

ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ПОЧЕРНІНА ВАЛЕРІЯ ВАДИМІВНА

УДК 616.517-036.17-022-078-092:612.017.1(043.3)

ДИСЕРТАЦІЯ

РОЛЬ TOLL-ПОДІБНИХ РЕЦЕПТОРІВ 2 та 4 ТИПІВ В ПАТОГЕНЕЗІ
ПРОГРЕСУЮЧОЇ СТАДІЇ ПСОРИАЗУ ВНАСЛІДОК ІНФЕКЦІЙНОЇ
ПАТОЛОГІЇ З ОБҐРУНТУВАННЯМ ДІАГНОСТИЧНИХ КРИТЕРІЇВ

Шкірні та венеричні хвороби

222 - Медицина

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії зі спеціальності 222 «Медицина», спеціалізація «Шкірні та венеричні хвороби».

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

_____ В.В. Почерніна

Науковий керівник - Дашук Андрій Михайлович
професор, доктор медичних наук

Харків – 2021

АНОТАЦІЯ

Почерніна В.В. Роль Toll-подібних рецепторів 2 та 4 типів в патогенезі прогресуючої стадії псоріазу внаслідок інфекційної патології з обґрунтуванням діагностичних критеріїв. - Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата доктора філософії за спеціальністю 222 «Медицина», спеціалізація «Шкірні та венеричні хвороби» - Харківський національний медичний університет МОЗ України, Харків, 2021.

Дисертація присвячена визначенню ролі Toll-подібних рецепторів 2 й 4 типів, судинного ендотеліального фактора, медіаторів запалення в патогенезі псоріазу в прогресуючій стадії з визначенням діагностичних імунологічних та мікробіологічних показників. В роботі обґрунтовано теоретичне та практичне вирішення актуального завдання – визначено патогенетичну роль Toll-подібних рецепторів й судинного ендотеліального фактору при псоріазі в прогресуючій стадії внаслідок інфекційної патології (колонізації умовно-патогенними і патогенними мікроорганізмами) на підставі вивчення та оцінки стану імунної резистентності організму, цитокінового балансу та мікробіологічного статусу залежно від клінічної форми захворювання.

В результаті проведеного дослідження було встановлено у 15,8% хворих локалізований псоріатичний процес, 84,2% – поширений. Максимальне значення індексу PASI в групі хворих на псоріаз склало 64,1, мінімальне - 14,1. Основні клінічні форми псоріазу у обстежених пацієнтів були представлені у 65,8% випадків вульгарною формою (локалізований вульгарний – lPsV та поширений вульгарний (dPsV), у 10,5% - краплеподібною (PsG), 7,9% - пустульозною (PsP), 7,0% - еритродермічною (PsE). Псоріаз інверсний чи згинальних поверхонь (PsF) був виявлений у

8,8% випадків. Хворі відзначали, що загострення відбувається після інфекційного захворювання.

При вивченні мікрофлори з різних біотопів шкіри у пацієнтів з псоріазом в прогресуючій стадії зазначалося більш виражене мікробне забруднення на всіх уражених псоріатичним процесом ділянках. Встановлено, що домінуючими видами мікробіоти шкіри хворих на псоріаз в прогресуючій стадії є грампозитивні коки *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus capitis*, *Streptococcus viridans*, *Streptococcus pyogenes*, *Acinetobacter spp.* та гриби *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Trichophyton interdigitale*. Показники сталості, що були розраховані на підставі частоти виявлення мікроорганізмів на уражених ділянках шкіри хворих, відрізнялися у групах з різними клінічними формами. Встановлено, що ступінь обсіменіння мікроорганізмами на уражених ділянках шкіри варіює в широких межах. Найвища щільність колонізації ділянок шкіри хворих на псоріаз в прогресуючій стадії *Staphylococcus aureus* склала при PsP – $96,9 \pm 2,7$ КУО/см² та при PsG – $92,7 \pm 2,4$ КУО/см². Менша щільність колонізації *Staphylococcus aureus* складала при PsE – $84,8 \pm 2,1$ КУО/см², dPsV – $80,4 \pm 2,6$ КУО/см², PsF – $71,2 \pm 1,8$ КУО/см² та lPsV – $66,9 \pm 1,4$ КУО/см², що перевищувало аналогічні показники інтактних ділянок цих хворих у 4 рази ($p < 0,01$). Одним з провідних мікроорганізмів у складі мікрофлори шкіри хворих на псоріаз в прогресуючій стадії при PsG ($68,2 \pm 2,6$ КУО/см²), PsP ($72,3 \pm 2,9$ КУО/см²), lPsV ($54,7 \pm 2,4$ КУО/см²) та PsF ($59,1 \pm 2,3$ КУО/см²) визначено *Acinetobacter spp.* Особливої уваги заслуговує частота виявлення *Candida albicans* у мікробіоценозі уражених ділянок шкіри при псоріазі в прогресуючій стадії незалежно від клінічної форми захворювання. За отриманими результатами найбільша щільність колонізації *Aspergillus fumigatus* на уражених ділянках шкіри була встановлена при dPsV ($24,8 \pm 0,6$ КУО/см²) та PsE ($28,3 \pm 0,9$ КУО/см²), що значно перевищувала аналогічні показники на інтактних ділянках

($1,9 \pm 0,3$ КУО/см² та $2,6 \pm 0,8$ КУО/см² відповідно, $p < 0,01$). Слід зазначити високу частоту виділення *Staphylococcus warnerii* в найбільшій кількості при dPsV – $56,1 \pm 3,4$ КУО/см² та PsP – $54,6 \pm 3,2$ КУО/см² на уражених ділянках шкіри. На шкірі обстежених осіб виявлялися також умовно-патогенні та патогенні гриби роду *Trichophyton interdigitale*, *Trichophyton rubrum* та *Malassezia furfur*. На інтактних ділянках шкіри також спостерігаються зміни в складі мікробіоценозу порівняно з контрольною групою загальна забрудненість стафілококами *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus haemolyticus* та *Staphylococcus aureus*. Бактерій роду *Acinetobacter* визначено значно більше, ніж у контрольній групі ($p < 0,01$), колонізували інтактні ділянки шкіри, їх щільність на інтактних ділянках склала при PsG ($22,8 \pm 1,9$ КУО/см²), PsP ($26,3 \pm 1,7$ КУО/см²), IPsV ($16,9 \pm 1,2$ КУО/см²) та PsF ($18,6 \pm 1,4$ КУО/см²). На чистих ділянках шкіри не були виявлені дріжджоподібні гриби роду *Candida* та гриби *Aspergillus fumigatus* при PsG та PsP, *Trichophyton interdigitale*, *Trichophyton rubrum* та *Malassezia furfur* при PsG, PsP, PsE та dPsV в прогресуючій стадії. Тож, склад мікробіоти шкіри при псоріазі в прогресуючій стадії незалежно від клінічної форми захворювання зазнає значних змін і структурних перебудов в бік збільшення числа представників транзиторної мікрофлори. При визначенні здатності провідних мікроорганізмів утворювати фактори патогенності було встановлено, що мікробіота, ізольована з ураженої ділянки у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії здатна формувати щільні біоплівки, які через добу утворювали отвори, діаметром від 2 мкм до 22 мкм й продукували планктонні клітини. Останні здатні дисемінувати інтактну шкіру, що, ймовірно, сприяє розповсюдженню псоріатичного процесу.

В результаті вивчення стану системного імунітету організму хворих на псоріаз в прогресуючій стадії встановлено характерне достовірне підвищення кількості лімфоцитів у периферичній крові, виявлено зсув лейкоцитарної формули вліво з переважанням паличкоядерних нейтрофілів: загальна

кількість лейкоцитів була достовірно вищою за контрольні величини у хворих з PsP, PsE та dPsV ($p < 0,001$). У хворих з lPsV, PsG та PsF кількість лейкоцитів мала тенденцію до збільшення ($p > 0,05$).

При аналізі основних показників клітинної ланки імунітету у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії порівнянно з контрольною групою, незалежно від клінічної форми захворювання, виявлені однотипні статистично значущі зміни: збільшення вмісту субпопуляцій $CD3^+$, $CD4^+$, $CD16^+$, $CD25^+$, $CD95^+$ -лімфоцитів та тенденція до зниження $CD8^+$ порівняно з контрольними значеннями, відмічається збільшення кількості В-лімфоцитів $CD22^+$, що є ключовими рецепторами, які модулюють проходження сигналу під час антигенної стимуляції. Вивчення стану лімфоцитів в периферичній крові встановило, що у хворих на псоріаз рівень Т-лімфоцитів, які містять на поверхні своєї мембрани рецептори $CD95^+$, значно перевищує контрольне значення, що свідчить про активацію запрограмованої загибелі лімфоцитів. Відповідно, посилення апоптозу призводить до подальших глибоких змін з дисбалансом у всіх ланках імунної системи. У той же час виявлено збільшення рівня імунорегуляторних $CD4^+$ й $CD25^+$ лімфоцитів в периферичній крові у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії, що може вказувати на розвиток аутоімунного запалення. Таким чином, процеси активації апоптозу при вираженій Т-клітинній активності є важливим патогенетичним аспектом при псоріазі.

