gátolják a dendritikus sejtek érését és aktiválódását, a T-sejtek aktiválódását, illetve különböző citokinek, kemokinek és növekedési faktorok termelődését.(317)

A vizsgálati protokoll egyik előnye volt, hogy az ADA-k jelenlétének viszonylag hosszú TNF-inhibitor kezelési periódus (12-264 hét) során tudtuk analizálni. Így szembeötlő volt, hogy az antitest pozitívitas lényegesen gyakoribb a 12 hónapnál kevesebb ideje kezelt betegek között.

Ez alapján felmerül, hogy az ADA kialakulásának valószínűsége lényegesen magasabb a terápia első éve során. Ebből következően a TNFi kezelés első évét követően fellépő hatékonyság-csökkenés/vesztés hátterében pedig feltehetően az ADA-n kívüli egyéb tényezők állhatnak. A hatásvesztés ilyen késői eseteiben tehát egyéb lehetséges okokat (pl. infekció, a kezelési utasítások nem megfelelő követése) is érdemes mérlegelni. Ugyanakkor a vizsgálat felépítéséből adódóan azt sem lehet kizárni, hogy a magas ADA titerrel rendelkező, és ennek következtében hatásvesztést szenvedő betegek kiesése miatt a populációban felül reprezentáltak lesznek az alacsony antitest szintű és kezelésre jól reagáló betegek.

Összefoglalva, vizsgálataink szerint psoriasisban infliximab és adalimumab kezelés során a gyógyszer ellenes antitestek kialakulása közvetlenül összefügg a csökkent plazma TNF-inhibitor koncentrációval és a fokozott plazma TNF szinttel. A magasabb plazma TNF koncentráció pedig a pikkelysömörös klinikai tünetek rosszabbodását eredményezheti. Bár jelenleg nem egyértelmű, hogy a TNFi kezelés alatt a vérben mért TNF koncentráció a betegség klinikai aktivitásának indikátora lehet-e, egyre több adat igazolja, hogy a plazma TNFi és ADA koncentráció mérése a klinikai gyakorlatban is segítheti a terápiás döntéseket TNF-gátló kezelés során.

5.3.5. A methotrexát kezelés klinikai gyakorlatának felmérése psoriasisban

A methotrexát hatékony, gyakran alkalmazott kezelési mód középsúlyos-súlyos psoriasisban.(318, 319) Bár már több mint 50 éve alkalmazzák a pikkelysömör kezelésében, az MTX használata nem egységes a klinikai gyakorlatban. Ez elsődlegesen annak tulajdonítható, hogy a gyógyszer kifejlesztésekor nem végeztek randomizált klinikai vizsgálatokat, és a szer használatára vonatkozó egységes ajánlások is hiányoztak. Ez számos dozírozási, adagolási, biztonsági monitorizálási és folsav alkalmazási protokoll kialakulásához vezetett.(320, 321) Legújabbban a kisszámú randomizált klinikai vizsgálatból összegyűlt adatok pontosabb klinikai ajánlások kidolgozását tették lehetővé.(322, 323) Nem ismert ugyanakkor, hogy ezek az ajánlások hogyan jelennek meg a napi bőrgyógyászati gyakorlatban. Bár kézenfekvőnek tűnik, hogy a bőrgyógyászok közötti különbségek (pl. életkor, nem, tapasztalat) hozzájárulhatnak a különböző kezelési gyakorlatok kialakulásához, a methotrexát pikkelysömörben történő alkalmazása esetén ezt még tudományos alapossággal nem vizsgálták. Ugyan léteznek sporadikus leírások a methotrexát különböző földrajzi régiókban történő eltérő alkalmazásáról,(324) eddig tudományos vizsgálat ezeket a különbségeket nem támasztotta alá. Ezért érdemesnek tartottuk megvizsgálni azt, hogy a bőrgyógyászok milyen módon alkalmazzák a napi gyakorlatuk során a pikkelysömör kezelésében a methotrexátot. A vizsgálatot internet alapú, 41 kérdést tartalmazó kérdőíves felméréssel valósítottuk meg.(325) A kérdőív az alábbi, a bőrgyógyászra vonatkozó

demográfiai adatokat mérte fel: életkor, a pikkelysömör kezelésében való jártasság szintje, munkahely jellege (kórházi/járóbeteg, közfinanszírozott/magán). A methotrexát kezelésre vonatkozó kérdések a következő témákat érintették: a kezelést megelőző vizsgálatok, biztonságossági vizsgálatok a kezelés során, a gyógyszer alkalmazási módja, a gyógyszer kezdő és fenntartó dózisa, kiegészítő folsav kezelés, a hatékonyság felmérése, kombinációs terápiák alkalmazása.

2012 április 2-a és augusztus 7-e között 63 ország 481 bőrgyógyásza töltötte ki a kérdőívet. A kitöltés az esetek többségében teljes volt, az egyes kérdésekre adott válaszok aránya meghaladta a 98%-ot. (20. Táblázat) A legtöbben Európából és Dél-Amerikából töltötték ki a kérdőívet (n=183 és n=109). A többi régióból megközelítően azonos számban válaszoltak (Afrika n=37, Közel Kelet n=34, Ázsia n= 54, Észak-Amerika n=37, Közép- Amerika n=24). A három legaktívabb ország Argentína (n=38), Spanyolország (n=38) és Franciaország (n=34) voltak (további válaszadók számát lásd 20. Táblázat). Mivel Ausztráliából és Új-Zélandról csak 1-1 bőrgyógyász töltötte ki a kérdőívet, ezen országok nem szerepeltek a földrajzi régiókon alapuló elemzésekben. A férfi és női kitöltők száma gyakorlatilag megegyezett (240 és 241), a válaszadók többsége középkorú, tapasztalt bőrgyógyász volt (az átlagéletkor 48,3 év volt, és 86% több mint 5, 68% több mint 10 éves tapasztalattal rendelkezett). A férfi válaszadók valamivel idősebbek voltak. A legtöbb bőrgyógyász hetente 20-nál kevesebb pikkelysömörös beteget kezelt.

20. Táblázat – A kérdőívet kitöltő bőrgyógyászok demográfiai, szakmai tapasztalat, illetve földrajzi helyzet szerinti jellemzői

Jellemző	n (%)
Nem	
Nő	240 (49.9)
Férfi	241 (50.1)
Életkor	
Teljes átlag (SD)	48.3 (10.7)
27-40 éves	134 (27.8)
41-55 éves	207 (43.0)
56-80 éves	137 (28.5)
Nincs adat	3 (0.7)
Tapasztalati évek száma a psoriasis kezelésében	
Maximum 5 év	68 (14.1)
6-10 év	85 (17.7)
Több, mint 10 év	326 (67.8)
Nincs adat	2 (0.4)
Hetente átlagosan kezelt psoriasisos betegek száma	
0-5	120 (24.9)
6-10	133 (27.6)
11-20	117 (24.3)
21-50	86 (17.9)
> 50	25 (5.2)
Hol dolgozik	
Afrika	37 (7.7)
Közel Kelet	34 (7.1)
Európa	183 (38.0)
Ázsia	54 (11.1)
Észak Amerika	37 (7.7)
Közép Amerika	24 (5.0)
Dél Amerika	109 (22.7)
Nincs adat	3 (0.7)
Válaszadók száma országonként (legalább 5 válaszadó)	
Algéria	10
Argentína	38
Brazília	13
Kanada	27
Chile	11
Kolumbia	16
Costa Rica	11
Egyiptom	16
Franciaország	34
Grúzia	12
Honduras	7
Magyarország	17
India	20
Irán	8
Izrael	9
Olaszország	9
Dél Korea	5
Libanon	6
Mexikó	11
Palesztína	5
Peru	9
Portugália	5
Saud Arábia	5
Szlovénia	7
Spanyolország	38
Taiwan	17
Tunézia	5
Törökország	9
Ukrajna	5
Egyesült Királyság	24
Amerikai Egyesült Államok	10
Venezuela	6

Methotrexát dózis és alkalmazás

A leggyakoribb kezdődózis hetente 7,5 mg volt ($n=131$, 27%), míg a második és harmadik leggyakoribb a 15 mg és az 5 mg voltak ($n=100$, 21% és $n=94$, 20%). A bőrgyógyászok kétharmada heti 10 mg vagy annál kisebb dózist javasolt kezdő dózisként ($n=324$, 67,4%). Az átlagos kezdő dózis $9,7 \pm 5,1$ mg volt (21. Táblázat). A második, harmadik és negyedik vizit során a 15 mg/hét volt a leggyakrabban javasolt dózis ($n=152$, 31,6%, $n=174$, 36,2% és $n=191$, 39,7%). Ugyanakkor a válaszadók több mint harmada ($n=188$, 39,1%) a 4. héten 10 mg maximális dózist javasol. A válaszadók mintegy egyötöde ($n=102$, 21,2%) alkalmaz úgynevezett teszt dózist a kezelés kezdetekor. A leggyakoribb fenntartó MTX dózis ($12,3 \pm 4,5$ mg/hét) gyakorlatilag megegyezett a negyedik heti dózissal, és a bőrgyógyászok jelentős része ($n=204$, 42,4%) javasolt 10 mg-os vagy annál kisebb dózisokat fenntartó terápiaként. Az átlagos maximális heti dózis $22,1 \pm 5,3$ mg volt. A válaszadók jelentős része ($n=103$, 21,5%) igen óvatos megközelítést alkalmazott, az általuk ajánlott legmagasabb dózis ugyanis nem haladta meg a heti 15 mg-ot. A maximális kumulatív dózisok tekintetében fontos megjegyezni, hogy a válaszadó bőrgyógyászok jelentős része ($n=187$, 38,9%) nem tartja fontosnak a terápia folytatásának eldöntésekor a maximális kumulatív dózist. Azok között, akik számszerűsített maximális kumulatív dózist adtak meg, a válaszok azonos arányban oszlottak meg az 1,5 g ($n=86$, 29,5%), a 2,0 g ($n=82$, 28,1%) és a 3,0 g ($n=87$, 29,8%) között, míg 5 g-os maximális kumulatív dózist kevesebb bőrgyógyász javasolt ($n=34$, 11,6%). Az átlagos ajánlott maximális kumulatív dózis $2,5 \pm 1,1$ mg volt.

A női bőrgyógyászok kissé konzervatívabbak voltak a kezdő dózisok tekintetében, ugyanis szignifikánsan alacsonyabb dózisokat javasoltak, mint a férfiak: $9,1 \pm 5,1$ mg vs. $10,3 \pm 5,0$ mg az első héten és $12,4 \pm 4,5$ mg vs. $13,4 \pm 4,6$ mg a 4. héten (21. Táblázat). A fenntartó dózisok tekintetében ugyanakkor nem volt különbség a női és a férfi bőrgyógyászok között. Bár a női bőrgyógyászok általában alacsonyabb maximális methotrexát dózisokat alkalmaznak (nők: $21,4 \pm 5,4$ mg/hét, férfiak: $22,8 \pm 5,2$ mg/hét), nem volt különbség az ajánlott kumulatív dózisok tekintetében a női és a férfi bőrgyógyászok között. A bőrgyógyász kora és tapasztalata nem befolyásolta a javasolt kezdő és fenntartó methotrexát dózisokat (21. Táblázat).

Érdekes módon a methotrexát dozírozási szokásai jelentősen eltértek a különböző földrajzi régiókban. A kezdő MTX dózis szignifikánsan magasabb volt az afrikai országokban ($13,4 \pm 5,2$ mg/hét), mint más régiókban. A közel keleti, észak amerikai, ázsiai és európai bőrgyógyászok viszonylag alacsony kezdő dózisokat javasoltak (8-9 mg/hét), míg a közép és dél amerikai kezdő dózisok valamivel magasabbak voltak (10-11 mg/hét). A 4. héten még mindig az afrikai bőrgyógyászok alkalmazzák a legmagasabb heti dózisokat ($15,3 \pm 5,3$ mg/hét), míg az ázsiai bőrgyógyászok a legalacsonyabbakat ($11,3 \pm 4,2$ mg/hét). A fenntartó időszak során viszont jelentősen változnak a kezelési mintázatok, ugyanis a legmagasabb fenntartó ($14,7 \pm 3,4$

mg/hét) és maximális dózisokat ($24,1 \pm 5,1$ mg/hét) már az észak amerikai bőrgyógyászok alkalmazzák. Az átlagos fenntartó és maximális heti dózisok Ázsiában ($9,3 \pm 4,1$ mg és $18,2 \pm 5,8$ mg) szignifikánsan alacsonyabbak, mint bármely másik régióban, Közép Amerika kivételével. A kumulatív dózis, mivel a heti fenntartó dózis határozza meg, a legmagasabbnak és legalacsonyabbnak azokban az országokban adódott (Észak Amerika $3,0 \pm 1,1$ g, Ázsia $1,9 \pm 0,7$ g), ahol a legmagasabb vagy legalacsonyabb fenntartó dózisokat alkalmazzák. Ugyanakkor némileg meglepő, hogy a második legalacsonyabb átlagos kumulatív dózist az afrikai bőrgyógyászok jelentették ($2,0 \pm 0,6$ g). Ez arra utalhat, hogy a magas kezdő dózisok mellett az afrikai bőrgyógyászok rövidebb ideig alkalmazzák a methotrexátot, mint más régiók szakorvosai.

21. Táblázat - Javasolt methotrexát és folsav dózisok összefüggése a bőrgyógyász nemével, életkorával, klinikai tapasztalatával, lakhelyével, és methotrexát dózisemelési gyakorlatával.

	1. hét	4. hét	Fenntartó	Maximum	Kumulatív MTX dózis (g)	Folsav heti dózis (mg)
	heti MTX dózis (mg)					
Összesen	9,7±5,1	12,9±4,6	12,3±4,5	22,1±5,3	2,5±1,1	16,8±11,7
Nem						
Nő	9,1±5,1	12,4±4,5	12,2±4,5	21,4±5,4	2,5±1,1	16,8±11,7
Férfi	10,3±5,0 [†]	13,4±4,6 [†]	12,4±4,6	22,8±5,2 [†]	2,5±1,1	16,9±11,7
Életkor						
28-40 éves	9,2±4,6	12,5±4,6	12,2±4,8	21,5±5,3 [†]	2,3±0,9 [†]	17,6±11,7
41-55 éves	10,0±4,8	13,0±4,4	12,5±4,5	21,9±4,8 [†]	2,5±1,1	17,0±11,3
56-80 éves	9,9±5,9	13,3±4,7	12,2±4,3	23,2±5,9	2,7±1,2	16,0±12,2
Tapasztalat						
<5 év	9,3±4,7	12,1±4,2	11,4±4,7	21,0±5,1	2,4±1,1	18,7±12,9
6-10 év	9,8±4,7	12,6±4,9	12,4±5,0	21,6±5,4	2,4±1,1	18,8±11,5
>10 év	9,8±5,2	13,2±4,5	12,5±4,4	22,5±5,3 [†]	2,6±1,1	16,0±11,4 [†]
Lakhely						
Afrika	13,4±5,2 [‡]	15,3±5,3 [‡]	12,8±5,2 [§]	23,6±4,2 [§]	2,0±0,6	22,2±9,9 [‡]
Közel Kelet	8,2±4,7 ^{§,‡}	13,4±4,3 [‡]	12,4±4,6 ^{§,‡}	22,4±4,1 [§]	2,8±1,3 ^{§,‡}	19,1±11,8
Európa	9,0±5,1 ^{§,‡}	12,8±4,2 ^{§,‡}	13,1±4,0 ^{§,‡}	22,8±4,1 [§]	2,7±1,2 ^{§,‡}	14,8±11,4 [§]
Ázsia	8,6±4,6 ^{§,‡}	11,3±4,2 [§]	9,3±4,1 [‡]	18,2±5,8 [‡]	1,9±0,7	20,9±11,7 [‡]
Észak Amerika	8,5±4,7 ^{§,‡}	12,9±3,6 [§]	14,7±3,4 [§]	24,1±5,1 [§]	3,0±1,1 ^{§,‡}	16,1±11,8 [§]
Közép Amerika	10,5±5,2 [§]	11,8±6,4 [§]	10,5±5,5 [‡]	20,6±6,0 [‡]	2,4±1,2	21,6±13,0 [‡]
Dél Amerika	10,9±4,7 [§]	13,2±4,7 ^{§,‡}	11,9±4,5 ^{§,‡}	21,8±6,4 ^{§,‡}	2,5±1,0 ^{§,‡}	15,2±11,1 [§]
Dózis emelési gyakorlat						
Soha vagy ritkán (n=156)	11,5±5,8	14,2±5,2	12,1±5,3	20,7±5,6	2,4±1,1	17,3±11,4
Néha (n=128)	9,4±4,6 [†]	12,8±4,2 [†]	12,1±4,4	22,1±5,0 [†]	2,6±1,2	16,9±11,6
Gyakran vagy mindig (n=197)	8,5±4,3 [†]	12,0±3,9 [†]	12,7±3,9	23,2±5,1 [†]	2,6±1,0	16,4±12,0

Ezt követően megvizsgáltuk, hogy van-e összefüggés az alkalmazott methotrexát dózisok mértéke és nem kielégítő eredmény esetén a dózisemelési hajlandóság között. Bár a

bőrgyógyászok egy része (n=197, 41,0%) mindig vagy gyakran emeli a dózist nem megfelelő terápiás eredmény esetén, másik részük (n=156, 32,4%) soha vagy csak ritkán végez hasonló változtatást. Érdekes, hogy azok, akik az utóbbi csoportba tartoznak, szignifikánsan magasabb első és negyedik heti methotrexát dózisokat alkalmaznak, mint azok, akik gyakran emelnek dózist. Ugyanakkor, bár az alkalmazott fenntartó és kumulatív dózisok tekintetében nem volt különbség a két csoport között, a maximális dózisok szignifikánsan alacsonyabbak voltak azok esetén, akik nem hajlamosak a dózisemelésre (21. Táblázat).