У хворих на псоріаз в прогресуючій стадії хвороби при lPsV, PsG та PsF реєструється тенденція до збільшення в крові кількості В-лімфоцитів ($CD22^+$), а при PsE, PsP та dPsV - кількість В-лімфоцитів достовірно вище контрольних показників ($p < 0,01$). З огляду на те, що стан гуморальної ланки імунітету є одним з важливих показників імунного статусу, було проведено дослідження вмісту в сироватці крові імуноглобулінів у хворих на псоріаз в період загострення хвороби. Встановлено кількісні відмінності імуноглобулінів залежно від клінічної форми псоріазу: у хворих на PsP, PsE та dPsV достовірно збільшувався в сироватці крові рівень сироваткового IgA ($p < 0,01$), а у хворих з

PsF, PsG та IPsV вміст в сироватці крові IgA мав тенденцію до збільшення, IgM при PsP був значно підвищеним. У всіх хворих на псоріаз незалежно від клінічної форми рівень IgG достовірно збільшений ($p < 0,01$).

Порівнюючи фагоцитарну активність незмінених нейтрофілів та ефективність уловлювання антигенів в нейтрофільних позаклітинних пастках (NETs) було встановлено, що інтенсивність фагоцитозу у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії відрізняється при різних клінічних формах перебігу захворювання. Так, зафіксовано, що при низькій ефективності фагоцитозу показник кількості антигенів в NETs є максимальним: при PsP ефективність уловлювання антигенів в NETs збільшується у 7,3 рази, а при PsG – у 6,4 рази порівняно з аналогічними показниками при інших клінічних формах псоріазу: при IPsV – кількість антигенів (Ag) в NETs підвищується у 1,7 рази; dPsV – у 2,7 рази; PsE – у 3,6 рази, PsF – у 2,2 рази. Аналізуючи отримані результати встановлено, що інтенсивність фагоцитозу й вміст антигенів в NETs був підвищений порівняно з контрольними значеннями, але зафіксовано, що при досить низьких значеннях фагоцитарного числа (ФЧ) відбувається підвищення ефективності роботи NETs – вони затримують більшу кількість антигенів. Таким чином, мікробні та немікробні агенти стимулюють утворення екстрацелюлярних пасток, які здатні до формування після реалізації біологічної програми нейтрофілів, тобто після їх загибелі шляхом некрозу або апоптозу.

Для оцінки стану цитокінового профілю було визначено рівні прозапальних цитокінів IL-1 β , IL-17, TNF- α і протизапального IL-10, виявлено статистично достовірне підвищення їх вмісту в крові хворих на псоріаз ($p < 0,01$) при всіх клінічних формах. Однак, слід зазначити, що найбільш високі показники прозапальних цитокінів були виявлені в крові хворих з тяжким перебігом псоріазу: при PsE рівні IL-1 β та IL-17 підвищувалися у 7 разів, TNF- α – у 2,1 рази; при PsP рівень IL-1 β був підвищений у 6,1 рази, IL-17 - у 5,4 рази, а TNF- α – у 2 рази; при PsG - вміст IL-1 β був підвищений у 6,4 рази, IL-17 - у 6,2 рази, TNF- α – у 2,1 рази; при

PsF рівень IL-1 β підвищувався у 5,7 рази, IL-17 - у 4,9 рази, TNF- α – у 1,7 рази; при dPsV рівні IL-1 β підвищувалися у 3,9 рази, IL-17 - у 3,8 рази, TNF- α – у 1,7 рази, а при lPsV рівні IL-1 β були підвищені у 3,1 рази, IL-17 - у 2,9 рази, а TNF- α – у 1,4 рази, тож вміст прозапальних цитокінів при всіх клінічних формах псоріазу в прогресуючій стадії був підвищеним, однак найбільші показники значення цитокінів визначено при PsE, PsP та PsG клінічних формах захворювання порівняно з аналогічними показниками групи контролю ($p < 0,01$). Причому показники цитокінового профілю зростали зі збільшенням площі і вираженості запальних змін. Слід зазначити, що у хворих з тяжкими формами псоріазу (PsE, PsP, PsG, PsF, dPsV) вміст IL-1 β , IL-17 та TNF- α в сироватці крові перевищував аналогічні у хворих з lPsV, що може свідчити про більш виражений прозапальний зсув імунорегуляторних процесів і активацію запалення при тяжкому перебігу псоріазу. При дослідженні протизапального цитокіну IL-10, встановлено його достовірне підвищення у хворих з тяжким перебігом псоріатичного процесу (PsE, PsP, PsG, PsF, dPsV). У пацієнтів lPsV групи вміст IL-10 мав лише тенденцію до підвищення в порівнянні з контрольною групою ($p > 0,05$), що також свідчить про порушення імунорегуляторних процесів. Характерною особливістю імунологічних змін у хворих на псоріаз стало порушення співвідношень вмісту IL-1 β до IL-10: так у хворих PsE групи показник співвідношення IL-1 β /IL-10 підвищився у 2,1 рази, PsG - у 2,2 рази, PsV (lPsV та dPsV) – у 2 рази, але найбільше збільшення цього показника спостерігалось у хворих на PsP (у 2,7 рази) та PsF (у 2,6 рази) в порівнянні з показником контрольної групи ($p < 0,01$).

Натепер встановлено, що в патогенезі псоріазу ключову роль відіграє IL-17, він запускає тканинні реакції, що призводять до міграції нейтрофілів в зону запалення. Аналізуючи результати дослідження, встановлено достовірно більш високий вміст IL-17 в сироватці крові всіх хворих на псоріаз в прогресуючій стадії в порівнянні з контролем ($p < 0,01$). Встановлена кореляція рівня IL-17 й величини PASI підтверджує значення даного

цитокіну в сироватці крові хворих на псоріаз в прогресуючій стадії з тяжким перебігом. Враховуючи виражену прозапальну активність IL-17, здатність індукувати синтез різних медіаторів запалення і сприяти розвитку аутоімунних патологічних реакцій, було встановлено, що IL-17 може бути додатковим критерієм діагностики захворювання.

Незважаючи на безперечний факт, що активовані Т-клітини мають вирішальне значення для розвитку і персистенції псоріатичного ураження, патофізіологія захворювання не може бути пояснена виключно роллю Т-лімфоцитів. Найменш вивченою функцією ендотелію при псоріазі є регуляція росту судин, що здійснюється за допомогою ростових факторів, синтез яких різко посилюється при активації ендотелію. Одним із потужних промоторів ангиогенезу є васкулоендотеліальний фактор росту (VEGF). В результаті проведеного дослідження було встановлено, що рівень VEGF в сироватці крові хворих на вульгарний псоріаз складав $189,8 \pm 11,6$ пг/мл (lPsV) та $412,6 \pm 17,2$ пг/мл (dPsV), найбільш високі показники VEGF були визначені при PsP – $469,4 \pm 18,3$ пг/мл та PsE - $443,2 \pm 17,5$ пг/мл ($p < 0,01$). Проведені дослідження виявили суттєве підвищення рівня VEGF у крові хворих на PsG, dPsV, PsE та PsP в прогресуючій стадії відповідно у 2 рази, 2,4 рази, у 2,5 рази та у 2,7 рази порівняно з контрольними значеннями. Тенденцію до підвищення мали показники VEGF при PsF та lPsV. Звертає на себе увагу той факт, що різке підвищення вмісту VEGF спостерігається у крові пацієнтів з тяжким псоріазом. Аналіз вмісту VEGF залежно від частоти рецидивів псоріазу виявив істотне підвищення рівня VEGF у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії, рецидивування захворювання у яких відбувалося частіше двох разів на рік відносно аналогічного при рецидивах 1-2 рази за рік ($p < 0,01$), що можна пояснити тим, що синтезований в ушкодженій шкірі VEGF поступає у системний кровотік і впливає на проникність мікросудин усього організму, тому рівень VEGF у пацієнтів з тяжким псоріазом і частими рецидивами може бути одним з прогностичних критеріїв несприятливого перебігу захворювання. Визначено позитивний кореляційний

зв'язок у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії рівня VEGF при PsP, PsE, PsG та dPsV з частотою рецидивів та площею ураження псоріатичним процесом шкіри. Тож, підвищення вмісту VEGF в крові хворих на псоріаз в прогресуючій стадії при PsE, PsP, dPsV та PsG свідчить про активний патологічний ангиогенез та ендотеліальну дисфункцію, що можна оцінити як відповідь на неадекватне утворення в ендотелії біологічно активних речовин.

При визначенні ролі Toll-подібних рецепторів (TLR), які характеризуються як рецептори розпізнавання пускових екзогенних факторів виникнення псоріазу, які здатні активувати різні типи імунних клітин, було встановлено, що рівень експресії TLR2 та TLR4 при різних клінічних формах псоріазу в прогресуючій стадії відрізнявся, а саме: мала місце тенденція до підвищення експресії TLR4 на лімфоцитах при PsF ($4,8 \pm 0,31$ mfi) та майже не відрізнялася від контрольних значень ($3,3 \pm 0,26$ mfi) при lPsV ($3,5 \pm 0,29$ mfi). Встановлено статистично достовірне підвищення експресії TLR4 при інших клінічних формах перебігу псоріазу в прогресуючій стадії: при PsP рівень експресії TLR4 був збільшений у 3,2 рази, при PsG – у 2,8 рази, при PsE – у 2,7 рази, при dPsV – у 2 рази порівняно з контролем. При визначенні експресії TLR2 на лімфоцитах було встановлено, що рівень її достовірно перевищив аналогічні показники контрольної групи: при PsP та PsG - у 2 рази, PsE – у 1,6 рази, dPsV – у 2 рази, PsF та lPsV – у 1,5 рази. Результати дослідження можна пояснити тим, що TLR2 та TLR4 активуються факторами патогенності мікроорганізмів, які вегетують, як на уражених, так й на інтактних ділянках шкіри хворих на псоріаз в прогресуючій стадії захворювання, їх експресія підвищується за дії прозапальних цитокінів. Незначне збільшення експресії TLR4 при lPsV та PsF можливо пов'язано з надмірною стимуляцією Toll-рецепторів екзогенними лігандами до початку або в дебюті захворювання і розвитком стану рефрактерності TLR в подальшому розвитку захворювання і в ряді випадків є захисною реакцією від гіперергічного запалення та носить транзиторний характер. У випадках PsP, PsE, PsG, dPsV спостерігалось достовірне посилення експресії TLR2 та

TLR4 на лімфоцитах, що свідчить про гіперергічну запальну реакцію з залученням в процес судинного ендотелію. Тож, зростання експресії 2 та 4 типів Toll-рецепторів на лімфоцитах свідчить про активність аутоімунного процесу.

Таким чином, у дисертації наведено теоретичне узагальнення і нове вирішення наукового завдання з визначення патогенетичної ролі Toll-подібних рецепторів 2 та 4 типів при псоріазі в прогресуючій стадії внаслідок інфекційної патології на підставі вивчення показників вродженого та адаптивного імунітету, цитокінового балансу й мікробіологічного статусу залежно від клінічної форми захворювання та показника PASI.

Ключові слова: патогенез, псоріаз, прогресуюча стадія, клінічні форми, мікробіоценоз, вроджений та адаптивний імунітет, TLR2, TLR4, VEGF.

ANNOTATION

Pochernina V.V. The role of Toll-like Receptors of Subgroups 2 and 4 in the Pathogenesis of the Advanced Stage of Psoriasis as a Result of Infectious Pathology with Justification of Diagnostic Criteria. – Research Project as manuscript.

Thesis for a Doctor of Philosophy in the speciality 222 – Medicine, specialization “Skin and Venereal Diseases”. – Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2021.

The thesis is devoted to determining the role of Toll-like receptors of subgroups 2 and 4, vascular endothelial growth factor, inflammatory mediators in the psoriasis pathogenesis in the advanced stage of the disease with the determination of diagnostic immunological and microbiological parameters. The work substantiates the theoretical and practical solution of the urgent problem—the definition of the pathogenetic role of Toll-like receptors and vascular endothelial growth factor in psoriasis as a result of infectious pathology in the advanced stage of the disease based on the study and assessment of the state of the leading criteria of the body's immune resistance, cytokine balance, and microbiological status depending on a clinical form of the disease.

As a result of the study, it was found that in 18 (15.8%) cases the psoriatic process was localized; in 96 cases (84.2%), it was diffuse. The maximum value of the PASI index in the group of patients with psoriasis is 64.1, the minimum one is 14.1. The main clinical forms of the psoriasis course in the examined patients were represented by the vulgar form in 65.8% of cases (localized vulgar—lPsV and diffuse vulgar (dPsV), the guttate form (PsG)—in 10.5%, the pustular one (PsP)—in 7.9%, the erythrodermic one (PsE)—in 7.0%, and flexural psoriasis (PsF) was found in 8.8% of cases. Patients noted that exacerbation occurs after infectious inflammation. When studying the microflora from different skin biotopes in patients with psoriasis in the advanced stage, a more pronounced microbial

contamination was noted in all areas affected by the psoriatic process: it was found that the dominant species of skin microbiota of patients with psoriasis in the advanced stage are gram-positive cocci: *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus capitis*, *Streptococcus viridans*, *Streptococcus pyogenes*, *Acinetobacter* spp., and fungi: *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Trichophyton interdigitale*. Resistance indices, which were calculated on the basis of the frequency of detection of microorganisms on the affected skin areas of patients, differed in groups with different clinical course. It was stated that the degree of contamination by microorganisms on the affected skin areas varies within wide limits: the average density of colonization of the skin areas of patients with psoriasis in the advanced stage affected by *Staphylococcus aureus* was maximum with PsP – $96.9 \pm 2.7 \text{ CFU/cm}^2$ and $92.7 \pm 2.4 \text{ CFU/cm}^2$ with PsG; the lower density of colonization with *Staphylococcus aureus* was $84.8 \pm 2.1 \text{ CFU/cm}^2$ with PsE, $80.4 \pm 2.6 \text{ CFU/cm}^2$ with dPsV, $71.2 \pm 1.8 \text{ CFU/cm}^2$ with PsF, and $66.9 \pm 1.4 \text{ CFU/cm}^2$ with lPsV, which exceeded similar indicators of intact areas these patients 4 times. One of the leading microorganisms in the skin microflora of patients with psoriasis in the advanced stage with PsG ($68.2 \pm 2.6 \text{ CFU/cm}^2$), PsP ($72.3 \pm 2.9 \text{ CFU/cm}^2$), lPsV ($54.7 \pm 2.4 \text{ CFU/cm}^2$), and PsF ($59.1 \pm 2.3 \text{ CFU/cm}^2$) becomes *Acinetobacter* spp. The frequency of detection of *Candida albicans*, which occurs in microbiocenosis of affected skin areas in the advanced stage of psoriasis, regardless of the clinical form of the disease, deserves special attention. According to the results obtained, the highest density of *Aspergillus fumigatus* colonization on the affected skin areas was found at: dPsV ($24.8 \pm 0.6 \text{ CFU/cm}^2$) and PsE ($28.3 \pm 0.9 \text{ CFU/cm}^2$), which significantly exceeded similar indicators in intact areas: $1.9 \pm 0.3 \text{ CFU/cm}^2$ and $2.6 \pm 0.8 \text{ CFU/cm}^2$, respectively, $p < 0.01$. It should be noted the high frequency of isolation of *Staphylococcus warneri* found in large numbers: with dPsV – $56.1 \pm 3.4 \text{ CFU/cm}^2$ and PsP – $54.6 \pm 3.2 \text{ CFU/cm}^2$ on the affected skin areas. Opportunistic and pathogenic fungi of *Trichophyton interdigitale*,

Trichophyton rubrum, and *Malassezia furfur* were also found on the skin of the examined persons. On intact skin areas, changes in the composition of microbiocenosis are also observed in comparison with the control group: there is a general contamination with staphylococci: *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus haemolyticus*, and *Staphylococcus aureus*. Bacteria of *Acinetobacter* significantly more colonized intact skin areas than in the control group and their density in intact areas was: with PsG ($22.8 \pm 1.9 \text{ CFU/cm}^2$), PsP ($26.3 \pm 1.7 \text{ CFU/cm}^2$), lPsV ($16.9 \pm 1.2 \text{ CFU/cm}^2$), and PsF ($18.6 \pm 1.4 \text{ CFU/cm}^2$) $p < 0.01$. Yeast-like *Candida* fungi and *Aspergillus fumigatus* fungi were not found with PsG and PsP, *Trichophyton interdigitale*, *Trichophyton rubrum*, and *Malassezia furfur* on clean skin areas with PsG, PsP, PsE, and dPsV of clinical forms of the advanced stage of psoriasis. Thus, the composition of the skin microbiota in psoriasis in the advanced stage, regardless of the clinical form of the disease course, undergoes significant changes and structural changes towards an increase in the number of representatives of transient microflora. When determining the ability of the leading microorganisms to create one of the main factors of pathogenicity, it was found that the microbiota from patients with psoriasis in the advanced stage isolated from the affected area was able to form dense biofilms, which formed holes with a diameter of $2 \mu\text{m}$ to $22 \mu\text{m}$ in a day and produced planktonic cells that were able to disseminate onto intact skin, which contributes to the spread of the psoriatic process and the risk of complications.