A methotrexát bejuttatásának módja

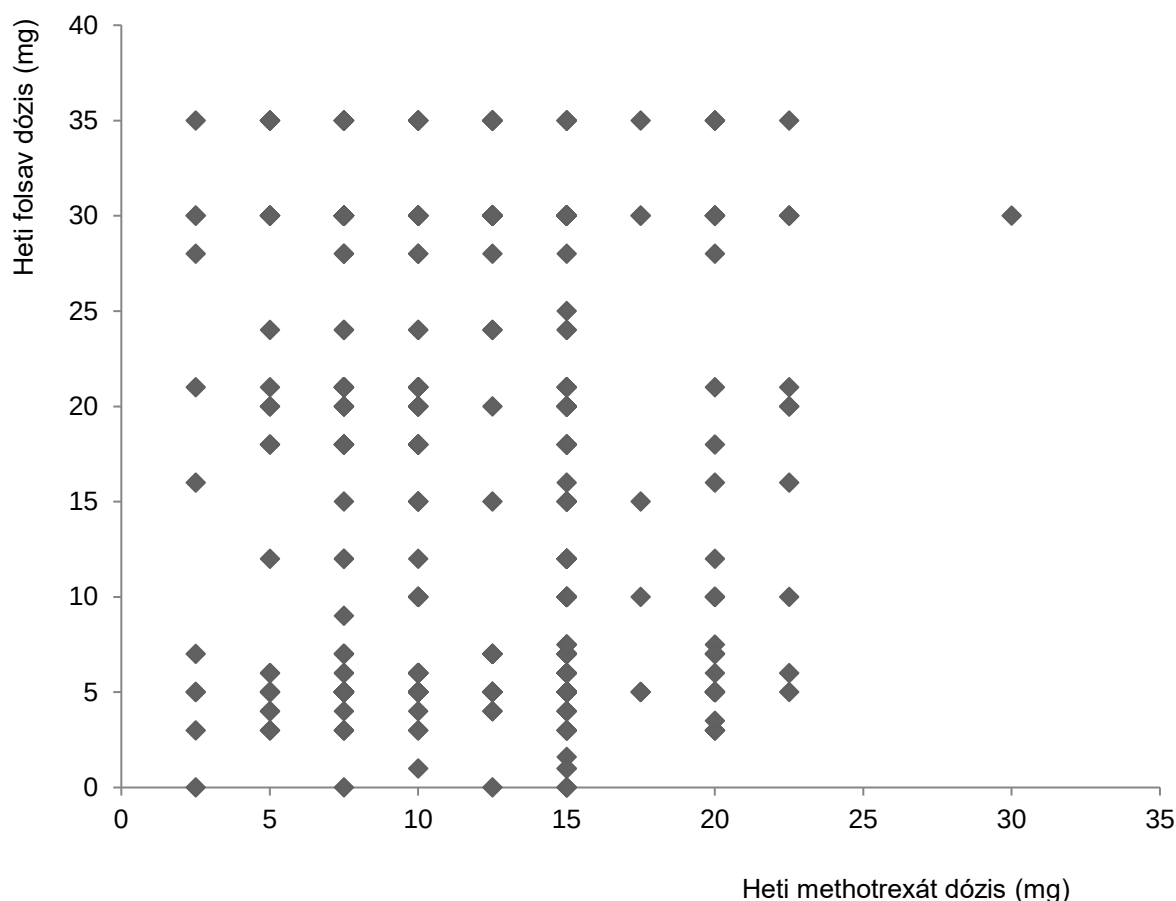
A válaszadó bőrgyógyászok többsége (n=423, 87,9%) elsősorban orálisan alkalmazható methotrexátot javasol (22. Táblázat), az intramusculáris és subcutan alkalmazást csak néhány bőrgyógyász választja elsődleges beviteli módnak. Míg az alkalmazási mód nem függ a felíró bőrgyógyász nemétől, a földrajzi régió erősen meghatározó ebben a tekintetben. Az afrikai bőrgyógyászok több mint egy harmada elsődlegesen intramuscularis methotrexátot alkalmaz, míg a subcutan formát kizárólag Európában használják. Nem kielégítő hatásosság vagy gastrointestinalis mellékhatások esetén a válaszadók csak kis része vált orálisról subcutan alkalmazásra, a többség nem vagy csak ritkán.

22. Táblázat – A methotrexát elsődleges alkalmazási módja régióként

	Orális	Intramuszkuláris	Szubkután
Összes beteg (n=481)	423 (87,9%)	35 (7,3%)	21 (4,4%)
Az orvos neme			
Nő (n=240)	216 (90,0%)	14 (5,8%)	10 (4,2%)
Férfi (n=241)	209 (86,7%)	21 (8,7%)	11 (4,6%)
Régió			
Afrika (n=37)	24 (64,9%)	13 (35,1%)	0 (0,0%)
Közel Kelet (n=34)	28 (82,4%)	6 (17,6%)	0 (0,0%)
Európa (n=184)	157 (85,8%)	9 (4,9%)	18 (9,8%)
Ázsia (n=54)	52 (96,3%)	2 (3,7%)	0 (0,0%)
Észak Amerika (n=37)	37 (100,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Közép Amerika (n=24)	23 (95,8%)	1 (4,2%)	0 (0,0%)
Dél Amerika (n=109)	102 (93,6%)	4 (3,7%)	3 (2,8%)

Folsav szupplementáció

A válaszadó bőrgyógyászok többsége ($n=392$, 81,5%) javasol folsav szupplementációt methotrexát kezelés során. A leggyakrabban alkalmazott 2 dózis a heti 30 mg ($n=97$, 24,7%) és a heti 5 mg ($n=84$, 21,4%) voltak. A válaszadók által átlagosan javasolt heti folsav dózis $16,8 \pm 11,7$ mg volt, amit nem befolyásolt jelentősen a felíró neme, életkora, és a methotrexát kezelés dózisemelési gyakorlata (21. Táblázat). A 10 évnél kevesebb tapasztalattal rendelkező kollégák ugyanakkor gyakrabban javasoltak magasabb folsav dózisokat, mint a tapasztaltabb bőrgyógyászok. A kiegészítő folsavkezelés dózisa továbbá jelentősen különbözött földrajzi régióként is, például az afrikai bőrgyógyászok mintegy 50%-kal magasabb folsav dózist javasoltak, mint európai kollégáik ($22,2 \pm 9,9$ mg vs. $14,8 \pm 11,4$ mg). A folsav dózisa ugyanakkor nem függött a fenntartó methotrexát dózistól (40. Ábra).



40. Ábra – A válaszadók ($n=481$) által javasolt heti folsav és methotrexát fenntartó dózisok. A pontok a válaszadókat jelölik (azonos válasz esetén egy pont több válaszadót is jelezhet). Nincs statisztikailag igazolható összefüggés a javasolt methotrexát és folsav dózisok között.

Kezelés előtti és alatti biztonságossági vizsgálatok

Teljes vérképet és májfunkciós vizsgálatokat csaknem valamennyi válaszadó javasol a methotrexát kezelés beállítása előtt, míg némileg kisebb számú, de jelentős része a bőrgyógyászoknak vesefunkciós vizsgálatokat is kér (23. Táblázat). Hepatitis B és C szerológiai vizsgálatot a válaszadók mintegy kétharmada végeztet. Tuberculosis szűrés céljából csaknem a bőrgyógyászok fele javasol mellkas röntgen vizsgálatot (n=214, 44,5%), Mantoux vizsgálatot és gamma interferon felszabaduláson alapuló teszteket (IGRA) azonban csak kevesen alkalmaznak (Mantoux: n=94, 19,5%; IGRA: n=34, 7,1%). Humán immundeficiencia vírus (HIV) szűrést és albumin szint meghatározást viszont a válaszadók csaknem fele (HIV: n=213, 44,3%, albumin: n=205, 42,6%), szükségesnek tart. Májcirrhosis kimutatására ugyancsak nagyon kisszámú bőrgyógyász javasol prokollagén vizsgálatot vagy tranziens elasztográfiát (n=56, 11,6%; n=19, 4,0%) a kezelést megelőzően. A kezelés alatt továbbra is sokan kérnek vérkép, májfunkciós és vesefunkciós vizsgálatokat, ugyanakkor csak kevesen hepatitis, HIV, mellkas röntgen, Mantoux, IGRA, vagy antinukleáris antitest (ANA) teszteket (23. Táblázat).

23. Táblázat – A válaszadók által javasolt, methotrexát kezelés előtti és alatti biztonságossági vizsgálatok gyakorisága

	Kezelés előtt	1. hónap	2.-3. hónap	3 hónap után
Vérkép	474 (98,5%)	473 (98,3%)	467 (97,1%)	467 (97,1%)
Májfunkciós vizsgálat	475 (98,8%)	460 (95,6%)	472 (98,1%)	471 (97,9%)
Vesefunkciós vizsgálat	417 (86,7%)	314 (65,%)	325 (67,6%)	342 (71,1%)
Hepatitis B szerológia	314 (65,3%)	20 (4,2%)	11 (2,3%)	10 (2,1%)
Hepatitis C szerológia	303 (63,0%)	18 (3,7%)	10 (2,1%)	11 (2,3%)
Albumin szint	205 (42,6%)	129 (26,8%)	136 (28,3%)	147 (30,6%)
Prothrombin szint	77 (16,0%)	68 (14,1%)	65 (13,5%)	73 (15,2%)
HIV szerológia	213 (44,3%)	13 (2,7%)	5 (1,0%)	5 (1,0%)
Mellkas röntgen	214 (44,5%)	25 (5,2%)	27 (5,6%)	28 (5,8%)
Mantoux vizsgálat	94 (19,5%)	6 (1,2%)	5 (1,0%)	7 (1,5%)
Quantiferon vizsgálat	34 (7,1%)	2 (0,4%)	5 (1,0%)	4 (0,8%)
ANA vizsgálat	43 (8,9%)	9 (1,9%)	7 (1,5%)	7 (1,5%)
Prokollagén vizsgálat	56 (11,6%)	8 (1,7%)	20 (4,2%)	44 (9,1%)
Tranziens elasztográfia	19 (4,0%)	3 (0,6%)	4 (0,8%)	6 (1,2%)

A vérkép, máj- és vesefunkciós vizsgálatokat valamennyi földrajzi régióban hasonló gyakorisággal javasolták a kezelés beállítása előtt (24. Táblázat). A hepatitisz szerológiai vizsgálatok csak Európában képezik a rutin kivizsgálás részét – itt a bőrgyógyászok kétharmada kéri ezeket a vizsgálatokat, míg Közép Amerikában csak fele annyian. Érdekes módon a HIV, mellkas röntgen és Mantoux vizsgálatokat leggyakrabban a dél amerikai bőrgyógyászok javasolták, míg az IGRA, prokollagén és tranziens elasztográfia tesztek Európában a legelterjedtebbek. Némileg ugyancsak meglepő, hogy az ANA, prokollagén és tranziens elasztográfia Észak Amerikában nem gyakran ajánlott vizsgálat.

A májkárosodás hosszú távú ellenőrzésére a prokollagén és tranziens elasztográfia vizsgálatok az európai bőrgyógyászok körében voltak a legnépszerűbbek. Érdekes, hogy Észak Amerikában és a Közel Keleten a bőrgyógyászok jelentős hányada javasol továbbra is májbiopsziát, míg Európában ez nem az általános gyakorlat.

24. Táblázat - A bőrgyógyászok által a methotrexát kezelés előtt, alatt és a hosszú távú hepatotoxicitás szűrésére javasolt biztonságossági vizsgálatok gyakorisága a különböző földrajzi régiókban

	Afrika	Közel Kelet	Európa	Ázsia	Észak Amerika	Közép Amerika	Dél Amerika
Kezelés előtti vizsgálatok							
Vérkép	36 (97,3%)	33 (97,1%)	180 (98,4%)	54 (100,0%)	37 (100,0%)	24 (100,0%)	108 (99,1%)
Májfunkciós vizsgálat	36 (97,3%)	33 (97,1%)	181 (98,9%)	54 (100,0%)	37 (100,0%)	23 (95,8%)	109 (100,0%)
Vesefunkciós vizsgálat	29 (78,4%)	28 (82,4%)	163 (89,1%)	44 (81,5%)	34 (91,9%)	18 (75,0%)	99 (90,8%)
Hepatitis B szerológia	20 (54,1%)	16 (47,1%)	139 (76,0%)	35 (64,8%)	22 (59,5%)	8 (33,3%)	73 (67,%)
Hepatitis C szerológia	21 (56,8%)	16 (47,1%)	137 (74,9%)	29 (53,7%)	21 (56,8%)	8 (33,3%)	70 (64,2%)
Albumin szint	13 (35,1%)	14 (41,2%)	92 (50,3%)	17 (31,5%)	14 (37,8%)	7 (29,2%)	46 (42,2%)
Prothrombin szint	4 (10,8%)	3 (8,8%)	25 (13,7%)	4 (7,4%)	3 (8,1%)	5 (20,8%)	33 (30,3%)
HIV szerológia	13 (35,1%)	5 (14,7%)	94 (51,4%)	18 (33,3%)	11 (29,7%)	6 (25,0%)	66 (60,6%)
Mellkas röntgen	13 (35,1%)	9 (26,5%)	86 (47,0%)	28 (51,9%)	14 (37,8%)	6 (25,0%)	58 (53,2%)
Mantoux vizsgálat	1 (2,7%)	8 (23,5%)	27 (14,8%)	7 (13,0%)	4 (10,8%)	3 (12,5%)	44 (40,4%)
Quantiferon vizsgálat	1 (2,7%)	2 (5,9%)	21 (11,5%)	2 (3,7%)	4 (10,8%)	1 (4,2%)	3 (2,8%)
ANA vizsgálat	0 (0,0%)	1 (2,9%)	15 (8,2%)	1 (1,9%)	0 (0,0%)	4 (16,7%)	18 (16,5%)
Prokollagén vizsgálat	3 (8,1%)	1 (2,9%)	45 (24,6%)	1 (1,9%)	0 (0,0%)	1 (4,2%)	4 (3,7%)
Tranziens elastográfia	1 (2,7%)	1 (2,9%)	13 (7,1%)	0 (0,0%)	1 (2,7%)	1 (4,2%)	2 (1,8%)
Hosszú távú hepatotoxicitás							
Tranziens elastográfia	2 (5,4%)	7 (20,6%)	57 (31,1%)	4 (7,4%)	9 (24,3%)	2 (8,3%)	11 (10,1%)
Prokollagén vizsgálat	13 (35,1%)	7 (20,6%)	85 (46,4%)	6 (11,1%)	0 (0,0%)	2 (8,3%)	12 (11,0%)
Májbiopszia	6 (16,2%)	14 (41,2%)	13 (7,1%)	9 (16,7%)	13 (35,1%)	4 (16,7%)	23 (21,1%)

Az adott kategóriában a legmagasabb gyakoriságot sötétszürke kitöltéssel, a legalacsonyabbat fehér kitöltéssel jelöltük.

Megbeszélés

Bár a válaszadók száma magas volt, földrajzi megoszlásuk nem volt egyenletes. Mivel a kérdőív ötlete Európából származott, nem meglepő módon az európai országok bőrgyógyászainak részvétele volt a legmagasabb. Annak ellenére, hogy a többi régióban alacsonyabb volt a részvételi arány, ezeket az eredményeket is elfogadhatjuk az adott területre reprezentatívnak. Valószínű, hogy a válaszadók között felül reprezentáltak a methotrexát kezelésben tapasztaltabb kollégák, azaz a teljes bőrgyógyász közösségben feltehetően alacsonyabb az MTX alkalmazók aránya, mint a kérdőív eredményeiből számított. Az internetes kérdőív minden hátránya ellenére ezek az első globális adatok a methotrexát psoriasisban történő alkalmazásáról.

A kérdőív számos eredménye meglepő. Az MTX dózisok általában alacsonyabban voltak, mint amit az irányelvek ajánlanak.(324, 326) A bőrgyógyászok két harmada 10 mg-mal vagy annál alacsonyabb dózissal kezdi a kezelést, és több mint 40% 10 mg-ot vagy alacsonyabb dózist alkalmaz fenntartó kezelésként. Érdekes, hogy a női bőrgyógyászok konzervatívabbak a kezdő dózis megválasztásánál, de a fenntartó kezelési stratégiájuk nem különbözött a férfiakétól. A bőrgyógyászok jelentős része (n =187, 38,9%) a kumulatív dózist nem tartja fontosnak a kezelés folytatásának eldöntésekor. Ez arra utalhat, hogy a hepatotoxicitás monitorizálására alkalmas új eljárások megváltoztathatják az MTX kezeléssel kapcsolatos elképzeléseket.

Talán a legérdekesebb eredmények a földrajzi különbségekből adódnak. Úgy tűnik, hogy az alkalmazási szokások jelentősen különbözőek. Afrikában a bőrgyógyászok magas dózissal kezdenek, azonban a fenntartó adagok már alacsonyabbak, mint sok más régióban, és a kezelés időtartama is rövidebb. Észak Amerikában alkalmazzák a legmagasabb fenntartó és maximális heti dózisokat, illetve maximális kumulatív dózisokat. Ázsiában éppen ennek ellentétje látható, itt az értékek legalább 25%-kal alacsonyabbak minden kategóriában. Ez Ázsiában talán az MTX okozta mellékhatások magasabb számának is tulajdonítható, ugyanis egy nemrégiben publikált vizsgálat szerint Malájziában a methotrexáttal kezelt pikkelysömörös betegek több mint felénél észlelték a májfunkciós értékek emelkedését, és csaknem 10%-ban kellett a kezelést hepatotoxicitás miatt leállítani.(327) Így érthető, ha az ázsiai bőrgyógyászok óvatosabbak a methotrexát felírásakor. Egy másik fontos tényező a testtömeg index, ami magasabb az USA-ban és Európában, mint ázsiában. Ezen túlmenően pedig a különböző régiókban eltérő lehet a gyógyszer alkalmazásának szabályozása is. Mindazonáltal ezek az eredmények egyértelműen jelzik, hogy egy adott földrajzi régióban elvégzett klinikai vizsgálat adatainak extrapolálása egy másik területre kockázatos lehet. Szintén érdekes, hogy az afrikai bőrgyógyászok több mint harmada elsősorban intramuszkuláris MTX-et alkalmaz, míg a szubkután alkalmazás szinte kizárólag az európai országokra korlátozódik.

Eredményeink szerint a methotrexát kezelés mellé a bőrgyógyászok általában folsavat is felírnak, ugyanakkor az adagolás ritmusa és dózisa jelentős változatosságot mutat. A folsav heti dózisa nem arányos a felírt heti fenntartó MTX dózissal. Másrészt itt is jelentősek a földrajzi eltérések, mert a például az afrikai bőrgyógyászok lényegesen magasabb dózisokat alkalmaznak, mint más régióban dolgozó kollégáik.

Bár a kezelést megelőző és a kezelés alatt végzett vizsgálatok terén vannak hasonlóságok, mint például a máj- és vesefunkciós tesztek és a vérkép vizsgálat, jelentős különbségek is észlelhetők. A HIV, mellkas röntgen és Mantoux tesztek viszonylag magas száma Afrikában feltehetően a HIV és a tuberkulózis magas gyakoriságával magyarázható a régióban. Ugyanakkor az IGRA, prokollagén és tranziens elasztográfiás vizsgálatok elterjedését jelentősen behatárolja azok magas költsége. Némileg meglepő, hogy az ANA, prokollagén és tranziens elasztográfiás vizsgálatok alkalmazása gyakorlatilag nem fordult elő Észak Amerikában. Úgy tűnik, hogy a hosszú távú hepatotoxicitás monitorizálására a prokollagén és tranziens elasztográfiás vizsgálatok Európában helyettesítik a májbiopsziát, amint azt egy nemrégiben megjelent konszenzus konferencia is javasolta.(328) Érdekes módon Észak Amerikában még mindig viszonylag gyakran javasolnak májbiopsziát.

Eredményeink szerint az MTX dozírozása a klinikai praxisban jelentősen eltér az irányelvekben ajánlottaktól. Figyelembe kell vennünk ugyanakkor, hogy randomizált klinikai vizsgálatokból csak korlátozott mértékben áll rendelkezésre bizonyíték a methotrexát pikkelysömörben alkalmazott dózisával kapcsolatban, és a meglévő adatok csaknem kizárólag európai vagy észak amerikai klinikai vizsgálatokból származnak. Mivel a jelenlegi irányelvek ezen evidenciákon alapulnak, nem meglepő, hogy az európai és észak amerikai válaszadók szorosabban követik az irányelveket, mint más régió bőrgyógyásza. Amint azt korábban is említettük, ezek az eltérések szabályozási különbségekből, a populációk fiziológiai különbségeiből, illetve gyógyszer felírási tradíciókból egyaránt adódhatnak.