As a result of studying the state of systemic immunity of the body of patients with psoriasis in the advanced stage, a characteristic significant increase in the number of lymphocytes in the peripheral blood was established, a shift to the left in the leukocyte formula with a predominance of stab neutrophils was found: the total number of leukocytes was significantly higher than the control values in patients with PsP, PsE, and dPsV of clinical forms of psoriasis ($p < 0.001$). The number of leukocytes in patients with lPsV, PsG, and PsF tended to increase.

When analyzing the main indicators of the cellular component of the immune system in patients with psoriasis in the advanced stage compared with the control group regardless of the clinical form of the disease, statistically significant changes of the same type were revealed, as follows: an increase in the content of subpopulations of $CD3^+$, $CD4^+$, $CD16^+$, $CD25^+$, $CD95^+$ lymphocytes and a tendency towards a decrease in $CD8^+$ compared with control values; there is an increase in the number of $CD22^+$ B-lymphocytes, which are key receptors that modulate signal transmission during antigenic stimulation. The study of the state of apoptosis of lymphocytes in the peripheral blood has found that in patients with psoriasis the level of T-lymphocytes, which $CD95^+$ receptors contain on the surface of their membrane, significantly exceeds the values of the control ones, which indicates the activation of programmed death of lymphocytes. Accordingly, increased apoptosis leads to further profound changes with imbalances in all parts of the immune system. At the same time, an increase in the level of immunoregulatory $CD4^+$ and $CD25^+$ lymphocytes in the peripheral blood was revealed in patients with psoriasis in the advanced stage, which indicates the development of autoimmune inflammation. Thus, the process of the apoptosis activation with pronounced T-cell activity is an important pathogenetic aspect in psoriasis.

In patients with psoriasis in the advanced stage of the disease with lPsV, PsG, and PsF, there is a tendency to an increase in the number of B-lymphocytes ($CD22^+$) in the blood, and with PsE, PsP, and dPsV, the number of B-lymphocytes is significantly higher than the control values ($p < 0.01$). Considering that the state of the humoral component of the immune system is one of the important indicators of the immune status, the content of immunoglobulins in the blood serum of patients with psoriasis during an exacerbation of the disease was set. Differences in the content of immunoglobulins were established depending on a clinical form of psoriasis: in patients with PsP, PsE, and dPsV psoriasis, the serum IgA concentration significantly increased in the blood serum ($p < 0.01$), and in patients with PsF, PsG and lPsV, the serum IgA concentration tended to increase, the IgM concentration in PsP was

significantly increased. In all patients with psoriasis, regardless of a clinical form, the IgG concentration was significantly increased ($p < 0.01$).

Comparing the phagocytic activity of altered neutrophils and the efficiency of trapping antigens in neutrophil traps, it was found that the intensity of phagocytosis in patients with psoriasis in the advanced stage differs in different clinical forms of the disease course. So, it was recorded that with a low rate of phagocytosis efficiency, the indicator of the number of antigens in NETs is maximum: with PsP, the efficiency of trapping antigens in NETs increases by 7.3 times, and with PsG—by 6.4 times compared with similar indicators for other clinical forms of psoriasis: with lPsV, the amount of Ag in NETs increases by 1.7 times, with dPsV—by 2.7 times, with PsE—by 3.6 times, and with PsF—by 2.2 times. Analyzing the results obtained, it was found that the intensity of phagocytosis and the content of antigens in NETs were increased compared to the control values, but it was stated that at sufficiently low values of phagocytic sensitivity, the efficiency of NETs increases—they retain a greater number of antigens. Thus, microbial and non-microbial agents stimulate the formation of extracellular traps, which are capable of forming after the implementation of the biological program of neutrophils, that is, after their death by necrosis or apoptosis.

In order to assess the state of the cytokine profile, the levels of pro-inflammatory cytokines: IL-1 β , IL-17, and TNF- α , and anti-inflammatory IL-10 were determined, and a statistically significant increase in their concentrations in the blood of patients with psoriasis ($p < 0.01$) with all clinical forms. However, it should be noted that the highest levels of pro-inflammatory cytokines were found in the blood of patients with severe psoriasis: with PsE, the levels of IL-1 β and IL-17 increased by 7 times, TNF- α —by 2.1 times; with PsP, the level of IL-1 β was increased by 6.1 times, IL-17—by 5.4 times, and TNF- α —by 2 times; with PsG, the content of IL-1 β was increased by 6.4 times, IL-17—by 6.2 times, TNF- α —by 2.1 times; with PsF, the concentration of IL-1 β increased by 5.7 times, IL-17—by 4.9 times, TNF- α —by 1.7 times; with dPsV, the level of IL-1 β increased by 3.9 times, IL-17—by 3.8 times, TNF- α —by 1.7 times, and with lPsV, the level of

IL-1 β was increased by 3.1 times, IL-17—by 2.9 times, and TNF- α —by 1.4 times; therefore, the concentration of pro-inflammatory cytokines in all clinical forms of the course of psoriasis in the advanced stage was increased, however, the highest indicators of the content of cytokines were observed in PsE, PsP, and PsG of clinical forms of the disease course compared with similar indicators in the control group ($p < 0.01$). Moreover, the indicators of the cytokine profile increased with an increase in the area and severity of inflammatory changes. It should be noted that in patients with severe forms of psoriasis (PsE, PsP, PsG, PsF, dPsV), the content of IL-1 β , IL-17, and TNF- α in the blood serum exceeded those in patients with lPsV, which may indicate a more pronounced pro-inflammatory displacement of immunoregulatory processes and activation of inflammation in severe psoriasis. In the study of the anti-inflammatory cytokine IL-10, its significant increase was found in patients with severe psoriatic process (PsE, PsP, PsG, PsF, dPsV). In patients of the lPsV group, the content of IL-10 had only a tendency to increase in comparison with the control group ($p < 0.05$), which also indicates a violation of immunoregulatory processes. A characteristic feature of the immunological changes in patients with psoriasis was a violation of the ratios of the IL-1 β content in IL-10: for example, in patients with the PsE group, the IL-1 β /IL-10 ratio increased by 2.1 times, PsG—by 2.2 times, PsV (lPsV and dPsV)—by 2 times, but most of all violations of this indicator were observed in patients with PsP—by 2.7 times and PsF—by 2.6 times compared with the control group.

To date, it has been established that IL-17 plays a key role in the pathogenesis of psoriasis; it triggers tissue reactions leading to the migration of neutrophils to the inflammatory zone. Analyzing the results of the study, a significantly higher content of IL-17 in the blood serum of all patients with psoriasis in the advanced stage was found in comparison with the control ($p < 0.01$). The correlation between the level of IL-17 and the value of the PASI index is confirmed by the overexpression of this cytokine in the blood serum of patients with psoriasis in the advanced stage with a severe course. Therefore, given that IL-17 exhibits a pronounced pro-inflammatory activity, that it is able to induce the

synthesis of various inflammatory mediators, contributing to the development of autoimmune pathological reactions, in order to clarify the role of IL-17 in the pathogenesis of psoriasis, it was found that IL-17 plays the role of an additional criterion for diagnosing the disease.

Despite the indisputable fact that activated T cells are critical for the development and persistence of psoriatic lesions, the pathophysiology of the disease cannot be explained solely by the role of T lymphocytes. The least studied function of the endothelium in psoriasis is the regulation of vascular growth carried out with the help of growth factors, the synthesis of which is sharply increased upon activation of the endothelium. One of the potent promoters of angiogenesis is vascular endothelial growth factor (VEGF). As a result of the study, it was found that the level of VEGF in the blood serum of patients with psoriasis vulgaris was $189.8 \pm 11.6 \text{ pg/ml}$ (with the localized course—IPsV) and $412.6 \pm 17.2 \text{ pg/ml}$ (with the diffuse one—dPsV), the highest VEGF values were determined at PsP – $469.4 \pm 18.3 \text{ pg/ml}$ and PsE – $443.2 \pm 17.5 \text{ pg/ml}$ ($p < 0.01$). The conducted studies have revealed a significant increase in the VEGF level in the blood of patients with PsG, dPsV, PsE, and PsP psoriasis in the advanced stage of the disease by 2 times, 2.4 times, 2.5 times, and 2.7 times, respectively, compared with the control values. The VEGF indices in PsF and IPsV tended to increase. Attention is drawn to the fact that a sharp increase in the VEGF content is observed in the blood of patients with severe psoriasis. Analysis of the VEGF content depending on the frequency of psoriasis relapses revealed a significant increase in the VEGF level in patients with psoriasis in the advanced stage, in whom the disease recurred more often twice a year compared to the same with relapses 1-2 times a year ($p < 0.01$), which can be explained by the fact that VEGF synthesized in the damaged area of the skin enters the systemic circulation and affects the permeability of microcirculation vessels of the whole body, therefore, the analysis of the VEGF level in patients with severe psoriasis and frequent relapses can be one of the prognostic criteria for an unfavorable course diseases. Clinical and pathogenetic evaluation of the VEGF content in the blood of patients with psoriasis in the advanced stage with PsP, PsE,

PsG, and dPsV has shown a positive correlation with the frequency of relapses and the area of the skin areas affected by the psoriatic process. Thus, an increase in the content of VEGF in the blood of patients with psoriasis in the advanced stage with PsE, PsP, dPsV, and PsG of clinical forms of the disease indicates active pathological angiogenesis and endothelial dysfunction, which can be assessed as a response to the inadequate formation of biologically active substances in the endothelium.