Összegezve, bár a kérdőíves felmérés által szolgáltatott adatok kevésbé megbízhatóak, eredményeink számos új információt szolgáltat a methotrexát alkalmazásáról psoriasisban. Célszerű lenne a methotrexát alkalmazásának harmonizálása pikkelysömörben, figyelembe véve a földrajzi és esetleges etnikai különbségeket a gyógyszer hatásosságában és biztonságosságában.

6. ÚJ MEGÁLLAPÍTÁSOK

1. Elsőként vizsgáltuk meg magyarországi psoriasisos és arthritis psoriaticás populációban a TNF szupercsaládba tartozó TNFSF15 gén variánsait. Igazoltuk, hogy a gén egyik polimorfizmusa (rs6478109) genetikai rizikó faktorként, C haplotípusa ugyanakkor protektív tényezőként szerepelhet a psoriasis vulgaris kialakulása szempontjából.
2. Kimutattuk, hogy az ERAP1 gén rs27524 és rs30187 SNP-i, illetve a HLA-C gén rs10484554 SNP-je hozzájárulnak a pikkelysömörös hajlam kialakulásához. Az ERAP1 gén rs27525, rs17482078 és rs10050860 SNP-i esetén a ritka allélokat hordozó egyének a pikkelysömör kialakulásával szemben bizonyos mértékben védettek. Igazoltuk, hogy az ERAP1 két kódoló (rs17482078 rs10050860) illetve egy nem kódoló (rs30187) SNP-je között kapcsoltsági egyensúlyhiány áll fenn psoriasisban, és a három SNP által alkotott haplotípusok közül a B (rs17482078/rs10050860/rs30187-CCT) a késői kezdetű psoriasisban és a késői kezdetű arthritis psoriaticában hajlamosító tényezőként szerepel. Elsőként igazoltuk továbbá, hogy HLA-C pozitív egyéneknél az rs27524 ERAP1 SNP jelenléte növeli a psoriasis és a PsA kialakulásának esélyét.
3. Kimutattuk, hogy a pikkelysömörös nem tünetes bőr fehérje szerkezete az all amide-I sáv komponenseiben (1660 cm^{-1} -nél) és a β -lap szerkezet esetén (1630 cm^{-1} -nél) jelentős eltérést mutat a normál bőrhöz viszonyítva. Igazoltuk, hogy az ATR-FTIR gyors és egyszerű nem invazív módszert jelenthet a pikkelysömör diagnosztizálásához, a kezelés eredményességének követéséhez.
4. Elsőként igazoltuk, hogy pikkelysömörben a CD4+CD25+ regulátor T-sejtek funkcionálisan károsodottak, nem képesek az effektor T-sejtek megfelelő gátlására. A regulátor T-sejtek funkcionális károsodása az egyik fontos oka lehet annak, hogy pikkelysömörös betegekben a bőr gyulladásos folyamatai nem tudnak megfelelően lecsengeni, ezáltal a bőrt ért gyulladások hatására psoriasisos bőrtünetek alakulnak ki. Igazoltuk továbbá, hogy a pikkelysömörös betegek vérében a CD4+CD25-effektor T-sejtek között egy magas proliferációs kapacitással bíró populáció is jelen van, mely az egészségesek vérében nem mutatható ki.
5. Kimutattuk, hogy az LRRC csoportba tartozó GARP fehérje specifikus markere a regulátor T-sejteknek. Eredményeink alapján kifejlesztettünk egy módszert, melynek segítségével a regulátor T-sejtek izolálhatók a többi T-sejt közül a sejtfelszíni GARP expresszió alapján.
6. Igazoltuk, hogy az IL-1 szignál transzdukcióját végző IL-1R1 magasabb mértékben fejeződik ki psoriasisos effektor és regulátor T-sejteken, mint egészséges kontroll személyek T-sejtjein, illetve aktiváció hatására az IL-1R1 fehérje expressziója is magasabb a pikkelysömörös T-sejteken. Aktiváció hatására a psoriasisos T-sejtek magasabb szinten fejezik ki a szignál transzdukcióra nem képes (decoy) IL-1R2 sejtfelszíni és szolubilis (sIL-1R2) formájának mRNS-ét, illetve több sIL-1R2 fehérjét

- termelnek, mint az egészséges T-sejtek, ami szerepet játszhat a psoriasis patogenezisében.
7. Elsőként írtuk le a TRPA1 szerepét a bőr gyulladásos folyamatainak csillapításában. Új módszert dolgoztunk ki az imiquimod által kiváltott psoriasiform bőrgyulladáshoz, mely kevesebb szisztémás hatással jár, és egyazon állaton lehetséges mind az aktív mind a kontroll hatás vizsgálata.
 8. Átfogó felmérést készítettünk a közép-kelet európai pikkelysömörös betegek klinikai állapotáról. Megállapítottuk, hogy a betegek több mint egy harmada súlyos betegségben szenved, a betegek több mint fele a kezelő orvosa szerint nem megfelelő kezelésben részesül, illetve a betegek több mint egy harmada esetén az orvosok biológiai terápia beállítását tervezik (2009-2010-es adatok).
 9. Igazoltuk, hogy a dohányzás és a psoriasis független rizikótényezők a periodontitis kialakulása szempontjából. A súlyos periodontális betegség kialakulásának valószínűsége psoriasisos betegekben dohányzás esetén hatszor nagyobb, mint a nem dohányzó betegek esetén.
 10. Kimutattuk, hogy az szérum anti-MCV szint arthritis psoriaticában szenvedő betegekben magasabb, mint a csak bőrtünetekkel rendelkező psoriasisos betegekben. Az emelkedett anti-MCV szint a PsA betegekben körömpsoriasis fennállásával állt összefüggésben. A csak bőrtünetekkel rendelkező pikkelysömörös betegekben az anti-MCV emelkedés súlyosabb betegség lefolyással és a bőrtünetek korai megjelenésével állhat összefüggésben.
 11. Igazoltuk, hogy a pikkelysömörös betegek anti-TNF biológiai terápiája során a gyógyszer ellenes antitestek megjelenése fordított összefüggésben áll a szérumban mérhető gyógyszer szinttel, illetve magasabb TNF szinthez vezet, ami a hatékonyság csökkenését eredményezheti infliximab és adalimumab kezelés esetén.
 12. Internetes kérdőív segítségével 63 ország 481 bőrgyógyászának véleménye alapján felmértük a metothrexát psoriasisban történő alkalmazásának gyakorlatát. Eredményeink alapján a kezelési szokásokban (pl. az alkalmazott dózisokban, az alkalmazás módjában, az ellenőrző vizsgálatok típusában) jelentős eltérések tapasztalhatók. A különbségek szempontjából leginkább meghatározó paraméterek: az ország, ahol a bőrgyógyász praktizál, a bőrgyógyász neme és szakmai tapasztalata.

7. AZ EREDMÉNYEK LEHETSÉGES GYAKORLATI ALKALMAZÁSAI

1. A vizsgált gének (TNFSF15, ERAP1, HLA-C) egyes vizsgált SNP-i genetikai markerként használhatók bizonyos psoriasis csoportok azonosítására, illetve bizonyos terápiák hatékonyságának előre jelzésére.
2. Az ATR-FTIR gyors és egyszerű neminvazív módszert jelenthet a pikkelysömör illetve egyéb bőrbetegségek diagnosztizálásához, a kezelés eredményességének követéséhez.
3. A regulátor T-sejtek funkciójának visszaállítása hatékony terápiás megközelítés lehet egyes immun mediált betegségek (pl. psoriasis) kezelésében. Az általunk szabadalmaztatott módszer segítségével a regulátor T-sejtek izolálhatók a többi T-sejt közül a sejtfelszíni GARP expresszió alapján.
4. A TRPA1 aktiválása/gátlása terápiás célpont lehet különböző bőrgyógyászati megbetegedésekben.
5. Az imiquimod által kiváltott psoriasiform bőrgyulladás általunk módosított modellje lényegesen kevesebb szisztémás hatással jár, és egyazon állaton lehetséges mind az aktív mind a kontroll hatás vizsgálata.
6. Az szérum anti-MCV mérésével psoriasisban előre jelezhető lehet a súlyosabb betegség lefolyás, illetve ízületi tünetek későbbi esetleges kialakulása.
7. A plazma TNFi és ADA koncentráció mérése a klinikai gyakorlatban is segítheti a terápiás döntéseket TNF-gátló kezelés során.

9. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE, TUDOMÁNYMETRIAI ADATOK

9.1. AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK

1. Kui R, Gál B, Gaál M, Kiss M, Kemény L, Gyulai R: Presence of antidrug antibodies correlates inversely with the plasma tumor necrosis factor (TNF)-alpha level and the efficacy of TNF-inhibitor therapy in psoriasis. JOURNAL OF DERMATOLOGY DOI: 10.1111/1346-8138.13301 (2016); IF: 1,577
Független idéző: 0 Függő idéző: 0 Összesen: 0
2. Gyulai R, Bagot M, Griffiths CE, Luger T, Naldi L, Paul C, Puig L, Kemény L: Current practice of methotrexate use for psoriasis: results of a worldwide survey among dermatologists. JOURNAL OF THE EUROPEAN ACADEMY OF DERMATOLOGY AND VENEREOLOGY 29:(2) pp. 224-231. (2015); IF: 3,029
Független idéző: 5 Függő idéző: 1 Összesen: 6
3. Antal M, Braunitzer G, Mattheos N, Gyulai R, Nagy K: Smoking as a permissive factor of periodontal disease in psoriasis. PLOS ONE 9:(3) Paper Ne 92333. 7 p. (2014); IF: 3,234
Független idéző: 2 Függő idéző: 1 Összesen: 3
4. Bebes A, Kovács-Sólyom F, Prihoda J, Kui R, Kemény L, Gyulai R: Interleukin-1 receptors are differentially expressed in normal and psoriatic T cells. MEDIATORS OF INFLAMMATION 2014: Paper 472625. 9 p. (2014); IF: 3,236
Független idéző: 6 Függő idéző: 0 Összesen: 6
5. Balázs B, Farkas G, Berkesi O, Gyulai R, Berkó S, Budai-Szűcs M, Szabó-Révész P, Kemény L, Csányi E: Protein structure is changed in psoriatic skin on the unaffected region – imaging possibility with ATR-FTIR spectroscopy. MICROCHEMICAL JOURNAL 117: pp. 183-186. (2014); IF: 2,746
Független idéző: 2 Függő idéző: 1 Összesen: 3
6. Képíró L, Széll M, Kovács L, Keszthelyi P, Kemény L, Gyulai R: Genetic risk and protective factors of TNFSF15 gene variants detected using single nucleotide polymorphisms in Hungarians with psoriasis and psoriatic arthritis. HUMAN IMMUNOLOGY 75:(2) pp. 159-162. (2014); IF: 2,138
Független idéző: 7 Függő idéző: 0 Összesen: 7
7. Dalmády S, Kiss M, Képíró L, Kovács L, Sonkodi G, Kemény L, Gyulai R: Higher levels of autoantibodies targeting mutated citrullinated vimentin in patients with psoriatic arthritis than in patients with psoriasis vulgaris. CLINICAL AND DEVELOPMENTAL IMMUNOLOGY 2013: Paper 474028. 9 p. (2013); IF: 2,934
Független idéző: 9 Függő idéző: 0 Összesen: 9
8. Palota T, Szepletowski JC, Pec J, Arenberger P, Giurcaneanu C, Gyulai R, Miljkovic J, Parna E, Mikazans I, Grusauskas N, Hodik M: A survey of disease severity, quality of life, and treatment patterns of biologically naive patients with psoriasis in central and eastern Europe. ACTA DERMATOVENEROLOGICA CROATICA 18:(3) pp. 151-161. (2010); IF: 0,272
Független idéző: 9 Függő idéző: 0 Összesen: 9
9. Gyulai R, Kui R, Bali G, Tabák R, Kemény L: Pikkelysömörhöz társuló súlyos körömtünetek jelentős javulása infliximab kezelés során. BŐRGYÓGYÁSZATI ÉS VENEROLÓGIAI SZEMLE 85:(6) pp. 279-282. (2009); IF: 0
Független idéző: 0 Függő idéző: 0 Összesen: 0
10. Gyulai R, Gaál M, Tabák R, Bali G, Kui R, Bata-Csörgő Zs, Kemény L: Citokinek, kemokinek és terápiás befolyásolásuk lehetőségei psoriasisban. BŐRGYÓGYÁSZATI ÉS VENEROLÓGIAI SZEMLE 85:(2) pp. 37-41. (2009); IF: 0
Független idéző: 0 Függő idéző: 0 Összesen: 0

11. Kui R, Bali G, Tabák R, Gyulai R, Kemény L: Tapasztalataink súlyos pikkelysömör adalimumab kezelésével. *BÖRGYÓGYÁSZATI ÉS VENEROLÓGIAI SZEMLE* 85:(6) pp. 283-289. (2009); IF: 0
Független idéző: 0 Függő idéző: 0 Összesen: 0
12. Gyulai R, Kemény L: A pikkelysömör immunológiája: Az alapkutatástól a betegágyig [The immunology of psoriasis: From the basic research to the bedside]. *ORVOSI HETILAP* 147:(46) pp. 2213-2220. (2006); IF: 0
Független idéző: 7 Függő idéző: 1 Összesen: 8
13. Kemény L, Kinyó Á, Baltás E, Csoma Zs, Dósa P, Gyulai R, Bata Zs, Dobozy A: A 308 nm-es excimer lézer a psoriasis kezelésében. *BÖRGYÓGYÁSZATI ÉS VENEROLÓGIAI SZEMLE* 82:(2) pp. 67-71. (2006); IF: 0
Független idéző: 0 Függő idéző: 0 Összesen: 0
14. Sugiyama H, Gyulai R, Toichi E, Garaczi E, Shimada S, Stevens SR, McCormick TS, Cooper KD: Dysfunctional blood and target tissue CD4(+)CD25(high) regulatory T cells in psoriasis: Mechanism underlying unrestrained pathogenic effector T cell proliferation. *JOURNAL OF IMMUNOLOGY* 174:(1) pp. 164-173. (2005); IF: 6,387
Független idéző: 315 Függő idéző: 16 Összesen: 331
15. Bata-Csörgő Z, Farkas Á, Garaczi E, Gyulai R, Kemény L, Kenderessy-Szabó A, Koreck AI, Széll M: A pikkelysömör betegség: gyógyítás és kutatómunka a Szegedi Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinikán Dobozy Attila Professzor úr tanszékvezetése alatt. *BÖRGYÓGYÁSZATI ÉS VENEROLÓGIAI SZEMLE* 80:(5) pp. 251-254. (2004); IF: 0
Független idéző: 0 Függő idéző: 0 Összesen: 0

Könyvfejezetek

1. Gyulai R: Papulosus és papulosquamosus bőrbetegségek. In: Kárpáti S , Kemény L , Remenyik É (szerk.) *Bőrgyógyászat és venerológia*. 1135 p. Budapest: Medicina Könyvkiadó, 2013. pp. 381-404. (ISBN:978-963-226-393-2)
2. Holló P, Gyulai R: Szakmai irányelv a psoriasis biológiai terápiájáról. In: Kárpáti Sarolta (szerk.) *Bőrgyógyászati útmutató*, 2008: Szakmai irányelvek a bőrgyógyászati megbetegedések kórismézéséhez, kezeléséhez és gondozásához. 152p. Budapest: Medition Kiadó, 2008. pp. 45-65. (Klinikai Irányelvek Kézikönyve)
3. Gyulai R, Kiss CG: Psoriasis - arthritis psoriatica. In: Czirják L (szerk.) *Klinikai immunológia* 941 p. Budapest: Medicina Könyvkiadó, 2006. pp. 350-363. (ISBN:963-226-057-0)

Oltalmi formák

Nemzetközi szabadalom

1. Cooper K, Garaczi E, Gyulai R, McCormick T, Sugiyama H: Methods and reagents for identifying/isolating t regulatory (treg) cells and for treating individuals. Lajstromszám: WO 2006103639 A3; Közzététel éve: 2009

USA szabadalom

1. Garaczi E, Sugiyama H, Gyulai R, Cooper KD, McCormick TS: Methods and reagents for identifying/isolating T regulatory (Treg) cells and for treating individuals. Lajstromszám: US 8815526 B2; Közzététel éve: 2014

A disszertáció alapjául szolgáló közlemények: összesített impakt faktora: 25,553
 független idéző: 362
 függő idéző: 20
 összes idéző: 382