When determining the leading criteria for aetiopathogenesis of psoriasis by establishing the role of Toll-like receptors (TLR), which are characterized as receptors for recognizing the triggering exogenous factors of psoriasis, which are capable of activating various types of immune cells, it was found that the expression level of TLR2 and TLR4 in different clinical forms of psoriasis in the advanced stage was different, namely: there was a tendency to an increase in TLR4 expression on lymphocytes with PsF (4.8 ± 0.31 mfi) and almost did not differ from the control values (3.3 ± 0.26 mfi) with lPsV (3.5 ± 0.29 mfi). Statistically significant results on an increase in TLR4 expression were obtained with other clinical forms of psoriasis in the advanced stage: with PsP, the expression level of TLR4 was increased by 3.2 times, with PsG—by 2.8 times, with PsE—by 2.7 times, with dPsV—by 2 times compared to the control. When determining the expression of TLR2 on lymphocytes, it was found that its level significantly exceeded similar indicators of the control group: with PsP and PsG—by 2 times, with PsE—by 1.6 times, with dPsV—by 2 times, with PsF and lPsV—by 1.5 times. The results obtained from the study can be explained by the fact that TLR2 and TLR4 are activated by pathogenic factors of microorganisms that vegetate both on the affected and intact skin areas of patients with psoriasis in the advanced stage of the disease, their expression increases under the action of proinflammatory cytokines. A slight increase in TLR4 expression in lPsV and PsF is possibly associated with excessive stimulation of Toll-like receptors by exogenous ligands at the onset or at the onset of the disease and the development of a TLR refractory state in the further development of the disease, as well as in some cases, it is a protective

reaction against hyperergic inflammation and it is transient. In the cases of PsP, PsE, PsG, dPsV, a significant increase in the expression of TLR2 and TLR4 on lymphocytes was observed, which indicates a hyperergic inflammatory reaction with the involvement of the vascular tract in the process. Therefore, an increase in the expression of research subgroups of Toll-like receptors on lymphocytes indicates the activity of the autoimmune process.

Thus, the thesis provides a theoretical generalization and a new solution to the scientific problem of determining the pathogenetic role of Toll-like receptors of subgroups 2 and 4 in psoriasis in the advanced stage as a result of infectious pathology based on the study of the leading criteria of the state of innate and adaptive immunity, cytokine balance, and microbiological status depending on the clinical form of the disease and the PASI score.

Keywords: pathogenesis, psoriasis, advanced stage, clinical forms, microbiocenosis, innate and adaptive immunity, TLR2, TLR4, VEGF.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Видання, у яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Дащук А. М. TOLL-подобные рецепторы и их роль в этиопатогенезе псориаза / Монографія // А. М. Дащук, В. В. Почернина. – [Saarbrücken] : Lap Lambert Academic Publishing, 2015. – 47 с. *(особистий внесок здобувача: збір лабораторних аналізів, статистичний аналіз, формування висновків, підготовка рукопису).*

2. Daschuk A.M., Pochernina V.V. TLR expression on peripheral blood monocytes in patients with psoriasis. Wiadomości Lekarskie, tom LXXIII, nr 2. Polska: Wydawnictwo Aluna. 2020. P.401-404. Scopus *(особистий внесок здобувача: обґрунтовано методологію дослідження, зроблено та математично оброблено результати, підготовлено статтю до друку).*

3. Почерніна В.В. Роль ендотеліального фактору росту судин у розвитку різних форм псоріазу. Медицина сьогодні і завтра. 2020. Том 89 № 4. С. 42–46.

4. Почерніна В.В. Роль Toll-подібних рецепторів 2 та 4 типів в патогенезі прогресуючої стадії різних клінічних типів псоріазу. Експериментальна і клінічна медицина. 2020. Том 89 № 4.

5. Дащук А.М., Почерніна В.В. Спосіб діагностики псориатичної еритродермії / Патент України на винахід // UA 118802, номер заявки а 2017 01630, дата пріоритету 11.03.2019 Публікація відомостей про видачу патенту 11.03.2019, Бюл. № 5.

Видання, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

6. Дащук А.М., Почерніна В.В. Toll-подібні рецептори та їх експресія при псоріазі. Медичний форум. 2015. №6(06). С48-50.

7. Почерніна В.В., Дащук А.А. Toll-подібні рецептори та їх роль у патогенезі псоріазу. Дерматологія та венерологія. 2017. №3(77). С.100-101.

8. Pochernina V.V. TOLL-подобные рецепторы 4 и 9 типа в этиопатогенезе псориаза. Матеріали XXI міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених присвяченого 60-річчю Тернопільського

державного медичного університету ім.. І.Я.Горбачеського МОЗ України 24-26 квітня 2017 р / Укрмедкнига. – Тернопіль. – 2017. – С.185.

9. Pochernina V.V., Daschuk A.A. Toll-like receptors 4 and 9 types and their role in the pathogenesis of psoriasis. Український журнал дерматології, венерології, косметології. 2017 № 4 (67) С 65..

10. Daschuk A.M, PocherninaV.V. Toll-like receptors 4 and 9 types and their role in the pathogenesis of psoriasis. Relevant issues of modern medicine: the experience of Poland and Ukraine: International research and practice conference, Lublin, October 20-21, 2017/ Lublin, Republic of Poland. 2017. №1 Р.79-82.

11. Почерніна В.В. TOLL-подібні рецептори 4 та 9, їх роль в етіопатогенезі псоріазу. Медицина третього тисячоліття: матеріали міжвузівської конференції молодих вчених та студенті, Харків 16-17 січня 2017 р.: збірник тез/ Х., ХНМУ, 2017. – С. 318-319.

12. Почерніна В.В., Дащук А.А.Тoll-подібні рецептори та їх роль у патогенезі шкірних захворювань на прикладі псоріазу. Актуальні проблеми дерматології, венерології та ВІЛ/СНІД-інфекції: матеріали наук.-прак. конф (з між нар. участю), присвяч. 170-річчю з дня народження приват-доцента В.Г.Порай-Кошица., Харків 15 листопада 2017 р./ «Водний спектр». 2017. С.118-123.

13. PocherninaV.V.,Daschuk A.A. Psoriasis. Toll-like receptors in it pathogenesis. Advances of science: Proceedings of articles the international scientific conference. Czech Republic, Karlovy Vary – Ukraine, Kyiv, 6 April 2018 [Electronic resource] / Editors prof. L.N. Katjuhin, I.A. Salov, I.S. Danilova, N.S. Burina. – Electron. txt. d. (1 файл 3 MB). – Czech Republic, Karlovy Vary: Skleněný Můstek – Ukraine, Kyiv: MCNIP. 2018. P. 211-215.

14. Дащук А.А, Почерніна В.В. Дослідження TOLL-подібних рецепторів у патогенезі псоріазу. Світова медицина: сучасні тенденції та фактори розвитку : матеріали науково-практичної конференції, Львів, 26-27 січня: ГО «Львівська медична спільнота». 2018. С.50-54.

15. Дашук А.А., Почерніна В.В. The role of TOLL-like receptors in the pathogenesis of psoriasis. Актуальні проблеми дерматології, венерології та ВІЛ/СНІД-інфекції: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю), присвячена 145-річчю з дня народження професора Соболева Л.А., Харків 16 листопада 2018 р./ «Водний спектр Джі-Ем-Пі». 2018. С. 46-50.