9.2. TOVÁBBI KÖZLEMÉNYEK, KÖNYVFEJEZETEK

1. Oláh J, Gyulai R: Hogyan válasszunk megfelelő szert? Új kérdések az áttétes melanoma kezelésében. MAGYAR ONKOLÓGIA 60:(1) pp. 17-21. (2016) IF: 0
2. Hanyecz A, Kinyó Á, Kálmán E, Gyulai R: Akut generalizált exanthemás pustulosis két eset kapcsán. BŐRGYÓGYÁSZATI ÉS VENEROLÓGIAI SZEMLE 91:(4) pp. 140-143. (2015) IF: 0
3. Koller Á H, Kovács L A, Gyömörei C, Kálmán E, Csere T, Kosztolányi S, Gyulai R, Lengyel Z: Primer cutan diffúz nagy B sejtes lymphoma, leg type esete. BŐRGYÓGYÁSZATI ÉS VENEROLÓGIAI SZEMLE 91:(5) pp. 182-188. (2015) IF: 0
4. Bálint A, Dóczi I, Bereczki L, Gyulai R, Szűcs M, Farkas K, Urbán E, Nagy F, Szepes Z, Wittmann T, Molnár T: Do not forget the stool examination!-cutaneous and gastrointestinal manifestations of Blastocystis sp. infection. PARASITOLOGY RESEARCH 113:(4) pp. 1585-1590. (2014) IF: 2,098
5. Oláh J, Gyulai R: A metasztatikus melanoma gyógyszeres kezelése. KLINIKAI ONKOLÓGIA 1:(2) pp. 113-118. (2014) IF: 0
6. Pallagi-Kunstár E, Farkas K, Szepes Z, Nagy F, Szűcs M, Kui R, Gyulai R, Bálint A, Wittmann T, Molnár T: Utility of serum TNF-alpha, infliximab trough level, and antibody titers in inflammatory bowel disease. WORLD JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY 20:(17) pp. 5031-5035. (2014) IF: 2,369
7. Bálint A, Dóczi I, Bereczki L, Gyulai R, Szűcs M, Farkas K, Urbán E, Nagy F, Szepes Z, Wittmann T, Molnár T: A Blastocystis fertőzés gyakorisága, tápcsatornai tünetei és bőrgyógyászati manifesztációi. MAGYAR BELORVOSI ARCHIVUM 66: pp. 204-209. (2013) IF: 0
8. Farkas K, Pallagi-Kunstár É, Szepes Z, Nagy F, Szűcs M, Kui R, Gyulai R, Bálint A, Wittmann T, Molnár T: A szérum tumornekrózis faktor- α , infliximab és infliximab elleni antitest titerének gyakorlati jelentősége gyulladásos bélbetegségekben. MAGYAR BELORVOSI ARCHIVUM 66: pp. 210-214. (2013) IF: 0
9. Gaál M, Otrosinka S, Baltás E, Ócsai H, Oláh J, Kemény L, Gyulai R: Photodynamic Therapy of Non-melanoma Skin Cancer with Methyl Aminolaevulinate is Associated with Less Pain than with Aminolaevulinic Acid. ACTA DERMATO-VENEREOLOGICA 92:(2) pp. 173-175. (2012) IF: 3,487
10. Gaál M, Kui R, Hunyadi Z, Kemény L, Gyulai R: Hámeredetű bőrdaganatok fluoreszcens diagnosztikája. ORVOSI HETILAP 153:(34) pp. 1334-1340. (2012) IF: 0
11. Gaál M, Varga E, Kovács R, Hunyadi Z, Kemény L, Gyulai R: Fluoreszcens diagnosztika és in vivo konfokális mikroszkópia hámeredetű bőrtumorok fotodinámiás terápiája során. BŐRGYÓGYÁSZATI ÉS VENEROLÓGIAI SZEMLE 88:(4) pp. 110-116. (2012) IF: 0
12. Kinyó A, Lakatos A, Varga A, Gyulai R, Varga E, Bata-Csorgo Z, Kemény L: Allopurinol okozta hiperszenzitivitási szindróma. ORVOSI HETILAP 153:(15) pp. 586-591. (2012) IF: 0
13. Kis E, Baltás E, Kinyó A, Varga E, Nagy N, Gyulai R, Kemény L, Oláh J: Successful Treatment of Multiple Basaliomas with Bleomycin-based Electrochemotherapy: A Case Series of Three Patients with Gorlin-Goltz Syndrome. ACTA DERMATO-VENEREOLOGICA 92:(6) pp. 648-651. (2012) IF: 3,487
14. Kis E, Oláh J, Ocsai H, Baltás E, Gyulai R, Kemény L, Horváth AR: Electrochemotherapy of cutaneous metastases of melanoma--a case series study and systematic review of the evidence. DERMATOLOGIC SURGERY 37:(6) pp. 816-824. (2011) IF: 1,798
15. Gyulai R, Kui R, Kemény L: Depresszióval társuló súlyos psoriasis. BŐRGYÓGYÁSZATI ÉS VENEROLÓGIAI SZEMLE 87:(3) pp. 96-97. (2011) IF: 0
16. Kinyó A, Farkas K, Molnár T, Németh I, Varga E, Kemény L, Gyulai R: Bowel-associated dermatosis-arthritis syndrome - a relapsing, extremely rare extraintestinal sign of acute flare-up in Crohn's disease. EUROPEAN JOURNAL OF DERMATOLOGY 21:(3) pp. 443-445. (2011) IF: 2,526
17. Kis E, Szegesdi I, Ocsai H, Gyulai R, Kemény L, Oláh J: Melanoma-bőráttek elektrokemoterápiája. ORVOSI HETILAP 151:(3) pp. 96-101. (2010) IF: 0

18. Bali G, Gyulai R, Kemény L: Betesil tapasz használata psoriasis vulgarisban. MAGYAR ORVOS 17: pp. 38-40. (2009) IF: 0
19. Kinyó Á, Gyulai R, Molnár T, Varga E, Kemény L: Vesiculopustulosus bőrtünetek extraintesztinális manifesztációként Crohn-betegségben – esetbemutató. BŐRGYÓGYÁSZATI ÉS VENEROLÓGIAI SZEMLE 85: p. 251. (2009) IF: 0
20. Oláh J, Csoma Zs, Ócsai H, Gyulai R, Orvos H, Varga A, Kemény L: Az újszülöttkori kékfény kezelés növelheti-e a felnőttkori melanoma kockázatát? BŐRGYÓGYÁSZATI ÉS VENEROLÓGIAI SZEMLE 85:(2) pp. 67-72. (2009) IF: 0
21. Kinyó Á, Gyulai R, Varga E, Korom I, Bata-Csörgő Zs, Kemény L: Allopurinol okozta hiperszenzitivitási szindróma. BŐRGYÓGYÁSZATI ÉS VENEROLÓGIAI SZEMLE 84:(2) pp. 86-89. (2008) IF: 0
22. Gaál M, Gyulai R, Baltás E, Kui R, Oláh J, Kemény L: Fotodinamiás terápia a dermatoonkológiában. ORVOSI HETILAP 148:(47) pp. 2227-2233. (2007) IF: 0
23. Gyulai R, Kemény L: Biologics for the treatment of inflammatory skin diseases - a critical evaluation. EUROPEAN DERMATOLOGY REVIEW 207: pp. 21-22. (2007) IF: 0
24. Oláh J, Gyulai R, Baltás E, Szabad G, Németh R: A digitális dermatoszkópia és computeres képanalízis jelentősége a bőrgyógyászati gyakorlatban. BŐRGYÓGYÁSZATI ÉS VENEROLÓGIAI SZEMLE 80:(5) pp. 269-274. (2004) IF: 0
25. Oláh J, Gyulai R, Korom I, Varga E, Dobozy A: Tumour regression predicts higher risk of sentinel node involvement in thin cutaneous melanomas. BRITISH JOURNAL OF DERMATOLOGY 149: pp. 662-663. (2003) IF: 2,659
26. Gyulai R, Kiss M, Mehravarán M, Kovács K, Pokorny G, Husz S, Dobozy A: Atypical autoimmune blistering dermatosis associated with Sjogren's syndrome. ACTA DERMATO-VENEREOLOGICA 82:(6) pp. 462-464. (2002) IF: 1,58
27. Oláh J, Gyulai R, Varga J, Mohos G, Kapitány K, Papós M, Pávics L, Varga E, Korom I, Dobozy A: Őrszemnyirokcsomó-biopsziával szerzett tapasztalataink melanoma malignumban. LEGE ARTIS MEDICINAE 11: pp. 536-541. (2001) IF: 0
28. Gyulai R, Kiss M, Mehravarán M, Kovács L, Pokorny Gy, Husz S, Dobozy A: Sjögren syndromához társuló atipikus bullosus dermatosis. BŐRGYÓGYÁSZATI ÉS VENEROLÓGIAI SZEMLE 76: pp. 155-160. (2000) IF: 0
29. Nagy S, Gyulai R, Kemény L, Szenohradszky P, Dobozy A: Iatrogenic Kaposi's sarcoma - HHV8 positivity persists but the tumors regress almost completely without immunosuppressive therapy. TRANSPLANTATION 69:(10) pp. 2230-2231. (2000) IF: 4,035
30. Kemény L, Kenderessy Szabó A, Kiss M, Szolnoky Gy, Gyulai R, Farkas Á, Szabad G, Michel G, Ruzicka T: Interleukin-8 inhibitor izolálása polimorfonukleáris leukociták felülúszójában. BŐRGYÓGYÁSZATI ÉS VENEROLÓGIAI SZEMLE 75:(3) pp. 107-111. (1999) IF: 0
31. Gyulai R, Oláh J, Dobozy A: Cutan T-sejtes lymphomák. MOTESZ MAGAZIN &:(6) p. 8. (1999) IF: 0
32. Mehravarán M, Gyulai R, Husz S, Dobozy A: Drug-induced erythema multiforme-like bullous pemphigoid. ACTA DERMATO-VENEREOLOGICA 79:(3) p. 233. (1999) IF: 1,433
33. Kiss M, Kemény L, Gyulai R, Michel G, Husz S, Kovács R, Dobozy A, Ruzicka T: Effects of the neuropeptides substance P, calcitonin gene-related peptide and alpha-melanocyte-stimulating hormone on the IL-8/IL-8 receptor system in a cultured human keratinocyte cell line and dermal fibroblasts. INFLAMMATION 23:(6) pp. 557-567. (1999) IF: 1,436
34. Korom I, Oláh J, Gyulai R, Varga E: Szokatlan megjelenésű melanomákról. BŐRGYÓGYÁSZATI ÉS VENEROLÓGIAI SZEMLE 75: pp. 133-136. (1999) IF: 0
35. Nagy SZ, Kemény L, Adam E, Kiss M, Gyulai R, Nagy F, Dobozy A: Új differenciáldiagnosztikai marker Kaposi szarkóma és pseudo-Kaposi szarkóma elkülönítésében. BŐRGYÓGYÁSZATI ÉS VENEROLÓGIAI SZEMLE 75:(2) pp. 47-50. (1999) IF: 0
36. Oláh J, Gyulai R, Baltás E, Nagy S, Korom I: Dysplasticus naevus és melanoma malignum. BŐRGYÓGYÁSZATI ÉS VENEROLÓGIAI SZEMLE 75: pp. 127-131. (1999) IF: 0

37. Gyulai R, Husz S, Kemény L, Dobozy A: Hisztamin liberátorok szerepe az allergiás folyamatok elkülönítő kóriszmézésében. ALLERGOLÓGIA ÉS KLINIKAI IMMUNOLÓGIA 1:(3) pp. 133-136. (1998) IF: 0
38. Kemény L, Szolnoky G, Kenderessy AS, Gyulai R, Kiss M, Michel G, Nagy K, Ruzicka T, Dobozy A: Identification of a soluble interleukin-8 inhibitor in the supernatant of polymorphonuclear leukocytes. IMMUNOLOGY LETTERS 64:(1) pp. 23-29. (1998) IF: 1,485
39. Kemény L, Kiss M, Gyulai R, Nagy F, Dobozy A: Kaposi's sarcoma associated herpesvirus/human herpesvirus 8: a new virus in human pathology. JOURNAL OF THE AMERICAN ACADEMY OF DERMATOLOGY 37:(1) pp. 107-113. (1997) IF: 1,891
40. Kemény L, Gyulai R, Kiss M, Dobozy A: Kaposi-sarcomához asszociált herpesvirus: human herpesvirus 8. ORVOSI HETILAP 138:(16) pp. 979-983. (1997) IF: 0
41. Dobozy A, Szolnoky G, Gyulai R, Kenderessy AS, Marodi L, Kemény L: Mannose receptors are implicated in the Candida albicans killing activity of epidermal cells. ACTA MICROBIOLOGICA ET IMMUNOLOGICA HUNGARICA 43:(1) pp. 93-95. (1996) IF: 0
42. Kemény L, Kiss M, Gyulai R, Kenderessy AS, Ádám E, Nagy F, Dobozy A: Human herpesvirus 8 in classic Kaposi's sarcoma. ACTA MICROBIOLOGICA ET IMMUNOLOGICA HUNGARICA 43:(4) pp. 391-395. (1996) IF: 0
43. Gyulai R, Hunyadi J, Kenderessyszabo A, Kemény L, Dobozy A: CHEMOTAXIS OF FRESHLY SEPARATED AND CULTURED HUMAN KERATINOCYTES CLINICAL AND EXPERIMENTAL DERMATOLOGY 19:(4) pp. 309-311. (1994) IF: 0,634
44. Gyulai R, Kemény L, Kiss M, Nagy S, Ádám E, Nagy F, Dobozy A: Human herpesvirus 8 DNA sequences in angiosarcoma of the face. BRITISH JOURNAL OF DERMATOLOGY 137:(3) p. 467. (1997) IF: 1,838
45. Gyulai R, Kemény L, Ádám E, Nagy F, Dobozy A: HHV8 DNA in angiolymphoid hyperplasia of the skin. LANCET 347:(9018) p. 1837. (1996) IF: 17,948
46. Gyulai R, Kemény L, Kiss M, Ádám E, Nagy F, Dobozy A: Herpesvirus-like DNA sequence in angiosarcoma in a patient without HIV infection. NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE 334:(8) pp. 540-541. (1996) IF: 24,834
47. Kemény L, Kiss M, Gyulai R, Dobozy A, Ádám E, Nagy F: Herpesvirus-like nucleic acid sequences in patients with eastern European sporadic Kaposi's sarcoma. JOURNAL OF INVESTIGATIVE DERMATOLOGY 106: p. 381. (1996) IF: 4,76

Tudományos könyvfejezetek

1. Gyulai R, Kinyó Á: Granuloma annulare. In: Andreas Katsambas , Torello Lotti , Clio Dessiniotti , Angelo Massimiliano D'Erme (szerk.); European Handbook of Dermatological Treatments . Berlin; Heidelberg: Springer Verlag, 2015. pp. 319-329.
2. Gyulai R, Kádár Z, Lengyel Z: Surgery and Staging of Melanoma. In: Mandi Murph (szerk.) Melanoma – Current Clinical Management and Future Therapeutics . 410 p. Online kiadás: InTech Open Access Publisher, 2015. pp. 81-118.
3. Balogh K, Nemes E, Uhercsák G, Kahán Zs, Lázár Gy, Farkas Gy, Polyánka H, Kis E, Gyulai R, Varga E, Keresztné Határvölgyi E, Kaizer L, Haracska L, Tiszlavicz L, Kemény L, Oláh J, Széll M: Melanoma-Predisposing CDKN2A mutations in Association with Breast Cancer: A Case-Study and Review of the Literature. In: Murph M (szerk.); Melanoma in the Clinic - Diagnosis, Management and Complications of Malignancy . 310 p. Rijeka: InTech, 2011. pp. 211-224.
4. Gyulai R: A bőr primer lymphomái (cutan T-sejtes és B-sejtes lymphomák): diagnosztikus és kezelési irányelvek. In: Dobozy A (szerk.) Pharmindex Dermatologia . Budapest: CMP Medica Információs Kft, 2005. pp. 545-558.
5. Gyulai R: Haj- és körömbetegségek. In: Dobozy A (szerk.) Tabularium dermatologiae . 151 p. Budapest: Melania Kiadó, 2002. pp. 125-129.

Szabadalmak/oltalmi formák

1. Kemény L, Gyulai R, Lázárné Oláh J, Dombi J: Készülék és rendszer emberi testfelület elváltozásának optikai diagnosztizálására. NSZO: A61B 5/103; Lajstromszám: P0800684/5 Benyújtás éve: 2008. Benyújtás száma: P0800684. Közzététel éve: 2010
2. Kemény L, Gyulai R, Lázárné Oláh J, Dombi J: Device and system for the optical diagnosis of alterations the human body-surface. Lajstromszám: WO2010055498 (A1); Benyújtás éve: 2009. Benyújtás száma: PCT/IB2009/055121. Közzététel éve: 2010

9.3. TUDOMÁNYMETRIAI ADATOK

Gyulai Rolland Péter tudományos és oktatási munkásságának összefoglalása
MTA V. Orvostudományi Osztály (2016.08.30.)

Tudományos és oktatási közlemények	Száma		Hivatkozások ¹	
	Összesen	Részletezve	Független	Összes
I. Folyóiratcikk²	55	---	---	---
szakcikk, nemzetközi folyóiratban, idegen nyelvű	---	14	440	458
szakcikk, hazai idegen nyelvű	---	1	7	8
szakcikk, magyar nyelvű	---	19	5	6
szakcikk, sokszerzős, érdemi szerzőként	---	1	5	6
összefoglaló közlemény	---	9	61	65
rövid közlemény	---	11	227	242
II. Könyv	0	---	---	---
a) Szakkönyv, kézikönyv	0	---	---	---
idegen nyelvű	---	0	0	0
magyar nyelvű	---	0	0	0
aa) Felsőoktatási tankönyv	---	0	0	0
b) Szakkönyv, tankönyv szerkesztőként	0	---	---	---
idegen nyelvű	---	0	---	---
magyar nyelvű	---	0	---	---
bb) Felsőoktatási tankönyv	---	0	---	---
III. Könyvrészlet	8	---	---	---
idegen nyelvű	---	3	0	0
magyar nyelvű	---	4	0	0
cc) Felsőoktatási tankönyvfejezet	---	1	0	0
IV. Konferenciaközlemény³	1	---	0	0
Oktatási közlemények összesen (II.aa,bb-III.cc)		1	0	0
Tudományos közlemények összesen (I.-)⁴	---	63	745	785
Tudományos és oktatási közlemények összesen (I-IV.)⁴	64	---	745	785

V. További tudományos művek	11	---	---	---
További tudományos művek, ide értve a nem teljes folyóiratcikkeket és a nem ismert lektoráltságú folyóiratokban megjelent teljes folyóiratcikkeket is	---	9	0	0
Szerkesztőségi levelezés, hozzászólások, válaszok	---	2	4	5

VI. Idézett absztraktok⁵	0	---	0	0
--	---	-----	---	---

Idézettség száma^{1, 4}	---	---	749	790
Hirsch index⁶	11	---	---	---
g index⁶	29	---	---	---

Speciális tudományometriai adatok	Száma	Összes hivatkozás
Első szerzős folyóiratcikkek száma	11	174
Utolsó szerzős folyóiratcikkek száma	10	30
Az utolsó tudományos fokozat/cím elnyerése utáni teljes tudományos folyóiratcikkek száma	46	568
Az utolsó 10 év (2006-2016) tudományos, teljes, lektorált folyóiratcikkeinek száma	32	101
A legmagasabb idézettségű közlemény idézettsége (az összes idézettség százalékában)	337	42,66%
Idézetek száma, amelyek nem szerepelnek a WOS/Scopus rendszerben	74	
Jelentés, guideline	0	0
Csoportos (multicentrikus) közleményben kollaborációs közreműködő ⁷	1	0

10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Hálás köszönettel tartozom **Dobozy Attila** akadémikus úrnak és **Hunyadi János** professzor úrnak azért, hogy orvostanhallgatóként a bőrgyógyászat és azon belül a kutató bőrgyógyászat, dermatoimmunológia területére irányítottak. Korábbi munkahelyi vezetőmnek, **Kemény Lajos** professzor úrnak köszönöm szakmai tanácsait és az egész pályámmal kapcsolatos útmutatását, támogatását.

Korom Irma főorvosnőnek, **Husz Sándor** professzor úrnak, **Bata Zsuzsanna** és **Oláh Judit** professzornőknak köszönöm, hogy megmutatták és megtanították a bőrgyógyászat és az orvoslás szépségeit. **Kiss Máriának, Kenderessy Szabó Annának, Széll Mártának, Nagy Ferencnek és Ádám Évának** hálás vagyok, hogy bevezettek a kutató labormunka rejtelmeibe.

Bebes Attila, Gaál Magdolna, Garaczi Edina és Nagy Szilvia kollégáim munkája nélkülözhetetlen volt a disszertáció alapját képező közlemények elkészítéséhez. Korábbi és jelenlegi PhD hallgatóim, **Dalmády Szandra, Horváth Szabina, Képiró László, Kovács-Sólyom Ferenc, Kui Róbert, Prihoda Judit** szorgalmas munkájáért hálás vagyok.

Az Egyesült Államokban és Németországban eltöltött évek alatt kapott önzetlen segítséget köszönöm **Szabó Saroltának, Hideaki Sugiyama-nak, Kevin D Cooper** professzornak, **Thomas McCormick-nak** és **Thomas Ruzicka** professzornak.

Köszönettel tartozom a **Szegedi Tudományegyetem Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika** és a **Pécsi Tudományegyetem Bőr-, Nemikórtani és Onkodermatológiai Klinika** valamennyi munkatársának, kollégáimnak és barátaimnak.

A kollaborációban végzett kutatásokért, ötletekért hálás vagyok az SZTE és a PTE társintézeteiben dolgozó kollégáimnak és barátaimnak, **Antal Márknak, Berki Tímea** professzornőnek, **Csányi Erzsébetnek, Kemény Ágnesnek, Keszthelyi Péternek, Kovács Lászlónak, Molnár Tamás** professzornak, **Nagy Katalin** professzornőnek, **Pintér Erika** professzornőnek, **Sonkody Gábornak**.

Hálás vagyok, hogy **Szüleim, Családom** és **Barátaim** szeretetére és támogatására nem csak ennek a dolgozatnak az elkészítése során, hanem egész életemben számíthattam. **Feleségemnek, Évának és gyermekeimnek, Barnabásnak és Dorkának** pedig külön köszönöm a sok-sok türelmet és jó szót, illetve megértést és biztatást, amit a dolgozat elkészítése és a munkám során kaptam.

11. IRODALOMJEGYZÉK

1. Boehncke WH, Schön MP. Psoriasis. *Lancet*, 2015; 386: 983-994.
2. Gyulai R, Kiss C. Psoriasis - arthritis psoriatica. In: Czirják L, ed. *Klinikai immunológia*. Budapest: Medicina Könyvkiadó Zrt., 2006: p. 350-364.
3. Boehncke WH. Etiology and Pathogenesis of Psoriasis. *Rheum Dis Clin North Am*, 2015; 41: 665-675.
4. Nestle FO, Kaplan DH, Barker J. Psoriasis. *N Engl J Med*, 2009; 361: 496-509.
5. Duffin KC. Identifying and Managing Complications and Comorbidities in Patients With Psoriasis. *Semin Cutan Med Surg*, 2015; 34: S30-S33.
6. Liu JT, Yeh HM, Liu SY, Chen KT. Psoriatic arthritis: Epidemiology, diagnosis, and treatment. *World J Orthop*, 2014; 5: 537-543.
7. Rapp SR, Feldman SR, Exum ML, Fleischer AB, Reboussin DM. Psoriasis causes as much disability as other major medical diseases. *J Am Acad Dermatol*, 1999; 41: 401-407.
8. Lomholt G. Prevalence of Skin Diseases in a Population; a Census Study from the Faroe Islands. *Dan Med Bull*, 1964; 11: 1-7.
9. Green AC. Australian Aborigines and psoriasis. *Australas J Dermatol*, 1984; 25: 18-24.
10. Farber EM, Nall ML. Epidemiology: natural history and genetics. In: Roenigk HH, Maibach HI, eds. *Psoriasis*. New York: Marcel Dekker, 1998: p. 107-158.
11. Hägg D, Eriksson M, Sundström A, Schmitt-Egenolf M. The higher proportion of men with psoriasis treated with biologics may be explained by more severe disease in men. *PLoS One*, 2013; 8: e63619.
12. Schön MP, Boehncke WH. Psoriasis. *N Engl J Med*, 2005; 352: 1899-1912.
13. Gruber F, Kastelan M, Brajac I. Psoriasis treatment--yesterday, today, and tomorrow. *Acta Dermatovenereol Croat*, 2004; 12: 30-34.
14. MEENAN FO. A note on the history of psoriasis. *Ir J Med Sci*, 1955: 141-142.
15. Benedek TG. Psoriasis and psoriatic arthropathy, historical aspects: part I. *J Clin Rheumatol*, 2013; 19: 193-198.
16. Benedek TG. Psoriasis and psoriatic arthropathy: historical aspects: part II. *J Clin Rheumatol*, 2013; 19: 267-271.
17. Ferrandiz C, Pujol RM, Garcia-Patos V, Bordas X, Smandia JA. Psoriasis of early and late onset: a clinical and epidemiologic study from Spain. *J Am Acad Dermatol*, 2002; 46: 867-873.
18. Heredi E, Csordas A, Clemens M, Adam B, Gaspar K, Torocsik D, et al. The prevalence of obesity is increased in patients with late compared with early onset psoriasis. *Ann Epidemiol*, 2013; 23: 688-692.
19. Lavaroni G, Kokelj F, Pauluzzi P, Trevisan G. The nails in psoriatic arthritis. *Acta Derm Venereol Suppl (Stockh)*, 1994; 186: 113.
20. Gladman DD, Anhorn KA, Schachter RK, Mervart H. HLA antigens in psoriatic arthritis. *J Rheumatol*, 1986; 13: 586-592.
21. Eastmond CJ, Wright V. The nail dystrophy of psoriatic arthritis. *Ann Rheum Dis*, 1979; 38: 226-228.
22. Henseler T, Christophers E. Disease concomitance in psoriasis. *J Am Acad Dermatol*, 1995; 32: 982-986.
23. Abuabara K, Azfar RS, Shin DB, Neimann AL, Troxel AB, Gelfand JM. Cause-specific mortality in patients with severe psoriasis: a population-based cohort study in the U.K. *Br J Dermatol*, 2010; 163: 586-592.
24. Gottlieb AB, Dann F. Comorbidities in patients with psoriasis. *Am J Med*, 2009; 122: 1150.e1151-1159.
25. Richard MA, Barnette T, Horreau C, Brenaut E, Pouplard C, Aractingi S, et al. Psoriasis, cardiovascular events, cancer risk and alcohol use: evidence-based recommendations based on systematic review and expert opinion. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2013; 27 Suppl 3: 2-11.

26. Prey S, Paul C, Bronsard V, Puzenat E, Gourraud PA, Aractingi S, et al. Assessment of risk of psoriatic arthritis in patients with plaque psoriasis: a systematic review of the literature. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2010; 24 Suppl 2: 31-35.
27. Mease PJ, Armstrong AW. Managing patients with psoriatic disease: the diagnosis and pharmacologic treatment of psoriatic arthritis in patients with psoriasis. *Drugs*, 2014; 74: 423-441.
28. Villani AP, Rouzaud M, Sevrain M, Barnetche T, Paul C, Richard MA, et al. Prevalence of undiagnosed psoriatic arthritis among psoriasis patients: Systematic review and meta-analysis. *J Am Acad Dermatol*, 2015; 73: 242-248.
29. Reich K, Krüger K, Mössner R, Augustin M. Epidemiology and clinical pattern of psoriatic arthritis in Germany: a prospective interdisciplinary epidemiological study of 1511 patients with plaque-type psoriasis. *Br J Dermatol*, 2009; 160: 1040-1047.
30. Wilson FC, Icen M, Crowson CS, McEvoy MT, Gabriel SE, Kremers HM. Incidence and clinical predictors of psoriatic arthritis in patients with psoriasis: a population-based study. *Arthritis Rheum*, 2009; 61: 233-239.
31. Langenbruch A, Radtke MA, Krensel M, Jacobi A, Reich K, Augustin M. Nail involvement as a predictor of concomitant psoriatic arthritis in patients with psoriasis. *Br J Dermatol*, 2014; 171: 1123-1128.
32. Moll JM, Wright V. Psoriatic arthritis. *Semin Arthritis Rheum*, 1973; 3: 55-78.
33. Taylor W, Gladman D, Helliwell P, Marchesoni A, Mease P, Mielants H, et al. Classification criteria for psoriatic arthritis: development of new criteria from a large international study. *Arthritis Rheum*, 2006; 54: 2665-2673.
34. Gladman DD, Antoni C, Mease P, Clegg DO, Nash P. Psoriatic arthritis: epidemiology, clinical features, course, and outcome. *Ann Rheum Dis*, 2005; 64 Suppl 2: ii14-17.
35. Dhir V, Aggarwal A. Psoriatic arthritis: a critical review. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2013; 44: 141-148.
36. Mallbris L, Akre O, Granath F, Yin L, Lindelöf B, Ekbom A, et al. Increased risk for cardiovascular mortality in psoriasis inpatients but not in outpatients. *Eur J Epidemiol*, 2004; 19: 225-230.
37. Sommer DM, Jenisch S, Suchan M, Christophers E, Weichenthal M. Increased prevalence of the metabolic syndrome in patients with moderate to severe psoriasis. *Arch Dermatol Res*, 2006; 298: 321-328.
38. Grundy SM, Cleeman JJ, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute scientific statement: Executive Summary. *Crit Pathw Cardiol*, 2005; 4: 198-203.
39. Gelfand JM, Neimann AL, Shin DB, Wang X, Margolis DJ, Troxel AB. Risk of myocardial infarction in patients with psoriasis. *JAMA*, 2006; 296: 1735-1741.
40. Boehncke WH, Boehncke S, Schön MP. Managing comorbid disease in patients with psoriasis. *BMJ*, 2010; 340: b5666.
41. Boehncke WH, Boehncke S, Tobin AM, Kirby B. The 'psoriatic march': a concept of how severe psoriasis may drive cardiovascular comorbidity. *Exp Dermatol*, 2011; 20: 303-307.
42. Masarone M, Federico A, Abenavoli L, Loguercio C, Persico M. Non alcoholic fatty liver: epidemiology and natural history. *Rev Recent Clin Trials*, 2014; 9: 126-133.
43. Gisondi P, Targher G, Zoppini G, Girolomoni G. Non-alcoholic fatty liver disease in patients with chronic plaque psoriasis. *J Hepatol*, 2009; 51: 758-764.
44. Miele L, Vallone S, Cefalo C, La Torre G, Di Stasi C, Vecchio FM, et al. Prevalence, characteristics and severity of non-alcoholic fatty liver disease in patients with chronic plaque psoriasis. *J Hepatol*, 2009; 51: 778-786.
45. van der Voort EA, Koehler EM, Dowlathshahi EA, Hofman A, Stricker BH, Janssen HL, et al. Psoriasis is independently associated with nonalcoholic fatty liver disease in patients 55 years old or older: Results from a population-based study. *J Am Acad Dermatol*, 2014; 70: 517-524.
46. Mantovani A, Gisondi P, Lonardo A, Targher G. Relationship between Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Psoriasis: A Novel Hepato-Dermal Axis? *Int J Mol Sci*, 2016; 17.

47. Kurd SK, Troxel AB, Crits-Christoph P, Gelfand JM. The risk of depression, anxiety, and suicidality in patients with psoriasis: a population-based cohort study. *Arch Dermatol*, 2010; 146: 891-895.
48. Karelson M, Silm H, Kingo K. Quality of life and emotional state in vitiligo in an Estonian sample: comparison with psoriasis and healthy controls. *Acta Derm Venereol*, 2013; 93: 446-450.
49. Mattoo SK, Handa S, Kaur I, Gupta N, Malhotra R. Psychiatric morbidity in vitiligo and psoriasis: a comparative study from India. *J Dermatol*, 2001; 28: 424-432.
50. Connor CJ, Liu V, Fiedorowicz JG. Exploring the Physiological Link between Psoriasis and Mood Disorders. *Dermatol Res Pract*, 2015; 2015: 409637.
51. Lee FI, Bellary SV, Francis C. Increased occurrence of psoriasis in patients with Crohn's disease and their relatives. *Am J Gastroenterol*, 1990; 85: 962-963.
52. Hughes S, Williams SE, Turnberg LA. Crohn's disease and psoriasis. *N Engl J Med*, 1983; 308: 101.
53. Li WQ, Han JL, Chan AT, Qureshi AA. Psoriasis, psoriatic arthritis and increased risk of incident Crohn's disease in US women. *Ann Rheum Dis*, 2013; 72: 1200-1205.
54. Fry L, Baker BS, Powles AV, Fahlen A, Engstrand L. Is chronic plaque psoriasis triggered by microbiota in the skin? *Br J Dermatol*, 2013; 169: 47-52.
55. Preus HR, Khanifam P, Kolltveit K, Mork C, Gjermo P. Periodontitis in psoriasis patients: a blinded, case-controlled study. *Acta Odontol Scand*, 2010; 68: 165-170.
56. Richer V, Roubille C, Fleming P, Starnino T, McCourt C, McFarlane A, et al. Psoriasis and Smoking: A Systematic Literature Review and Meta-Analysis With Qualitative Analysis of Effect of Smoking on Psoriasis Severity. *J Cutan Med Surg*, 2015.
57. Lønnberg AS, Skov L, Skytthe A, Kyvik KO, Pedersen OB, Thomsen SF. Smoking and risk for psoriasis: a population-based twin study. *Int J Dermatol*, 2016; 55: e72-78.
58. Emre S, Metin A, Demirseren DD, Kilic S, Isikoglu S, Erel O. The relationship between oxidative stress, smoking and the clinical severity of psoriasis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2013; 27: e370-375.
59. Seville RH. Psoriasis and stress. *Br J Dermatol*, 1977; 97: 297-302.
60. Harvima IT, Nilsson G. Stress, the neuroendocrine system and mast cells: current understanding of their role in psoriasis. *Expert Rev Clin Immunol*, 2012; 8: 235-241.
61. Hunter HJ, Griffiths CE, Kleyn CE. Does psychosocial stress play a role in the exacerbation of psoriasis? *Br J Dermatol*, 2013; 169: 965-974.
62. NORRLIND R. The significance of infections in the origination of psoriasis. *Acta Rheumatol Scand*, 1955; 1: 135-144.
63. Leung DYM, Gately M, Trumble A, Ferguson-Darnell B, Schlievert PM, Picker LJ. Bacterial superantigens induce T cell expression of the skin-selective homing receptor, the cutaneous lymphocyte-associated antigen, via stimulation of interleukin 12 production. *Journal of Experimental Medicine*, 1995; 181: 747-753.
64. Leung DYM, Travers JB, Giorno R, Norris DA, Skinner r, Aelion J, et al. Evidence for a streptococcal superantigen-driven process in acute guttate psoriasis. *Journal of Clinical Investigation*, 1995; 96: 2106-2112.
65. Rachakonda TD, Dhillon JS, Florek AG, Armstrong AW. Effect of tonsillectomy on psoriasis: a systematic review. *J Am Acad Dermatol*, 2015; 72: 261-275.
66. Kim GK, Del Rosso JQ. Drug-provoked psoriasis: is it drug induced or drug aggravated?: understanding pathophysiology and clinical relevance. *J Clin Aesthet Dermatol*, 2010; 3: 32-38.
67. Basavaraj KH, Ashok NM, Rashmi R, Praveen TK. The role of drugs in the induction and/or exacerbation of psoriasis. *Int J Dermatol*, 2010; 49: 1351-1361.
68. Gerdes S, Zahl VA, Knopf H, Weichenthal M, Mrowietz U. Comedication related to comorbidities: a study in 1203 hospitalized patients with severe psoriasis. *Br J Dermatol*, 2008; 159: 1116-1123.
69. Fredriksson T, Pettersson U. Severe psoriasis -- oral therapy with a new retinoid. *Dermatologica*, 1978; 157: 238-244.

70. Thaçi D, Blauvelt A, Reich K, Tsai TF, Vanaclocha F, Kingo K, et al. Secukinumab is superior to ustekinumab in clearing skin of subjects with moderate to severe plaque psoriasis: CLEAR, a randomized controlled trial. *J Am Acad Dermatol*, 2015; 73: 400-409.
71. Klaassen KM, van de Kerkhof PC, Bastiaens MT, Plusjé LG, Baran RL, Pasch MC. Scoring nail psoriasis. *J Am Acad Dermatol*, 2014; 70: 1061-1066.
72. Mease PJ. Measures of psoriatic arthritis: Tender and Swollen Joint Assessment, Psoriasis Area and Severity Index (PASI), Nail Psoriasis Severity Index (NAPSI), Modified Nail Psoriasis Severity Index (mNAPSI), Mander/Newcastle Enthesitis Index (MEI), Leeds Enthesitis Index (LEI), Spondyloarthritis Research Consortium of Canada (SPARCC), Maastricht Ankylosing Spondylitis Enthesis Score (MASES), Leeds Dactylitis Index (LDI), Patient Global for Psoriatic Arthritis, Dermatology Life Quality Index (DLQI), Psoriatic Arthritis Quality of Life (PsAQOL), Functional Assessment of Chronic Illness Therapy-Fatigue (FACIT-F), Psoriatic Arthritis Response Criteria (PsARC), Psoriatic Arthritis Joint Activity Index (PsAJAI), Disease Activity in Psoriatic Arthritis (DAPSA), and Composite Psoriatic Disease Activity Index (CPDAI). *Arthritis Care Res (Hoboken)*, 2011; 63 Suppl 11: S64-85.
73. Brandrup F, Holm N, Grunnet N, Henningsen K, Hansen HE. Psoriasis in monozygotic twins: variations in expression in individuals with identical genetic constitution. *Acta Derm Venereol*, 1982; 62: 229-236.
74. Duffy DL, Spelman LS, Martin NG. Psoriasis in Australian twins. *J Am Acad Dermatol*, 1993; 29: 428-434.
75. Farber EM, Nall ML, Watson W. Natural history of psoriasis in 61 twin pairs. *Arch Dermatol*, 1974; 109: 207-211.
76. Lowes MA, Suárez-Fariñas M, Krueger JG. Immunology of psoriasis. *Annu Rev Immunol*, 2014; 32: 227-255.
77. Harden JL, Krueger JG, Bowcock AM. The immunogenetics of Psoriasis: A comprehensive review. *J Autoimmun*, 2015.
78. Chandran V. The genetics of psoriasis and psoriatic arthritis. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2013; 44: 149-156.
79. Capon F, Munro M, Barker J, Trembath R. Searching for the major histocompatibility complex psoriasis susceptibility gene. *J Invest Dermatol*, 2002; 118: 745-751.
80. Burden AD, Javed S, Bailey M, Hodgins M, Connor M, Tillman D. Genetics of psoriasis: paternal inheritance and a locus on chromosome 6p. *J Invest Dermatol*, 1998; 110: 958-960.
81. Allen MH, Veal C, Faassen A, Powis SH, Vaughan RW, Trembath RC, et al. A non-HLA gene within the MHC in psoriasis. *Lancet*, 1999; 353: 1589-1590.
82. Asumalahti K, Veal C, Laitinen T, Suomela S, Allen M, Elomaa O, et al. Coding haplotype analysis supports HCR as the putative susceptibility gene for psoriasis at the MHC PSORS1 locus. *Hum Mol Genet*, 2002; 11: 589-597.
83. Strange A, Capon F, Spencer CC, Knight J, Weale ME, Allen MH, et al. A genome-wide association study identifies new psoriasis susceptibility loci and an interaction between HLA-C and ERAP1. *Nat Genet*, 2010; 42: 985-990.
84. McGonagle D, Aydin SZ, Gül A, Mahr A, Direskeneli H. 'MHC-I-opathy'-unified concept for spondyloarthritis and Behçet disease. *Nat Rev Rheumatol*, 2015; 11: 731-740.
85. Nair RP, Duffin KC, Helms C, Ding J, Stuart PE, Goldgar D, et al. Genome-wide scan reveals association of psoriasis with IL-23 and NF-kappaB pathways. *Nat Genet*, 2009; 41: 199-204.
86. Cargill M, Schrodi SJ, Chang M, Garcia VE, Brandon R, Callis KP, et al. A large-scale genetic association study confirms IL12B and leads to the identification of IL23R as psoriasis-risk genes. *Am J Hum Genet*, 2007; 80: 273-290.
87. Nair RP, Ruether A, Stuart PE, Jenisch S, Tejasvi T, Hiremagalore R, et al. Polymorphisms of the IL12B and IL23R genes are associated with psoriasis. *J Invest Dermatol*, 2008; 128: 1653-1661.
88. Di Meglio P, Di Cesare A, Laggner U, Chu CC, Napolitano L, Villanova F, et al. The IL23R R381Q gene variant protects against immune-mediated diseases by impairing IL-23-induced Th17 effector response in humans. *PLoS One*, 2011; 6: e17160.