16. Почерніна В.В., Дашук А.А. Дослідження Toll-подібних рецепторів щодо патогенезу псоріазу. Забезпечення здоров'я нації та здоров'я особистості як пріоритетна функція держави: матеріали науково-практичної конференції, Одеса, 19-20 січня: ГО «Південна фундація медицини». 2018. С.60-65.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	26
ВСТУП.....	27
РОЗДІЛ 1 СУЧАСНИЙ ПОГЛЯД НА РОЛЬ TOLL-ПОДІБНИХ РЕЦЕПТОРІВ, ІМУННОГО, ЦИТОКІНОВОГО Й МІКРОБІОЛОГІЧНОГО СТАТУСУ У ПАТОГЕНЕЗІ ПСОРИАЗУ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....	37
1.1 Сучасні уявлення про патофізіологічний розвиток порушення мікробіоценозу шкіри при псоріазі із потенційною загрозою виникнення запальних ускладнень.....	38
1.2 Вплив факторів екзогенного та ендогенного походження на імунний та цитокіновий стан організму при псоріазі.....	47
1.3 Функціональне значення активності нейтрофілів в патогенезі псоріазу.....	53
1.4 Патогенетичне значення Toll-подібних рецепторів у розвитку та перебігу псоріазу.....	55
1.5 Патофізіологічні механізми активації васкулярного ендотеліального фактору росту (VEGF) при псоріазі.....	58
Висновок до розділу 1.....	61
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	62
2.1 Об'єкти і матеріал дослідження.....	62
2.2 Методи дослідження.....	69
РОЗДІЛ 3 КЛІНІЧНА ТА МІКРОБІОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ХВОРИХ НА ПСОРИАЗ В ПРОГРЕСУЮЧІЙ СТАДІЇ ЗАЛЕЖНО ВІД КЛІНІЧНОЇ ФОРМИ.....	77
3.1 Клінічна оцінка пацієнтів, хворих на псоріаз в	

прогресуючій стадії, клінічний випадок.....	77
3.2. Структура мікробіоценозу шкіри хворих на псоріаз в прогресуючій стадії.....	83
3.3 Мікробний фактор в патогенезі псоріазу в прогресуючій стадії залежно від клінічної форми захворювання.....	93
Висновки до розділу 3.....	96
РОЗДІЛ 4 ВИЗНАЧЕННЯ ПАТОГЕНЕТИЧНОЇ РОЛІ TOLL-ПОДІБНИХ РЕЦЕПТОРІВ ТА VEGF ПРИ ПСОРИАЗІ В ПРОГРЕСУЮЧІЙ СТАДІЇ ЗАЛЕЖНО ВІД КЛІНІЧНОЇ ФОРМИ ЗАХВОРЮВАННЯ	98
4.1 Встановлення ролі Toll - подібних рецепторів (TLR2 та TLR4) в імунопатогенезі псоріазу прогресуючої стадії різних клінічних форм захворювання.....	98
4.2 Визначення вмісту та встановлення ролі VEGF в патогенезі псоріаза в прогресуючій стадії залежно від клінічної форми захворювання	111
Висновки до розділу 4.....	116
РОЗДІЛ 5 ОСОБЛИВОСТІ ІМУНОГО ТА ЦИТОКІНОВОГО СТАНУ ПРИ ПСОРИАЗІ В ПРОГРЕСУЮЧІЙ СТАДІЇ ЗАЛЕЖНО ВІД КЛІНІЧНОЇ ФОРМИ ЗАХВОРЮВАННЯ	119
5.1. Особливості змін клітинної та гуморальної ланок імунітету при псоріазі в прогресуючій стадії залежно від клінічної форми захворювання.....	119
5.2. Значення активності нейтрофільних гранулоцитів при псоріазі в прогресуючій стадії залежно від клінічної форми захворювання.....	128
5.3 Оцінка рівню цитокінового балансу у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії залежно від клінічної форми захворювання.....	133

Висновки до розділу 5.....	150
РОЗДІЛ 6 ХАРАКТЕРИСТИКА МІЖКЛІТИННИХ ВЗАЄМОЗВ'ЯЗКІВ TOLL-ПОДІБНИХ РЕЦЕПТОРІВ, VEGF, ПОКАЗНИКІВ ІМУННОГО ТА ЦИТОКІНОВОГО СТАТУСУ В ПАТОГЕНЕЗІ ПСОРІАЗУ В ПРОГРЕСУЮЧІЙ СТАДІЇ ЗАЛЕЖНО ВІД КЛІНІЧНОЇ ФОРМИ ЗАХВОРЮВАННЯ.....	152
Висновки до розділу 6.....	159
РОЗДІЛ 7. АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	160
ВИСНОВКИ.....	179
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	182
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	183
ДОДАТОК А.....	209

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

PsV – вульгарна форма псоріазу (*psoriasis vulgaris*)

IPsV – локалізована вульгарна форма псоріазу

dPsV – поширена вульгарна форма псоріазу

PsG – краплеподібна форма псоріазу (*guttate psoriasis*)

PsP – пустульозна форма

PsE – еритродермічна форма

PsF – псоріаз згинальних поверхонь (*flexural psoriasis*)

CD3⁺ - кластер диференціації Т-клітин

CD4⁺ - Т-хелпери

CD8⁺ - цитотоксичні Т-клітини

CD16⁺ - нейтрофіли, моноцити, макрофаги

CD22⁺ - натуральні В-клітини

CD25⁺ - регуляторні, активовані Т-лімфоцити

CD95⁺ - апоптичні клітини

IgG – імуноглобулін G

IgM – імуноглобулін M

IL-1 β - інтерлейкін 1 β

IL-6 - інтерлейкін 6

IL-10 – інтерлейкін 10

IL-17 – інтерлейкін 17

TNF α - tumor necrosis factor- α , фактор некрозу пухлини

PAMPs - pathogen-associated molecular patterns

TLR2 – 2 тип Toll-подібних рецепторів

TLR4 – 4 тип Toll-подібних рецепторів

NETs – нейтрофільні позаклітинні пастки

PASI - Psoriasis Area and Severity Index

VEGF - васкуло-ендотеліальний фактор росту

ВСТУП

Псоріаз залишається одним з актуальних і складних захворювань з огляду на патогенетичні особливості як маніфестації, так й перебігу [37, 82, 91]. Проблема вивчення причин виникнення та механізмів розвитку псоріазу з визначенням стану імунної системи цитокінового балансу й мікробіоценозу шкіри та розробка підходів до профілактики рецидивів є однією з актуальних в медицині, що пояснюється високим рівнем захворюваності на цей дерматоз з хронічним рецидивуючим перебігом, тривалими строками непрацездатності, що спричиняє психосоціальну дезадаптацію хворих [3, 13, 27].

Досі дискутуються питання етіології псоріазу, тривають багаточисельні дослідження щодо вивчення патогенезу, а сучасні схеми щодо профілактичних засобів рецидивів та віддалених результатів не завжди є ефективними і безпечними [11, 23]. Все це диктує необхідність активних пошуків нових підходів до визначення провідних ланок механізму виникнення псоріазу з урахуванням клінічної форми захворювання і своєчасної діагностики цього дерматозу. Дослідження останніх років показали, що зміна в складі мікробіоценозу шкіри пов'язана з виникненням псоріазу, тому що коменсальна шкірна мікробіота відіграє вирішальну роль в підтримці цілісності шкіри і функціонує як критично відкритий імунологічний бар'єр [105, 114, 131]. Тому визначення ступеня дисбіотичних порушень з подальшою селективною модуляцією мікробіоти може поліпшити перебіг псоріазу, а також підвищити ефективність профілактичних засобів щодо уникнення рецидивів.

Останнім часом провідними фаховими дослідниками ретельно проводиться вивчення ролі вродженого та адаптивного імунітету у виникненні та перебігу псоріазу, зокрема значення сигнальних молекул та Toll-подібних рецепторів (TLRs), які є частиною вродженого імунітету та відносяться до класу сигнальних PAMPs (pathogen-associated molecular patterns) рецепторів і експресуються на клітинах, що здійснюють першу лінію

захисту, а саме нейтрофілах, макрофагах, дендритних клітинах, ендотеліальних і епітеліальних клітинах [66, 69, 101]. За літературними даними різні дослідники знаходять зміни TLRs в шкірі хворих на псоріаз [109, 120], але ці дані є часом неузгоджені та, навіть, суперечливі [151, 229]. А відомості про комплексну оцінку ролі TLRs залежно від клінічної форми та стану хворих практично відсутні.

Досі немає чіткого наукового патогенетичного обґрунтування ролі Toll-подібних рецепторів у регулюванні імунного, цитокінового та мікробіологічного стану з впливом на мікробіоценоз шкіри у вогнищі псоріатичного ураження, тому досить часто, при застосуванні комбінованих схем терапії виникають суперечливі результати. Незважаючи на те, що псоріаз є одним з найбільш вивчених імуноопосередкованих аутоімунних з вираженим ангіогенозом запальних захворювань шкіри [125, 164, 166], патофізіологічні процеси, що відбуваються за впливу інфекційних чинників, ще повністю не вивчено [1, 5, 59].

Беручи до уваги вищесказане та не з'ясований до кінця патогенез псоріазу значний інтерес становить вивчення вмісту і розподілу TLRs у крові хворих на псоріаз з одночасним аналізом взаємозв'язку різних ланок імунного стану, цитокінового балансу та мікробіоценозу псоріатичного вогнища ураження шкіри.