89. Ellinghaus D, Ellinghaus E, Nair RP, Stuart PE, Esko T, Metspalu A, et al. Combined analysis of genome-wide association studies for Crohn disease and psoriasis identifies seven shared susceptibility loci. *Am J Hum Genet*, 2012; 90: 636-647.
90. Tsoi LC, Spain SL, Knight J, Ellinghaus E, Stuart PE, Capon F, et al. Identification of 15 new psoriasis susceptibility loci highlights the role of innate immunity. *Nat Genet*, 2012; 44: 1341-1348.
91. Helms C, Cao L, Krueger JG, Wijnsman EM, Chamian F, Gordon D, et al. A putative RUNX1 binding site variant between SLC9A3R1 and NAT9 is associated with susceptibility to psoriasis. *Nat Genet*, 2003; 35: 349-356.
92. Speckman RA, Wright Daw JA, Helms C, Duan S, Cao L, Taillon-Miller P, et al. Novel immunoglobulin superfamily gene cluster, mapping to a region of human chromosome 17q25, linked to psoriasis susceptibility. *Hum Genet*, 2003; 112: 34-41.
93. Stuart PE, Nair RP, Ellinghaus E, Ding J, Tejasvi T, Gudjonsson JE, et al. Genome-wide association analysis identifies three psoriasis susceptibility loci. *Nat Genet*, 2010; 42: 1000-1004.
94. Hüffmeier U, Uebe S, Ekici AB, Bowes J, Giardina E, Korendowych E, et al. Common variants at TRAF3IP2 are associated with susceptibility to psoriatic arthritis and psoriasis. *Nat Genet*, 2010; 42: 996-999.
95. Liu Y, Helms C, Liao W, Zaba LC, Duan S, Gardner J, et al. A genome-wide association study of psoriasis and psoriatic arthritis identifies new disease loci. *PLoS Genet*, 2008; 4: e1000041.
96. Li M, Wu Y, Chen G, Yang Y, Zhou D, Zhang Z, et al. Deletion of the late cornified envelope genes LCE3C and LCE3B is associated with psoriasis in a Chinese population. *J Invest Dermatol*, 2011; 131: 1639-1643.
97. Murphy M, Kerr P, Grant-Kels JM. The histopathologic spectrum of psoriasis. *Clin Dermatol*, 2007; 25: 524-528.
98. Detmar M, Brown LF, Claffey KP, Yeo KT, Kocher O, Jackman RW, et al. Overexpression of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor and its receptors in psoriasis. *J Exp Med*, 1994; 180: 1141-1146.
99. Sugiyama H, Gyulai R, Toichi E, Garaczi E, Shimada S, Stevens SR, et al. Dysfunctional blood and target tissue CD4+CD25high regulatory T cells in psoriasis: mechanism underlying unrestrained pathogenic effector T cell proliferation. *J Immunol*, 2005; 174: 164-173.
100. Pauls K, Schon M, Kubitza RC, Homey B, Wiesenborn A, Lehmann P, et al. Role of integrin alphaE(CD103)beta7 for tissue-specific epidermal localization of CD8+ T lymphocytes. *J Invest Dermatol*, 2001; 117: 569-575.
101. Mahil SK, Capon F, Barker JN. Update on psoriasis immunopathogenesis and targeted immunotherapy. *Semin Immunopathol*, 2016; 38: 11-27.
102. Kim J, Krueger JG. The immunopathogenesis of psoriasis. *Dermatol Clin*, 2015; 33: 13-23.
103. Lande R, Chamilos G, Ganguly D, Demaria O, Frasca L, Durr S, et al. Cationic antimicrobial peptides in psoriatic skin cooperate to break innate tolerance to self-DNA. *Eur J Immunol*, 2015; 45: 203-213.
104. Lande R, Gregorio J, Facchinetti V, Chatterjee B, Wang YH, Homey B, et al. Plasmacytoid dendritic cells sense self-DNA coupled with antimicrobial peptide. *Nature*, 2007; 449: 564-569.
105. Arican O, Aral M, Sasmaz S, Ciragil P. Serum levels of TNF-alpha, IFN-gamma, IL-6, IL-8, IL-12, IL-17, and IL-18 in patients with active psoriasis and correlation with disease severity. *Mediators Inflamm*, 2005; 2005: 273-279.
106. Hohler T, Kruger A, Schneider PM, Schopf RE, Knop J, Rittner C, et al. A TNF-alpha promoter polymorphism is associated with juvenile onset psoriasis and psoriatic arthritis. *J Invest Dermatol*, 1997; 109: 562-565.
107. Mueller W, Herrmann B. Cyclosporin A for psoriasis. *N Engl J Med*, 1979; 301: 555.
108. Bour H, Puisieux I, Even J, Kourilsky P, Favrot M, Musette P, et al. T-cell repertoire analysis in chronic plaque psoriasis suggests an antigen-specific immune response. *Hum Immunol*, 1999; 60: 665-676.

109. Villanova F, Flutter B, Tosi I, Grys K, Sreeneebus H, Perera GK, et al. Characterization of innate lymphoid cells in human skin and blood demonstrates increase of NKp44+ ILC3 in psoriasis. *J Invest Dermatol*, 2014; 134: 984-991.
110. Ward NL, Umetsu DT. A new player on the psoriasis block: IL-17A- and IL-22-producing innate lymphoid cells. *J Invest Dermatol*, 2014; 134: 2305-2307.
111. Teunissen MB, Munneke JM, Bernink JH, Spuls PI, Res PC, Te Velde A, et al. Composition of innate lymphoid cell subsets in the human skin: enrichment of NCR(+) ILC3 in lesional skin and blood of psoriasis patients. *J Invest Dermatol*, 2014; 134: 2351-2360.
112. Bata-Csörgő Z, Hammerberg C, Voorhees JJ, Cooper KD. Flow cytometric identification of proliferative subpopulations within normal human epidermis and the localization of the primary hyperproliferative population in psoriasis. *J Exp Med*, 1993; 178: 1271-1281.
113. Bata-Csörgő Z, Hammerberg C, Voorhees JJ, Cooper KD. Kinetics and regulation of human keratinocyte stem cell growth in short- term primary ex vivo culture. Cooperative growth factors from psoriatic lesional T lymphocytes stimulate proliferation among psoriatic uninvolved, but not normal, stem keratinocytes. *J Clin Invest*, 1995; 95: 317-327.
114. Széll M, Bata-Csörgő Z, Koreck A, Pivarcsi A, Polyánka H, Szeg C, et al. Proliferating keratinocytes are putative sources of the psoriasis susceptibility-related EDA+ (extra domain A of fibronectin) oncofetal fibronectin. *J Invest Dermatol*, 2004; 123: 537-546.
115. Bergboer JG, Zeeuwen PL, Schalkwijk J. Genetics of psoriasis: evidence for epistatic interaction between skin barrier abnormalities and immune deviation. *J Invest Dermatol*, 2012; 132: 2320-2331.
116. Riveira-Munoz E, He SM, Escaramis G, Stuart PE, Huffmeier U, Lee C, et al. Meta-analysis confirms the LCE3C_LCE3B deletion as a risk factor for psoriasis in several ethnic groups and finds interaction with HLA-Cw6. *J Invest Dermatol*, 2011; 131: 1105-1109.
117. Farkas A, Kemény L, Szőny BJ, Bata-Csörgő Z, Pivarcsi A, Kiss M, et al. Dithranol upregulates IL-10 receptors on the cultured human keratinocyte cell line HaCaT. *Inflamm Res*, 2001; 50: 44-49.
118. Kemény L, Ruzicka T, Braun-Falco O. Dithranol: a review of the mechanism of action in the treatment of psoriasis vulgaris. *Skin Pharmacol*, 1990; 3: 1-20.
119. Holló P, Gonzalez R, Kása M, Horváth A. Synchronous balneophototherapy is effective for the different clinical types of psoriasis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2005; 19: 578-581.
120. Lee E, Koo J, Berger T. UVB phototherapy and skin cancer risk: a review of the literature. *Int J Dermatol*, 2005; 44: 355-360.
121. Archier E, Devaux S, Castela E, Gallini A, Aubin F, Le Maître M, et al. Carcinogenic risks of psoralen UV-A therapy and narrowband UV-B therapy in chronic plaque psoriasis: a systematic literature review. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2012; 26 Suppl 3: 22-31.
122. Reich K, Nestle FO, Papp K, Ortonne JP, Evans R, Guzzo C, et al. Infliximab induction and maintenance therapy for moderate-to-severe psoriasis: a phase III, multicentre, double-blind trial. *Lancet*, 2005; 366: 1367-1374.
123. Koutruba N, Emer J, Lebwohl M. Review of ustekinumab, an interleukin-12 and interleukin-23 inhibitor used for the treatment of plaque psoriasis. *Ther Clin Risk Manag*, 2010; 6: 123-141.
124. Papp KA, Langley RG, Lebwohl M, Krueger GG, Szapary P, Yeilding N, et al. Efficacy and safety of ustekinumab, a human interleukin-12/23 monoclonal antibody, in patients with psoriasis: 52-week results from a randomised, double-blind, placebo-controlled trial (PHOENIX 2). *Lancet*, 2008; 371: 1675-1684.
125. Griffiths CE, Strober BE, van de Kerkhof P, Ho V, Fidelus-Gort R, Yeilding N, et al. Comparison of ustekinumab and etanercept for moderate-to-severe psoriasis. *N Engl J Med*, 2010; 362: 118-128.
126. Langley RG, Elewski BE, Lebwohl M, Reich K, Griffiths CE, Papp K, et al. Secukinumab in plaque psoriasis—results of two phase 3 trials. *N Engl J Med*, 2014; 371: 326-338.
127. Gordon KB, Leonardi CL, Lebwohl M, Blauvelt A, Cameron GS, Braun D, et al. A 52-week, open-label study of the efficacy and safety of ixekizumab, an anti-interleukin-17A monoclonal antibody, in patients with chronic plaque psoriasis. *J Am Acad Dermatol*, 2014; 71: 1176-1182.

128. Thaci D, Blauvelt A, Reich K, Tsai TF, Vanaclocha F, Kingo K, et al. Secukinumab is superior to ustekinumab in clearing skin of subjects with moderate to severe plaque psoriasis: CLEAR, a randomized controlled trial. *J Am Acad Dermatol*, 2015; 73: 400-409.
129. Griffiths CE, Reich K, Lebwohl M, van de Kerkhof P, Paul C, Menter A, et al. Comparison of ixekizumab with etanercept or placebo in moderate-to-severe psoriasis (UNCOVER-2 and UNCOVER-3): results from two phase 3 randomised trials. *Lancet*, 2015; 386: 541-551.
130. Lebwohl M, Tying SK, Hamilton TK, Toth D, Glazer S, Tawfik NH, et al. A novel targeted T-cell modulator, efalizumab, for plaque psoriasis. *N Engl J Med*, 2003; 349: 2004-2013.
131. Leonardi CL, Papp KA, Gordon KB, Menter A, Feldman SR, Caro I, et al. Extended efalizumab therapy improves chronic plaque psoriasis: results from a randomized phase III trial. *J Am Acad Dermatol*, 2005; 52: 425-433.
132. Knowlton WM, Bifulck-Fisher A, Bautista DM, McKemy DD. TRPM8, but not TRPA1, is required for neural and behavioral responses to acute noxious cold temperatures and cold-mimetics in vivo. *Pain*, 2010; 150: 340-350.
133. Fernandes JK, Wiegand RE, Salinas CF, Grossi SG, Sanders JJ, Lopes-Virella MF, et al. Periodontal disease status in gullah african americans with type 2 diabetes living in South Carolina. *J Periodontol*, 2009; 80: 1062-1068.
134. Rioll-Blanco L, Ordoñas-Montanes J, Perro M, Naval E, Thiriot A, Alvarez D, et al. Nociceptive sensory neurons drive interleukin-23-mediated psoriasiform skin inflammation. *Nature*, 2014; 510: 157-161.
135. van der Fits L, Mourits S, Voerman JS, Kant M, Boon L, Laman JD, et al. Imiquimod-induced psoriasis-like skin inflammation in mice is mediated via the IL-23/IL-17 axis. *J Immunol*, 2009; 182: 5836-5845.
136. Kim HR, Lee A, Choi EJ, Hong MP, Kie JH, Lim W, et al. Reactive oxygen species prevent imiquimod-induced psoriatic dermatitis through enhancing regulatory T cell function. *PLoS One*, 2014; 9: e91146.
137. Nickoloff BJ, Nestle FO. Recent insights into the immunopathogenesis of psoriasis provide new therapeutic opportunities. *J Clin Invest*, 2004; 113: 1664-1675.
138. Veale DJ, Ritchlin C, FitzGerald O. Immunopathology of psoriasis and psoriatic arthritis. *Ann Rheum Dis*, 2005; 64 Suppl 2: ii26-29.
139. Zhai Y, Ni J, Jiang GW, Lu J, Xing L, Lincoln C, et al. VEGF, a novel cytokine of the tumor necrosis factor family, is an angiogenesis inhibitor that suppresses the growth of colon carcinomas in vivo. *FASEB J*, 1999; 13: 181-189.
140. Yue TL, Ni J, Romanic AM, Gu JL, Keller P, Wang C, et al. TL1, a novel tumor necrosis factor-like cytokine, induces apoptosis in endothelial cells. Involvement of activation of stress protein kinases (stress-activated protein kinase and p38 mitogen-activated protein kinase) and caspase-3-like protease. *J Biol Chem*, 1999; 274: 1479-1486.
141. Migone TS, Zhang J, Luo X, Zhuang L, Chen C, Hu B, et al. TL1A is a TNF-like ligand for DR3 and TR6/DcR3 and functions as a T cell costimulator. *Immunity*, 2002; 16: 479-492.
142. Zhang Z, Li LY. TNFSF15 Modulates Neovascularization and Inflammation. *Cancer Microenviron*, 2012; 5: 237-247.
143. Thiebaut R, Kotti S, Jung C, Merlin F, Colombel JF, Lemann M, et al. TNFSF15 polymorphisms are associated with susceptibility to inflammatory bowel disease in a new European cohort. *Am J Gastroenterol*, 2009; 104: 384-391.
144. Kang YJ, Kim WJ, Bae HU, Kim DI, Park YB, Park JE, et al. Involvement of TL1A and DR3 in induction of pro-inflammatory cytokines and matrix metalloproteinase-9 in atherogenesis. *Cytokine*, 2005; 29: 229-235.
145. Cassatella MA, Pereira-da-Silva G, Tinazzi I, Facchetti F, Scapini P, Calzetti F, et al. Soluble TNF-like cytokine (TL1A) production by immune complexes stimulated monocytes in rheumatoid arthritis. *J Immunol*, 2007; 178: 7325-7333.

146. Bamias G, Evangelou K, Vergou T, Tsimaratou K, Kaltsa G, Antoniou C, et al. Upregulation and nuclear localization of TNF-like cytokine 1A (TL1A) and its receptors DR3 and DcR3 in psoriatic skin lesions. *Exp Dermatol*, 2011; 20: 725-731.
147. Bamias G, Martin C, 3rd, Marini M, Hoang S, Mishina M, Ross WG, et al. Expression, localization, and functional activity of TL1A, a novel Th1-polarizing cytokine in inflammatory bowel disease. *J Immunol*, 2003; 171: 4868-4874.
148. Picornell Y, Mei L, Taylor K, Yang H, Targan SR, Rotter JI. TNFSF15 is an ethnic-specific IBD gene. *Inflamm Bowel Dis*, 2007; 13: 1333-1338.
149. Yang SK, Lim J, Chang HS, Lee I, Li Y, Liu J, et al. Association of TNFSF15 with Crohn's disease in Koreans. *Am J Gastroenterol*, 2008; 103: 1437-1442.
150. Kamada N, Hisamatsu T, Honda H, Kobayashi T, Chinen H, Takayama T, et al. TL1A produced by lamina propria macrophages induces Th1 and Th17 immune responses in cooperation with IL-23 in patients with Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*, 2010; 16: 568-575.
151. Pappu BP, Borodovsky A, Zheng TS, Yang X, Wu P, Dong X, et al. TL1A-DR3 interaction regulates Th17 cell function and Th17-mediated autoimmune disease. *J Exp Med*, 2008; 205: 1049-1062.
152. Yamazaki K, McGovern D, Ragoussis J, Paolucci M, Butler H, Jewell D, et al. Single nucleotide polymorphisms in TNFSF15 confer susceptibility to Crohn's disease. *Hum Mol Genet*, 2005; 14: 3499-3506.
153. Bernstein CN, Wajda A, Blanchard JF. The clustering of other chronic inflammatory diseases in inflammatory bowel disease: a population-based study. *Gastroenterology*, 2005; 129: 827-836.
154. Weng X, Liu L, Barcellos LF, Allison JE, Herrinton LJ. Clustering of inflammatory bowel disease with immune mediated diseases among members of a northern california-managed care organization. *Am J Gastroenterol*, 2007; 102: 1429-1435.
155. Safrany E, Szabo M, Szell M, Kemeny L, Sumegi K, Melegh BI, et al. Difference of interleukin-23 receptor gene haplotype variants in ulcerative colitis compared to Crohn's disease and psoriasis. *Inflamm Res*, 2013; 62: 195-200.
156. Henseler T, Christophers E. Psoriasis of early and late onset: Characterization of two types of psoriasis vulgaris. *JAmAcadDermatol*, 1985; 13: 450-456.
157. Nair RP, Stuart P, Henseler T, Jenisch S, Chia NV, Westphal E, et al. Localization of Psoriasis-Susceptibility Locus PSORS1 to a 60-kb Interval Telomeric to HLA-C. *Am J Hum Genet*, 2000; 66: 1833-1844.
158. Alonso S, Tejón P, Sarasqueta C, Coto P, Alperi M, Queiro R. Age at disease onset may help to further characterize the disease phenotype in psoriatic arthritis. *Joint Bone Spine*, 2015.
159. de Cid R, Riveira-Munoz E, Zeeuwen PL, Robarge J, Liao W, Dannhauser EN, et al. Deletion of the late cornified envelope LCE3B and LCE3C genes as a susceptibility factor for psoriasis. *Nat Genet*, 2009; 41: 211-215.
160. Kepiro L, Szell M, Kovacs L, Keszthelyi P, Kemeny L, Gyulai R. Genetic risk and protective factors of TNFSF15 gene variants detected using single nucleotide polymorphisms in Hungarians with psoriasis and psoriatic arthritis. *Hum Immunol*, 2014; 75: 159-162.
161. Tejasvi T, Stuart PE, Chandran V, Voorhees JJ, Gladman DD, Rahman P, et al. TNFAIP3 gene polymorphisms are associated with response to TNF blockade in psoriasis. *J Invest Dermatol*, 2012; 132: 593-600.
162. Zhang C, Zhu KJ, Liu H, Quan C, Liu Z, Li SJ, et al. The TNFAIP3 polymorphism rs610604 both associates with the risk of psoriasis vulgaris and affects the clinical severity. *Clin Exp Dermatol*, 2015; 40: 426-430.
163. Queiro R, Tejón P, Alonso S, Coto P. Age at disease onset: a key factor for understanding psoriatic disease. *Rheumatology (Oxford)*, 2014; 53: 1178-1185.
164. Bettencourt BF, Rocha FL, Alves H, Amorim R, Caetano-Lopes J, Vieira-Sousa E, et al. Protective effect of an ERAP1 haplotype in ankylosing spondylitis: investigating non-MHC genes in HLA-B27-positive individuals. *Rheumatology (Oxford)*, 2013; 52: 2168-2176.