Гіпотеза дослідження полягає в тому, що визначення патогенетичної ролі Toll-подібних рецепторів та васкуло-ендотеліального фактору росту (VEGF) в регуляції адаптивної імунної відповіді при псоріазі залежно від ступеня тяжкості, стадії, клінічної форми, перебігу та тривалості захворювання надасть підставу до обґрунтування провідних патогенетичних критеріїв щодо діагностичної тактики.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертаційна робота виконувалась в рамках науково-дослідних робіт кафедри дерматології, венерології та СНІДу Харківського національного медичного університету: «Патологія шкіри та слизових оболонок у хворих із

ендокринною патологією» (№ держреєстрації: 0116U004980, 2016 – 2018 рр.), «Оптимізація порушень адаптаційних механізмів при гострих і хронічних дерматозах» (№ держреєстрації: 0119U002905, 2019-2021 рр.).

Мета і завдання дослідження

Метою дослідження є визначення патогенетичної ролі Toll-подібних рецепторів TLR2 та TLR4 при псоріазі в прогресуючій стадії внаслідок колонізації шкіри мікроорганізмами на підставі вивчення стану імунітету, цитокінового балансу та мікробіологічного статусу залежно від клінічної форми захворювання.

Для досягнення мети було поставлено такі основні завдання:

1. Дослідити особливості клінічного перебігу псоріазу у хворих та встановити зміни мікробіоценозу шкіри з визначенням основного фактору патогенності провідних мікроорганізмів.

2. Дослідити вміст TLR2, TLR4 та VEGF в периферичній крові хворих на псоріаз в прогресуючій стадії залежно від клінічної форми захворювання.

3. Оцінити стан клітинної та гуморальної ланок імунітету хворих на псоріаз в прогресуючій стадії захворювання з визначенням основних субпопуляцій лімфоцитів, імуноглобулінів та здатності до утворення нейтрофільних позаклітинних пасток.

4. Визначити рівень IL-1 β , IL-10, IL-17 та TNF α в сироватці крові пацієнтів та дослідити взаємозв'язок між цитокіновим станом та апоптозом лімфоцитів в сироватці крові при псоріазі в прогресуючій стадії залежно від клінічної форми.

5. На підставі встановлення кореляційних зв'язків показників імунного, цитокінового та мікробіологічного стану визначити роль TLR2, TLR4 та VEGF у патогенезі різних клінічних форм псоріазу в прогресуючій стадії.

6. Розробити модель взаємозв'язку патофізіологічних механізмів з включенням патогенетично обґрунтованих провідних критеріїв для своєчасного застосування профілактичних заходів щодо попередження рецидування псоріазу.

Об'єкт дослідження – псоріаз в прогресуючій стадії захворювання.

Предмет дослідження – сукупна роль Toll-подібних рецепторів та діагностичних критеріїв в патогенезі псоріазу.

Методи дослідження.

1. Аналіз літературних даних та історій хвороб пацієнтів, що знаходилися на лікуванні у Харківському міському клінічному шкірно-венерологічному диспансері № 5.

2. Загальноклінічне обстеження (з'ясування скарг, анамнезу хвороби та життя, сімейного анамнезу, огляд, загальні лабораторні дослідження, визначення форми та тяжкості захворювання, супутньої патології та провокуючих факторів).

3. Мікробіологічне дослідження (ідентифікація мікроорганізмів за допомогою ідентифікаційних наборів МІКРО-ЛА-ТЕСТ®. Тестування ізолятів на здатність утворювати біоплівки – у плоскодонних полістиролових планшетах. Вимірювання оптичної щільності вихідної бактеріальної суспензії проводилось на приборі «Densi-La-Meter»; інокульованих бактеріальних клітин - на фотометрі «Multiskan EX» при довжині хвилі 540 нм та визначалося в одиницях оптичної щільності (од.ощ.).

4. Імунологічні дослідження: вивчення імунного статусу оцінювали за рівнями Т-, В- та фагоцитарного ланцюгів імунітету. Для визначення нейтрофільних пасток ставили реакцію з використанням клітинної суспензії нейтрофілів периферичної крові, виділених на градієнтних розчинах фікола-верографіна, для фарбування нейтрофільних пасток використовували розчин акридинового помаранчевого. Рівні цитокінів (IL-1 β , IL-10, IL-17, TNF- α), TLR2 та TLR4, VEGF, IgA, IgM, IgG, визначено за допомогою ІФА (комерційні набори для імуноферментного аналізу (BioSource, Бельгія) і (Bender Medsystems, Австрія). Експресію TLR2 та TLR4 оцінено методом проточної цитофлуориметрії з використанням моноклональних антитіл (МКАТ).

5. Статистичні: оцінка достовірності досліджених показників. При обробці результатів використані методи параметричної статистики із застосуванням програми «Statistica 7».

Наукова новизна отриманих результатів

Вперше визначено особливості колонізації мікроорганізмами шкіри при псоріазі в прогресуючій стадії внаслідок інфекційного процесу залежно від клінічної форми захворювання з екологічною оцінкою її мікрофлори.

Уточнено наукові дані щодо мікробіологічної вегетації з визначенням показника сталості при псоріазі в прогресуючій стадії залежно від клінічної форми захворювання як на уражених, так й на інтактних ділянках шкіри. Визначено структуру мікробіоценозу шкіри хворих на псоріаз в прогресуючій стадії залежно від клінічної форми захворювання. Показано, що домінуючими видами при PsF та IPsV є гриби роду *Aspergillus*, *Trichophyton interdigitale*, *Malassezia furfur*, *Candida albicans* та бактерії: *Staphylococcus epidermidis*, *Acinetobacter* spp.; при PsE та dPsV – грампозитивні коки *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus* та гриби *Aspergillus fumigatus* й *Candida albicans*, при PsP та PsG переважають бактерії - *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter* та *Streptococcus pyogenes*.

Встановлено, що при псоріазі в прогресуючій стадії захворювання відбувається структурна перебудова біоценозу шкіри і поява у мікроорганізмів здатності до утворення щільних біоплівки, що сприяє дисемінації мікроорганізмів на здорові ділянки шкіри. При PsE та dPsV визначено переважно бактеріально (*Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*) – грибкові (*Aspergillus fumigatus*), при PsP та PsG – переважно бактеріальні (*Staphylococcus aureus*), при PsF та IPsV – переважно грибково (*Candida albicans*) – бактеріальні (*Acinetobacter*) біоплівки.

Доповнено наукові дані щодо імунопатогенезу псоріазу в прогресуючій стадії внаслідок колонізації шкіри мікроорганізмами: визначається девіація

імунних клітин в периферичній крові: зменшенні кількості $CD8^+$, збільшення вмісту $CD4^+$, $CD16^+$, $CD22^+$, $CD25^+$, $CD95^+$. Активація патологічного процесу характеризується змінами в гуморальній ланці імунітету, що виражається в гіперімуноглобулінемії за рахунок, в основному, збільшення в сироватці крові концентрації імуноглобулінів IgG, IgA при PsP - IgM. Ступінь вираженості змін в клітинній та гуморальній ланках імунітету залежить від клінічної форми захворювання.

Розширено наукові дані щодо механізмів формування позаклітинних нейтрофільних пасток при псоріатичному ураженні залежно від клінічної форми. Вперше показано, що за дії мікробних чинників активність формування NETs підвищується від 1,7 (при IPsV) до 7,3 (при PsP) рази, що запобігає дисемінації антигену на здорові ділянки шкіри.

Вперше встановлено, що дисрегуляція утворення NETs пов'язана з причинами виникнення аутоімунного патологічного процесу при псоріазі в прогресуючій стадії.

Встановлено патогенетичні взаємозв'язки між рівнем показника цитокінів, залежно від клінічної форми псоріазу в прогресуючій стадії та поширеністю псоріатичного процесу: зі збільшенням значень PASI у хворих визначається підвищення рівня IL-1 β , IL-10, IL-17. Збільшення вмісту IL-17 корелює з тяжкістю, поширеністю псоріазу та справляє негативний вплив на якість життя пацієнтів.

Доповнено наукові дані щодо закономірностей розвитку системних реакцій у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії внаслідок колонізації шкіри мікроорганізмами: віджилення вмісту компонентів вродженого і адаптивного імунітету дозволило встановити, що TLR 2 й TLR 4 та VEGF беруть участь в імунних реакціях при розвитку запального процесу у хворих на псоріаз, їх рівень змінюється залежно від клінічної форми захворювання.

На основі поглибленого аналізу імунологічних, мікробіологічних показників та фахової літератури було систематизовано дані про взаємозв'язок мікріоіому і загальної імунної реакції, роль TLR2, TLR4 та

VEGF в патогенезі псоріазу прогресуючої стадії. Запропоновано модель патогенезу псоріазу в прогресуючій стадії захворювання внаслідок колонізації шкіри мікроорганізмами, яка заснована на визначенні вирішальної ролі 5 факторів - підвищеної вегетації мікроорганізмів на ураженій та інтактній ділянках шкіри з утворенням щільних біоплівочок провідними мікроорганізмами, які здатні продукувати планктонні клітини й ускладнювати перебіг псоріазу; активація системної імунної відповіді з продукцією прозапальних цитокінів; формування NETs з активацією апоптичних лімфоцитів разом з патологічним ангіогенезом та ендотеліальною дисфункцією. Ключова роль відводиться TLR2 та TLR4, які залучені в патогенез псоріазу шляхом детекції патогенів з подальшою ініціацією каскаду реакцій імунної системи: активація цитокінового каскаду (через IL-1 β , IL-10, IL17, TNF- α), адаптивного імунітету (через фагоцитоз й формування NETs), апоптозу клітин (CD95⁺), VEGF. Саме ці фактори відіграють головну роль в розробленій моделі патогенезу псоріазу, де пусковим фактором є мікробний.