165. Tang H, Jin X, Li Y, Jiang H, Tang X, Yang X, et al. A large-scale screen for coding variants predisposing to psoriasis. *Nat Genet*, 2014; 46: 45-50.
166. Sun LD, Cheng H, Wang ZX, Zhang AP, Wang PG, Xu JH, et al. Association analyses identify six new psoriasis susceptibility loci in the Chinese population. *Nat Genet*, 2010; 42: 1005-1009.
167. Sheng Y, Jin X, Xu J, Gao J, Du X, Duan D, et al. Sequencing-based approach identified three new susceptibility loci for psoriasis. *Nat Commun*, 2014; 5: 4331.
168. Jadon D, Tillett W, Wallis D, Cavill C, Bowes J, Waldron N, et al. Exploring ankylosing spondylitis-associated ERAP1, IL23R and IL12B gene polymorphisms in subphenotypes of psoriatic arthritis. *Rheumatology (Oxford)*, 2013; 52: 261-266.
169. Evans DM, Spencer CC, Pointon JJ, Su Z, Harvey D, Kochan G, et al. Interaction between ERAP1 and HLA-B27 in ankylosing spondylitis implicates peptide handling in the mechanism for HLA-B27 in disease susceptibility. *Nat Genet*, 2011; 43: 761-767.
170. Gudjonsson JE, Karason A, Runarsdottir EH, Antonsdottir AA, Hauksson VB, Jonsson HH, et al. Distinct clinical differences between HLA-Cw*0602 positive and negative psoriasis patients--an analysis of 1019 HLA-C- and HLA-B-typed patients. *J Invest Dermatol*, 2006; 126: 740-745.
171. Ho PY, Barton A, Worthington J, Thomson W, Silman AJ, Bruce IN. HLA-Cw6 and HLA-DRB1*07 together are associated with less severe joint disease in psoriatic arthritis. *Ann Rheum Dis*, 2007; 66: 807-811.
172. Queiro R, Gonzalez S, Lopez-Larrea C, Alperi M, Sarasqueta C, Riestra JL, et al. HLA-C locus alleles may modulate the clinical expression of psoriatic arthritis. *Arthritis Res Ther*, 2006; 8: R185.
173. Winchester R, Minevich G, Steshenko V, Kirby B, Kane D, Greenberg DA, et al. HLA associations reveal genetic heterogeneity in psoriatic arthritis and in the psoriasis phenotype. *Arthritis Rheum*, 2012; 64: 1134-1144.
174. Szczerkowska-Dobosz A, Niespodziana K, Rebala K, Garstecka J, Lange M, Baranska-Rybak W. Lack of association of HLA-C alleles with late-onset psoriasis in the northern Polish population. *J Appl Genet*, 2007; 48: 273-275.
175. Allen MH, Ameen H, Veal C, Evans J, Ramrakha-Jones VS, Marsland AM, et al. The major psoriasis susceptibility locus PSORS1 is not a risk factor for late-onset psoriasis. *J Invest Dermatol*, 2005; 124: 103-106.
176. Hebert HL, Bowes J, Smith RL, Flynn E, Parslew R, Alsharqi A, et al. Identification of loci associated with late-onset psoriasis using dense genotyping of immune-related regions. *Br J Dermatol*, 2015; 172: 933-939.
177. Lysell J, Padyukov L, Kockum I, Nikamo P, Stahle M. Genetic association with ERAP1 in psoriasis is confined to disease onset after puberty and not dependent on HLA-C*06. *J Invest Dermatol*, 2013; 133: 411-417.
178. Jensen PE. Recent advances in antigen processing and presentation. *Nat Immunol*, 2007; 8: 1041-1048.
179. Bergboer JG, Oostveen AM, de Jager ME, den Heijer M, Joosten I, van de Kerkhof PC, et al. Paediatric-onset psoriasis is associated with ERAP1 and IL23R loci, LCE3C_LCE3B deletion and HLA-C*06. *Br J Dermatol*, 2012; 167: 922-925.
180. Kadi A, Izac B, Said-Nahal R, Leboime A, Van Praet L, de Vlam K, et al. Investigating the genetic association between ERAP1 and spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis*, 2013; 72: 608-613.
181. Denda M. New strategies to improve skin barrier homeostasis. *Adv Drug Deliv Rev*, 2002; 54 Suppl 1: S123-130.
182. Bernard G, Auger M, Soucy J, Pouliot R. Physical characterization of the stratum corneum of an in vitro psoriatic skin model by ATR-FTIR and Raman spectroscopies. *Biochim Biophys Acta*, 2007; 1770: 1317-1323.
183. Motta S, Sesana S, Monti M, Giuliani A, Caputo R. Interlamellar lipid differences between normal and psoriatic stratum corneum. *Acta Derm Venereol Suppl (Stockh)*, 1994; 186: 131-132.
184. Holtje M, Forster T, Brandt B, Engels T, von Rybinski W, Holtje HD. Molecular dynamics simulations of stratum corneum lipid models: fatty acids and cholesterol. *Biochim Biophys Acta*, 2001; 1511: 156-167.

185. Dias M, Naik A, Guy RH, Hadgraft J, Lane ME. In vivo infrared spectroscopy studies of alkanol effects on human skin. *Eur J Pharm Biopharm*, 2008; 69: 1171-1175.
186. Bommannan D, Potts RO, Guy RH. Examination of stratum corneum barrier function in vivo by infrared spectroscopy. *J Invest Dermatol*, 1990; 95: 403-408.
187. Barth A. Infrared spectroscopy of proteins. *Biochim Biophys Acta*, 2007; 1767: 1073-1101.
188. Kong J, Yu S. Fourier transform infrared spectroscopic analysis of protein secondary structures. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2007; 39: 549-559.
189. Pelton JT, McLean LR. Spectroscopic methods for analysis of protein secondary structure. *Anal Biochem*, 2000; 277: 167-176.
190. Gniadecka M, Faurskov Nielsen O, Christensen DH, Wulf HC. Structure of water, proteins, and lipids in intact human skin, hair, and nail. *J Invest Dermatol*, 1998; 110: 393-398.
191. Tur E. Physiology of the skin--differences between women and men. *Clin Dermatol*, 1997; 15: 5-16.
192. Maloy KJ, Powrie F. Regulatory T cells in the control of immune pathology. *Nat Immunol*, 2001; 2: 816-822.
193. Asano M, Toda M, Sakaguchi N, Sakaguchi S. Autoimmune disease as a consequence of developmental abnormality of a T cell subpopulation. *J Exp Med*, 1996; 184: 387-396.
194. Takahashi T, Kuniyasu Y, Toda M, Sakaguchi N, Itoh M, Iwata M, et al. Immunologic self-tolerance maintained by CD25+CD4+ naturally anergic and suppressive T cells: induction of autoimmune disease by breaking their anergic/suppressive state. *Int Immunol*, 1998; 10: 1969-1980.
195. Thornton AM, Shevach EM. CD4+CD25+ immunoregulatory T cells suppress polyclonal T cell activation in vitro by inhibiting interleukin 2 production. *J Exp Med*, 1998; 188: 287-296.
196. Thornton AM, Shevach EM. Suppressor effector function of CD4+CD25+ immunoregulatory T cells is antigen nonspecific. *J Immunol*, 2000; 164: 183-190.
197. Jonuleit H, Schmitt E, Stassen M, Tuettenberg A, Knop J, Enk AH. Identification and functional characterization of human CD4(+)CD25(+) T cells with regulatory properties isolated from peripheral blood. *J Exp Med*, 2001; 193: 1285-1294.
198. Levings MK, Sangregorio R, Roncarolo MG. Human cd25(+)cd4(+) t regulatory cells suppress naive and memory T cell proliferation and can be expanded in vitro without loss of function. *J Exp Med*, 2001; 193: 1295-1302.
199. Baecher-Allan C, Brown JA, Freeman GJ, Hafler DA. CD4+CD25high regulatory cells in human peripheral blood. *J Immunol*, 2001; 167: 1245-1253.
200. Wrone-Smith T, Nickoloff BJ. Dermal injection of immunocytes induces psoriasis. *Journal of Clinical Investigation*, 1996; 98: 1878-1887.
201. Bata-Csorgo Z, Hammerberg C, Voorhees JJ, Cooper KD. Kinetics and regulation of human keratinocyte stem cell growth in short-term primary ex vivo culture. Cooperative growth factors from psoriatic lesional T lymphocytes stimulate proliferation among psoriatic uninvolved, but not normal, stem keratinocytes. *Journal of Clinical Investigation*, 1995; 95: 317-327.
202. Vollmer S, Menssen A, Trommler P, Schendel D, Prinz JC. T lymphocytes derived from skin lesions of patients with psoriasis vulgaris express a novel cytokine pattern that is distinct from that of T helper type 1 and T helper type 2 cells. *Eur J Immunol*, 1994; 24: 2377-2382.
203. , !!! INVALID CITATION !!! (97, 98).
204. Fuhlbrigge RC, Kieffer JD, Armerding D, Kupper TS. Cutaneous lymphocyte antigen is a specialized form of PSGL-1 expressed on skin-homing T cells. *Nature*, 1997; 389: 978-981.
205. Davison SC, Ballsdon A, Allen MH, Barker JN. Early migration of cutaneous lymphocyte-associated antigen (CLA) positive T cells into evolving psoriatic plaques. *Exp Dermatol*, 2001; 10: 280-285.
206. Dieckmann D, Plottner H, Berchtold S, Berger T, Schuler G. Ex vivo isolation and characterization of CD4(+)CD25(+) T cells with regulatory properties from human blood. *J Exp Med*, 2001; 193: 1303-1310.
207. Stephens LA, Mottet C, Mason D, Powrie F. Human CD4(+)CD25(+) thymocytes and peripheral T cells have immune suppressive activity in vitro. *Eur J Immunol*, 2001; 31: 1247-1254.

208. Goodman WA, Levine AD, Massari JV, Sugiyama H, McCormick TS, Cooper KD. IL-6 signaling in psoriasis prevents immune suppression by regulatory T cells. *J Immunol*, 2009; 183: 3170-3176.
209. Goodman WA, Young AB, McCormick TS, Cooper KD, Levine AD. Stat3 phosphorylation mediates resistance of primary human T cells to regulatory T cell suppression. *J Immunol*, 2011; 186: 3336-3345.
210. Buckner JH. Mechanisms of impaired regulation by CD4(+)CD25(+)FOXP3(+) regulatory T cells in human autoimmune diseases. *Nat Rev Immunol*, 2010; 10: 849-859.
211. Yamazaki S, Iyoda T, Tarbell K, Olson K, Velinzon K, Inaba K, et al. Direct expansion of functional CD25+ CD4+ regulatory T cells by antigen-processing dendritic cells. *J Exp Med*, 2003; 198: 235-247.
212. Yamazaki S, Patel M, Harper A, Bonito A, Fukuyama H, Pack M, et al. Effective expansion of alloantigen-specific Foxp3+ CD25+ CD4+ regulatory T cells by dendritic cells during the mixed leukocyte reaction. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006; 103: 2758-2763.
213. Engelhardt BG, Sengsayadeth SM, Jagasia M, Savani BN, Kassim AA, Lu P, et al. Tissue-specific regulatory T cells: biomarker for acute graft-vs-host disease and survival. *Exp Hematol*, 2012; 40: 974-982.e971.
214. Jun B-D, Law MYL, Daynes RA, Roberts LK. Splenic contribution to the recovery of ATPase/Ia+ epidermal cells in the skin of mice after exposure to ultraviolet radiation. *Regional Immunology*, 1989; 2: 225-235.
215. Hirahara K, Liu L, Clark RA, Yamanaka K, Fuhlbrigge RC, Kupper TS. The majority of human peripheral blood CD4+CD25highFoxp3+ regulatory T cells bear functional skin-homing receptors. *J Immunol*, 2006; 177: 4488-4494.
216. Issa F, Hester J, Milward K, Wood KJ. Homing of regulatory T cells to human skin is important for the prevention of alloimmune-mediated pathology in an in vivo cellular therapy model. *PLoS One*, 2012; 7: e53331.
217. Gaspar K, Barath S, Nagy G, Mocsai G, Gyimesi E, Szodoray P, et al. Regulatory T-cell subsets with acquired functional impairment: important indicators of disease severity in atopic dermatitis. *Acta Derm Venereol*, 2015; 95: 151-155.
218. Klarquist J, Denman CJ, Hernandez C, Wainwright DA, Strickland FM, Overbeck A, et al. Reduced skin homing by functional Treg in vitiligo. *Pigment Cell Melanoma Res*, 2010; 23: 276-286.
219. Baadsgaard O, Salvo B, Mannie A, Dass B, Fox DA, Cooper KD. In vivo ultraviolet-exposed human epidermal cells activate T suppressor cell pathways that involve CD4+CD45RA+ suppressor-inducer T cells. *J Immunol*, 1990; 145: 2854-2861.
220. Furuhashi T, Saito C, Torii K, Nishida E, Yamazaki S, Morita A. Photo(chemo)therapy reduces circulating Th17 cells and restores circulating regulatory T cells in psoriasis. *PLoS One*, 2013; 8: e54895.
221. Wright GP, Notley CA, Xue SA, Bendle GM, Holler A, Schumacher TN, et al. Adoptive therapy with redirected primary regulatory T cells results in antigen-specific suppression of arthritis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009; 106: 19078-19083.
222. Wright GP, Ehrenstein MR, Stauss HJ. Regulatory T-cell adoptive immunotherapy: potential for treatment of autoimmunity. *Expert Rev Clin Immunol*, 2011; 7: 213-225.
223. Tanaka H, Zhang W, Yang GX, Ando Y, Tomiyama T, Tsuneyama K, et al. Successful immunotherapy of autoimmune cholangitis by adoptive transfer of forkhead box protein 3(+) regulatory T cells. *Clin Exp Immunol*, 2014; 178: 253-261.
224. Sakaguchi S. Naturally arising Foxp3-expressing CD25+CD4+ regulatory T cells in immunological tolerance to self and non-self. *Nat Immunol*, 2005; 6: 345-352.
225. Read S, Malmström V, Powrie F. Cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 plays an essential role in the function of CD25(+)CD4(+) regulatory cells that control intestinal inflammation. *J Exp Med*, 2000; 192: 295-302.
226. Banham AH. Cell-surface IL-7 receptor expression facilitates the purification of FOXP3(+) regulatory T cells. *Trends Immunol*, 2006; 27: 541-544.

227. Enkhbayar P, Kamiya M, Osaki M, Matsumoto T, Matsushima N. Structural principles of leucine-rich repeat (LRR) proteins. *Proteins*, 2004; 54: 394-403.
228. Matsushima N, Tachi N, Kuroki Y, Enkhbayar P, Osaki M, Kamiya M, et al. Structural analysis of leucine-rich-repeat variants in proteins associated with human diseases. *Cell Mol Life Sci*, 2005; 62: 2771-2791.
229. Ng AC, Eisenberg JM, Heath RJ, Huett A, Robinson CM, Nau GJ, et al. Human leucine-rich repeat proteins: a genome-wide bioinformatic categorization and functional analysis in innate immunity. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011; 108 Suppl 1: 4631-4638.
230. Ollendorff V, Noguchi T, deLapeyriere O, Birnbaum D. The GARP gene encodes a new member of the family of leucine-rich repeat-containing proteins. *Cell Growth Differ*, 1994; 5: 213-219.
231. Roubin R, Pizette S, Ollendorff V, Planche J, Birnbaum D, Delapeyriere O. Structure and developmental expression of mouse Garp, a gene encoding a new leucine-rich repeat-containing protein. *Int J Dev Biol*, 1996; 40: 545-555.
232. Garaczi E, Ferenczi K, Yan C, Goodman W, Sugiyama H, Gyulai R, et al. Glycoprotein A repetition predominant: a novel marker of human CD4+CD25high+ regulatory T cells (conference abstract). *Journal of Investigative Dermatology*, 2005; 124: A117.
233. Garaczi E, Sugiyama H, Gyulai R, Cooper KD, McCormick TS, inventors; Case Western Reserve University, Cleveland, OH (U S) assignee. METHODS AND REAGENTS FOR IDENTIFYING/ISOLATING T REGULATORY (TREG) CELLS AND FOR TREATING INDIVIDUALS. United States of America. 2014.
234. Wang R, Kozhaya L, Mercer F, Khaitan A, Fujii H, Unutmaz D. Expression of GARP selectively identifies activated human FOXP3+ regulatory T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009; 106: 13439-13444.
235. Probst-Keppler M, Balling R, Buer J. FOXP3: required but not sufficient. the role of GARP (LRRC32) as a safeguard of the regulatory phenotype. *Curr Mol Med*, 2010; 10: 533-539.
236. Bebes A, Kovacs-Solyom F, Prihoda J, Kui R, Kemeny L, Gyulai R. Interleukin-1 receptors are differentially expressed in normal and psoriatic T cells. *Mediators Inflamm*, 2014; 2014: 472625.
237. Battaglia M, Roncarolo MG. The Tregs' world according to GARP. *Eur J Immunol*, 2009; 39: 3296-3300.
238. Stockis J, Colau D, Coulie PG, Lucas S. Membrane protein GARP is a receptor for latent TGF-beta on the surface of activated human Treg. *Eur J Immunol*, 2009; 39: 3315-3322.
239. Probst-Keppler M, Buer J. FOXP3 and GARP (LRRC32): the master and its minion. *Biol Direct*, 2010; 5: 8.
240. Blumberg H, Dinh H, Dean C, Jr., Trueblood ES, Bailey K, Shows D, et al. IL-1RL2 and its ligands contribute to the cytokine network in psoriasis. *J Immunol*, 2010; 185: 4354-4362.
241. Di Cesare A, Di Meglio P, Nestle FO. The IL-23/Th17 axis in the immunopathogenesis of psoriasis. *J Invest Dermatol*, 2009; 129: 1339-1350.
242. Cooper KD, Hammerberg C, Baadsgaard O, Elder JT, Chan LS, Taylor RS, et al. Interleukin-1 in human skin: Dysregulation in psoriasis. *J Invest Dermatol*, 1990; 95: 24S-26S.
243. Jensen LE. Targeting the IL-1 family members in skin inflammation. *Curr Opin Investig Drugs*, 2010; 11: 1211-1220.
244. Dinarello CA. Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family. *Annu Rev Immunol*, 2009; 27: 519-550.
245. Lowes MA, Kikuchi T, Fuentes-Duculan J, Cardinale I, Zaba LC, Haider AS, et al. Psoriasis vulgaris lesions contain discrete populations of Th1 and Th17 T cells. *J Invest Dermatol*, 2008; 128: 1207-1211.
246. Mease PJ. Inhibition of interleukin-17, interleukin-23 and the TH17 cell pathway in the treatment of psoriatic arthritis and psoriasis. *Curr Opin Rheumatol*, 2015; 27: 127-133.
247. Grine L, Dejager L, Libert C, Vandenbroucke RE. An inflammatory triangle in psoriasis: TNF, type I IFNs and IL-17. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2015; 26: 25-33.
248. Cooper KD, Hammerberg C, Baadsgaard O, Elder JT, Chan LS, Sauder DN, et al. IL-1 activity is reduced in psoriatic skin: Decreased IL-1 alpha and increased nonfunctional IL-1 beta. *J Immunol*, 1990; 144: 4593-4603.

249. Cooper KD, Hammerberg C, Baadsgaard O, Elder JT, Chan LS, Taylor RS, et al. Interleukin-1 in human skin: dysregulation in psoriasis. *J Invest Dermatol*, 1990; 95: 24S-26S.
250. Mee JB, Cork MJ, di Giovine FS, Duff GW, Groves RW. Interleukin-1: a key inflammatory mediator in psoriasis? *Cytokine*, 2006; 33: 72-78.
251. Fincham JJ, Camp RD, Gearing AJ, Bird CR, Cunningham FM. Neutrophil chemoattractant and IL-1-like activity in samples from psoriatic skin lesions. Further characterization. *J Immunol*, 1988; 140: 4294-4299.
252. Groves RW, Sherman L, Mizutani H, Dower SK, Kupper TS. Detection of interleukin-1 receptors in human epidermis. Induction of the type II receptor after organ culture and in psoriasis. *American Journal of Pathology*, 1994; 145: 1048-1056.
253. Anderson KS, Petersson S, Wong J, Shubbar E, Lokko NN, Carlstrom M, et al. Elevation of serum epidermal growth factor and interleukin 1 receptor antagonist in active psoriasis vulgaris. *Br J Dermatol*, 2010; 163: 1085-1089.
254. Chung Y, Chang SH, Martinez GJ, Yang XO, Nurieva R, Kang HS, et al. Critical regulation of early Th17 cell differentiation by interleukin-1 signaling. *Immunity*, 2009; 30: 576-587.
255. Tran DQ, Andersson J, Hardwick D, Bebris L, Illei GG, Shevach EM. Selective expression of latency-associated peptide (LAP) and IL-1 receptor type I/II (CD121a/CD121b) on activated human FOXP3+ regulatory T cells allows for their purification from expansion cultures. *Blood*, 2009; 113: 5125-5133.
256. Mercer F, Kozhaya L, Unutmaz D. Expression and function of TNF and IL-1 receptors on human regulatory T cells. *PLoS One*, 2010; 5: e8639.
257. Andersson U, Tracey KJ. Neural reflexes in inflammation and immunity. *J Exp Med*, 2012; 209: 1057-1068.
258. Tracey KJ. Reflex control of immunity. *Nat Rev Immunol*, 2009; 9: 418-428.
259. Weddell G, Cowan MA, Palmer E, Ramaswamy S. PSORIATIC SKIN. *Arch Dermatol*, 1965; 91: 252-266.
260. Joseph T, Kurian J, Warwick DJ, Friedmann PS. Unilateral remission of psoriasis following traumatic nerve palsy. *Br J Dermatol*, 2005; 152: 185-186.
261. Ostrowski SM, Belkadi A, Loyd CM, Diaconu D, Ward NL. Cutaneous denervation of psoriasiform mouse skin improves acanthosis and inflammation in a sensory neuropeptide-dependent manner. *J Invest Dermatol*, 2011; 131: 1530-1538.
262. Laursen WJ, Bagriantsev SN, Gracheva EO. TRPA1 channels: chemical and temperature sensitivity. *Curr Top Membr*, 2014; 74: 89-112.
263. Parenti A, De Logu F, Geppetti P, Benemei S. What does evidence indicate about the role of TRP channels in inflammatory and immune cells? *Br J Pharmacol*, 2015.
264. Oh MH, Oh SY, Lu J, Lou H, Myers AC, Zhu Z, et al. TRPA1-dependent pruritus in IL-13-induced chronic atopic dermatitis. *J Immunol*, 2013; 191: 5371-5382.
265. Cevikbas F, Wang X, Akiyama T, Kempkes C, Savinko T, Antal A, et al. A sensory neuron-expressed IL-31 receptor mediates T helper cell-dependent itch: Involvement of TRPV1 and TRPA1. *J Allergy Clin Immunol*, 2014; 133: 448-460.
266. Liu B, Escalera J, Balakrishna S, Fan L, Caceres AI, Robinson E, et al. TRPA1 controls inflammation and pruritogen responses in allergic contact dermatitis. *Faseb j*, 2013; 27: 3549-3563.
267. Nestle FO, Di Meglio P, Qin JZ, Nickoloff BJ. Skin immune sentinels in health and disease. *Nat Rev Immunol*, 2009; 9: 679-691.
268. Cai Y, Shen X, Ding C, Qi C, Li K, Li X, et al. Pivotal role of dermal IL-17-producing gammadelta T cells in skin inflammation. *Immunity*, 2011; 35: 596-610.
269. Le Pichon CE, Chesler AT. The functional and anatomical dissection of somatosensory subpopulations using mouse genetics. *Front Neuroanat*, 2014; 8: 21.
270. Reich K, Papp KA, Matheson RT, Tu JH, Bissonnette R, Bourcier M, et al. Evidence that a neutrophil-keratinocyte crosstalk is an early target of IL-17A inhibition in psoriasis. *Exp Dermatol*, 2015; 24: 529-535.

271. Shao S, Cao T, Jin L, Li B, Fang H, Zhang J, et al. Increased Lipocalin-2 Contributes to the Pathogenesis of Psoriasis by Modulating Neutrophil Chemotaxis and Cytokine Secretion. *J Invest Dermatol*, 2016; 136: 1418-1428.
272. Moparathi L, Kichko TI, Eberhardt M, Hogestatt ED, Kjellbom P, Johanson U, et al. Human TRPA1 is a heat sensor displaying intrinsic U-shaped thermosensitivity. *Sci Rep*, 2016; 6: 28763.
273. Legat FJ, Jaiani LT, Wolf P, Wang M, Lang R, Abraham T, et al. The role of calcitonin gene-related peptide in cutaneous immunosuppression induced by repeated subinflammatory ultraviolet irradiation exposure. *Exp Dermatol*, 2004; 13: 242-250.
274. Augustin M, Kruger K, Radtke MA, Schwippl I, Reich K. Disease severity, quality of life and health care in plaque-type psoriasis: a multicenter cross-sectional study in Germany. *Dermatology*, 2008; 216: 366-372.
275. Dubertret L, Mrowietz U, Ranki A, van de Kerkhof PC, Chimenti S, Lotti T, et al. European patient perspectives on the impact of psoriasis: the EUOPSO patient membership survey. *Br J Dermatol*, 2006; 155: 729-736.
276. Kirby B, Richards HL, Woo P, Hindle E, Main CJ, Griffiths CE. Physical and psychologic measures are necessary to assess overall psoriasis severity. *J Am Acad Dermatol*, 2001; 45: 72-76.
277. Zachariae R, Zachariae H, Blomqvist K, Davidsson S, Molin L, Mork C, et al. Quality of life in 6497 Nordic patients with psoriasis. *Br J Dermatol*, 2002; 146: 1006-1016.
278. Richards HL, Fortune DG, Griffiths CE, Main CJ. The contribution of perceptions of stigmatisation to disability in patients with psoriasis. *J Psychosom Res*, 2001; 50: 11-15.
279. Augustin M, Reich K, Reich C, Purwins S, Jeff Rustenbach S, Schafer I, et al. Quality of psoriasis care in Germany--results of the national study PsoHealth 2007. *J Dtsch Dermatol Ges*, 2008; 6: 640-645.
280. Kazandjieva J, Grozdev I, Darlenski R, Tsankov N. Climatotherapy of psoriasis. *Clin Dermatol*, 2008; 26: 477-485.
281. Lazaridou E, Tsirikoni A, Fotiadou C, Kyrmanidou E, Vakirlis E, Giannopoulou C, et al. Association of chronic plaque psoriasis and severe periodontitis: a hospital based case-control study. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2013; 27: 967-972.
282. Moon JH, Lee JH, Lee JY. Subgingival microbiome in smokers and non-smokers in Korean chronic periodontitis patients. *Mol Oral Microbiol*, 2015; 30: 227-241.
283. Tomar SL, Asma S. Smoking-attributable periodontitis in the United States: findings from NHANES III. National Health and Nutrition Examination Survey. *J Periodontol*, 2000; 71: 743-751.
284. Antal M, Braunitzer G, Mattheos N, Gyulai R, Nagy K. Smoking as a permissive factor of periodontal disease in psoriasis. *PLoS One*, 2014; 9: e92333.
285. Ohlrich EJ, Cullinan MP, Seymour GJ. The immunopathogenesis of periodontal disease. *Aust Dent J*, 2009; 54 Suppl 1: S2-10.
286. Netea MG, Van der Meer JW, Suttmuller RP, Adema GJ, Kullberg BJ. From the Th1/Th2 paradigm towards a Toll-like receptor/T-helper bias. *Antimicrob Agents Chemother*, 2005; 49: 3991-3996.
287. Klareskog L, Widhe M, Hermansson M, Ronnelid J. Antibodies to citrullinated proteins in arthritis: pathology and promise. *Curr Opin Rheumatol*, 2008; 20: 300-305.
288. Skogh T. Does a positive anti-CCP test identify a distinct arthritis entity? *Arthritis Res Ther*, 2005; 7: 230-232.
289. Mathsson L, Mullazehi M, Wick MC, Sjoberg O, van Vollenhoven R, Klareskog L, et al. Antibodies against citrullinated vimentin in rheumatoid arthritis: higher sensitivity and extended prognostic value concerning future radiographic progression as compared with antibodies against cyclic citrullinated peptides. *Arthritis Rheum*, 2008; 58: 36-45.
290. Tesija-Kuna A, Grazio S, Miler M, Vukasovic I, Peric P, Vrkic N. Antibodies targeting mutated citrullinated vimentin in patients with psoriatic arthritis. *Clin Rheumatol*, 2010; 29: 487-493.
291. Bodnar N, Szekanecz Z, Prohaszka Z, Kemeny-Beke A, Nemethne-Gyurcsik Z, Gulyas K, et al. Anti-mutated citrullinated vimentin (anti-MCV) and anti-65 kDa heat shock protein (anti-hsp65): new biomarkers in ankylosing spondylitis. *Joint Bone Spine*, 2012; 79: 63-66.

292. Soos L, Szekanecz Z, Szabo Z, Fekete A, Zeher M, Horvath IF, et al. Clinical evaluation of anti-mutated citrullinated vimentin by ELISA in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*, 2007; 34: 1658-1663.
293. McGonagle D. Enthesitis: an autoinflammatory lesion linking nail and joint involvement in psoriatic disease. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2009; 23 Suppl 1: 9-13.
294. Chen HA, Lin KC, Chen CH, Liao HT, Wang HP, Chang HN, et al. The effect of etanercept on anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and rheumatoid factor in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, 2006; 65: 35-39.
295. Alessandri C, Bombardieri M, Papa N, Cinquini M, Magrini L, Tincani A, et al. Decrease of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and rheumatoid factor following anti-TNFalpha therapy (infliximab) in rheumatoid arthritis is associated with clinical improvement. *Ann Rheum Dis*, 2004; 63: 1218-1221.
296. Braun-Moscovici Y, Markovits D, Zinder O, Schapira D, Rozin A, Ehrenburg M, et al. Anti-cyclic citrullinated protein antibodies as a predictor of response to anti-tumor necrosis factor-alpha therapy in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*, 2006; 33: 497-500.
297. Nicaise Roland P, Grootenboer Mignot S, Bruns A, Hurtado M, Palazzo E, Hayem G, et al. Antibodies to mutated citrullinated vimentin for diagnosing rheumatoid arthritis in anti-CCP-negative patients and for monitoring infliximab therapy. *Arthritis Res Ther*, 2008; 10: R142.
298. Bobbio-Pallavicini F, Caporali R, Alpini C, Avasse S, Epis OM, Klersy C, et al. High IgA rheumatoid factor levels are associated with poor clinical response to tumour necrosis factor alpha inhibitors in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, 2007; 66: 302-307.
299. Caramaschi P, Biasi D, Tonolli E, Pieropan S, Martinelli N, Carletto A, et al. Antibodies against cyclic citrullinated peptides in patients affected by rheumatoid arthritis before and after infliximab treatment. *Rheumatol Int*, 2005; 26: 58-62.
300. De Rycke L, Verhelst X, Kruithof E, Van den Bosch F, Hoffman IE, Veys EM, et al. Rheumatoid factor, but not anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, is modulated by infliximab treatment in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, 2005; 64: 299-302.
301. Elder JT. Genome-wide association scan yields new insights into the immunopathogenesis of psoriasis. *Genes Immun*, 2009; 10: 201-209.
302. Queiro R, Alonso S, Alperi M, Fernandez M, Sarasqueta C. Stratification by age of onset with 30 years as age limit is an effective means of identifying PSORS1-associated psoriasis in patients with psoriatic arthritis. *Joint Bone Spine*, 2011; 78: 581-583.
303. Anderson PJ. Tumor necrosis factor inhibitors: clinical implications of their different immunogenicity profiles. *Semin Arthritis Rheum*, 2005; 34: 19-22.
304. Rojas JR, Taylor RP, Cunningham MR, Rutkoski TJ, Vennarini J, Jang H, et al. Formation, distribution, and elimination of infliximab and anti-infliximab immune complexes in cynomolgus monkeys. *J Pharmacol Exp Ther*, 2005; 313: 578-585.
305. Lecluse LL, Driessen RJ, Spuls PI, de Jong EM, Stapel SO, van Doorn MB, et al. Extent and clinical consequences of antibody formation against adalimumab in patients with plaque psoriasis. *Arch Dermatol*, 2010; 146: 127-132.
306. Takahashi H, Tsuji H, Ishida-Yamamoto A, Iizuka H. Plasma trough levels of adalimumab and infliximab in terms of clinical efficacy during the treatment of psoriasis. *J Dermatol*, 2013; 40: 39-42.
307. Leonardi CL, Powers JL, Matheson RT, Goffe BS, Zitnik R, Wang A, et al. Etanercept as monotherapy in patients with psoriasis. *N Engl J Med*, 2003; 349: 2014-2022.
308. Tying S, Gordon KB, Poulin Y, Langley RG, Gottlieb AB, Dunn M, et al. Long-term safety and efficacy of 50 mg of etanercept twice weekly in patients with psoriasis. *Arch Dermatol*, 2007; 143: 719-726.
309. Adisen E, Aral A, Aybay C, Gurer MA. Anti-infliximab antibody status and its relation to clinical response in psoriatic patients: A pilot study. *J Dermatol*, 2010; 37: 708-713.
310. Menting SP, van Lumig PP, de Vries AC, van den Reek JM, van der Kleij D, de Jong EM, et al. Extent and consequences of antibody formation against adalimumab in patients with psoriasis: one-year follow-up. *JAMA Dermatol*, 2014; 150: 130-136.

311. Mahil SK, Arkir Z, Richards G, Lewis CM, Barker JN, Smith CH. Predicting treatment response in psoriasis using serum levels of adalimumab and etanercept: a single-centre, cohort study. *Br J Dermatol*, 2013; 169: 306-313.
312. van Kuijk AW, de Groot M, Stapel SO, Dijkmans BA, Wolbink GJ, Tak PP. Relationship between the clinical response to adalimumab treatment and serum levels of adalimumab and anti-adalimumab antibodies in patients with psoriatic arthritis. *Ann Rheum Dis*. England, 2010; p. 624-625.
313. Langley RG, Gordon KB. Duration of remission of biologic agents for chronic plaque psoriasis. *J Drugs Dermatol*, 2007; 6: 1205-1212.
314. Emi Aikawa N, de Carvalho JF, Artur Almeida Silva C, Bonfa E. Immunogenicity of Anti-TNF-alpha agents in autoimmune diseases. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2010; 38: 82-89.
315. Carrascosa JM. Immunogenicity in biologic therapy: implications for dermatology. *Actas Dermosifiliogr*, 2013; 104: 471-479.
316. Kim J, Nadella P, Kim DJ, Brodmerkel C, Correa da Rosa J, Krueger JG, et al. Histological Stratification of Thick and Thin Plaque Psoriasis Explores Molecular Phenotypes with Clinical Implications. *PLoS One*, 2015; 10: e0132454.
317. Gottlieb AB, Chamian F, Masud S, Cardinale I, Abello MV, Lowes MA, et al. TNF inhibition rapidly down-regulates multiple proinflammatory pathways in psoriasis plaques. *J Immunol*, 2005; 175: 2721-2729.
318. Lowes MA, Bowcock AM, Krueger JG. Pathogenesis and therapy of psoriasis. *Nature*, 2007; 445: 866-873.
319. Lebwohl M. Psoriasis. *Lancet*, 2003; 361: 1197-1204.
320. Flytstrom I, Stenberg B, Svensson A, Bergbrant IM. Methotrexate vs. ciclosporin in psoriasis: effectiveness, quality of life and safety. A randomized controlled trial. *Br J Dermatol*, 2008; 158: 116-121.
321. Heydendael VM, Spuls PI, Opmeer BC, de Borgie CA, Reitsma JB, Goldschmidt WF, et al. Methotrexate versus cyclosporine in moderate-to-severe chronic plaque psoriasis. *N Engl J Med*, 2003; 349: 658-665.
322. Weinstein GD, Frost P. Methotrexate for psoriasis. A new therapeutic schedule. *Arch Dermatol*, 1971; 103: 33-38.
323. Benedek TG. Methotrexate: from its introduction to non-oncologic therapeutics to anti-TNF-alpha. *Clin Exp Rheumatol*, 2010; 28: S3-8.
324. Pathirana D, Ormerod AD, Saiag P, Smith C, Spuls PI, Nast A, et al. European S3-guidelines on the systemic treatment of psoriasis vulgaris. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2009; 23 Suppl 2: 1-70.
325. Gyulai R, Bagot M, Griffiths CE, Luger T, Naldi L, Paul C, et al. Current practice of methotrexate use for psoriasis: results of a worldwide survey among dermatologists. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2015; 29: 224-231.
326. Kalb RE, Strober B, Weinstein G, Lebwohl M. Methotrexate and psoriasis: 2009 National Psoriasis Foundation Consensus Conference. *J Am Acad Dermatol*, 2009; 60: 824-837.
327. Ng LC, Lee YY, Lee CK, Wong SM. A retrospective review of methotrexate-induced hepatotoxicity among patients with psoriasis in a tertiary dermatology center in Malaysia. *Int J Dermatol*, 2013; 52: 102-105.
328. Barker J, Horn EJ, Lebwohl M, Warren RB, Nast A, Rosenberg W, et al. Assessment and management of methotrexate hepatotoxicity in psoriasis patients: report from a consensus conference to evaluate current practice and identify key questions toward optimizing methotrexate use in the clinic. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2011; 25: 758-764.