Практичне значення отриманих результатів

Обґрунтована концептуальна модель патогенезу псоріазу в прогресуючій стадії, де тригерним фактором є мікроорганізми. Дана модель орієнтована на оцінку мікрофлори шкіри, яка може бути використана в діагностиці порушень мікроекології шкіри при її захворюваннях, а також дозволяє припустити тяжкість і результат перебігу захворювань за визначенням основного фактора патогенності мікроорганізмів - біоплівок.

Результати дослідження є теоретичною основою для диференційованого підходу до оцінки порушень мікробіоценозу і дають можливість прогнозувати резидентне носійство штамів умовно-патогенних мікроорганізмів та їх роль в якості етіологічного агента при захворюваннях шкіри.

На підставі проведеного дослідження запропоновано спосіб діагностики еритродермії, який включає визначення маркерів пошкодження,

зокрема TLR з використанням моноклональних антитіл до TLRs, інтенсивність експресії TLR здійснюють із застосуванням комп'ютерної програми аналізу зображень ImageJ і при виявленні TLR2 та TLR4 типів діагностують псоріатичну еритродермію (Патент України на винахід UA 118802, номер заявки а 2017 01630, дата пріоритету 11.03.2019, Бюл. № 5. Спосіб діагностики псоріатичної еритродермії).

Результати дослідження за визначенням у хворих кількості TLR 2 та TLR 4 типів, прозапальних цитокінів, основних субпопуляцій Т-лімфоцитів можуть бути використані для оптимізації існуючих методів системної і топічної терапії і є основою для розробки нових методів лікування псоріазу, а також досліджень, орієнтованих на пошук антигенів, що викликають розвиток імунного запалення у хворих на псоріаз.

Результати дослідження впроваджені в роботу Вінницького обласного клінічного шкірно-венерологічного диспансеру, Олександрівської клінічної лікарні м.Київ, обласного клінічного шкірно-венерологічного диспансера м Ужгород, КП «Обласний шкірно-венерологічний диспансер» Дніпропетровської обласної ради, КУ «Запорізький обласний шкірно-венерологічний клінічний диспансер» Запорізької обласної ради. що підтверджено актами впровадження.

Особистий внесок здобувача

Дисертантом самостійно проаналізовано за темою дисертаційної роботи наукову літературу, проведено патентно-інформаційний пошук, визначені мета та задачі дослідження, обґрунтовані та сформульовані основні висновки роботи. Здобувачем проведено клінічне обстеження хворих самостійно та при консультативній допомозі наукового керівника д.мед.н., проф. А.М. Дащука. Автором проаналізовано й узагальнено всі отримані лабораторні результати та статистично оброблені отримані результати. Самостійно написано всі розділи дисертації, сумісно з науковим керівником сформульовано висновки і практичні рекомендації. За основними

положеннями виконаної роботи підготовлено доповіді на конференції, наукові праці до друку, дисертацію до захисту.

Апробація результатів дисертації

Матеріали дисертації оприлюднені на 6-ій Міжнародній науковій міждисциплінарній конференції для студентів-медиків та молодих лікарів, Харківського національного медичного університету (Харків, 2013); міжвузівській конференції молодих вчених та студентів «Медицина третього тисячоліття» (Харків, 2015); 7 - 8 Міжнародних наукових міждисциплінарних конференціях для студентів-медиків та молодих лікарів (Харків, 2014, 2015); Міжнародній науково-практичній конференції «Актуальні питання сучасної медицини: досвід Польщі та України» (Люблін, Польща, 2017); III (X) з'їзді Української асоціації лікарів - дерматовенерологів і косметологів (Львів, 2017); науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченою 170-річчю з дня народження приват-доцента В.Г.Порай-Кошица «Актуальні проблеми дерматології, венерології та ВІЛ/СНІД-інфекції» (Харків, 2017); на науково-практичній конференції «Забезпечення здоров'я нації та здоров'я особистості як пріоритетна функція держави» (Одеса, 2018); науково-практичній конференції «Світова медицина: сучасні тенденції та фактори розвитку» (Львів, 2018); на науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні проблеми дерматології, венерології та ВІЛ/СНІД-інфекції» (Харків, 2018).

Публікації

За матеріалами дисертації опубліковано 16 наукових праць, серед яких 1 монографія, 4 статті, із них 1 стаття у журналі, внесеному до міжнародної наукометричної бази *Scopus*, 2 статті в наукових фахових виданнях України, 1 стаття у науковому журналі; 1 патент України на винахід, 10 тез доповідей у збірниках матеріалів науково-практичних конференцій, конгресів. Перераховані публікації достатньо повно відображають запропоновані в роботі теоретичні та практичні рішення.

Структура та обсяг дисертації.

Дисертація викладена українською мовою, загальним обсягом 211 сторінок машинописного тексту, з яких 150 сторінок займає основний текст. Дисертація складається з анотації, переліку умовних скорочень, вступу, огляду літератури, опису матеріалу та методів дослідження, чотирьох розділів власних досліджень, аналізу і узагальнення результатів дослідження, висновків, практичних рекомендацій, списку використаної літератури. Бібліографія містить 248 джерел, із яких 100 роботи – кирилицею і 148 – латиницею. Робота ілюстрована 8 таблицями та 75 рисунками.

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНИЙ ПОГЛЯД НА РОЛЬ TOLL-ПОДІБНИХ РЕЦЕПТОРІВ, ІМУННОГО, ЦИТОКІНОВОГО Й МІКРОБІОЛОГІЧНОГО СТАТУСУ У ПАТОГЕНЕЗІ ПСОРІАЗУ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Відомо, що псоріаз є найпоширенішим, системним, імунозалежним захворюванням й патофізіологічно характеризується запальною реакцією, гіперкератозом, активацією імунної регуляції кератиноцитів, пов'язаної з продукцією цитокінів [64, 70, 99, 190, 211].

Причини виникнення псоріазу залишаються нез'ясованими, хоча в останні роки було досягнуто значного прогресу у вивченні механізмів патогенезу захворювання [12, 22, 93, 146]. Незважаючи на те, що дані питання вивчаються досить давно, до цих пір залишається безліч невирішених питань патології, патогенезу і лікування псоріазу [37, 67, 68, 80].

Відомо, що псоріаз має мультифакторіальний характер [98, 123] з великою часткою генетичної детермінанти [18, 30, 36, 50, 126] та існує ряд інших теорій патогенезу псоріазу, таких як вірусна [46], обмінна [136, 138], нейроендокринна [22, 28, 29], проте кожна з них потребує суттєвого підкріплення, що підтримує постійний інтерес дослідників до цього захворювання [82, 124, 227].

Значиму роль у розвитку дерматозів грають порушення синергізму клітин, що відносяться до складових вродженого і набутого імунітету [9, 60, 75]. Дослідниками доведено, що псоріаз може провокуватися і підтримуватися в результаті імунної відповіді за хелперним типом цитокінами [79, 90].

У маніфестації псоріазу значну роль відіграє порушення співвідношення про- та протизапальних цитокінів, а також активація антигенпрезентуючих клітин [81, 97, 128]. Такий тип імунної відповіді

розвивається при стимуляції інфекційними, зокрема бактеріальними та грибовими, антигенами [47, 181, 199].

Оскільки дисертація присвячена вивченню патогенетичної ролі Toll-подібних рецепторів у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії, що розвинувся після інфекційної патології на підставі вивчення стану імунітету, цитокінового балансу та мікробіологічного статусу залежно від клінічної форми захворювання, цікавим було розглянути дослідження фахівців саме в цій площині огляду літератури.

1.1. Сучасні уявлення про патофізіологічний розвиток порушення мікробіоценозу шкіри при псоріазі із потенційною загрозою виникнення запальних ускладнень.

Вивченню питань виникнення псоріазу внаслідок інфекційного захворювання або активацій процесів порушення нормофлори шкіри людини зараз приділяється увага у всьому світі. В багатьох дослідженнях наголошується, що розвитку псоріазу сприяють гострі інфекційні захворювання [45, 47, 53]. Наукові дослідження показали, що псоріаз часто супроводжують грибові і стафілококові інфекції, особливо кандидоз [203, 218, 242].

Деякі вчені вважають, що мікози та стафілокок провокують розвиток псоріазу [77, 102, 127], однак інші фахівці вважають ці інфекції скоріше наслідком хвороби. Є певні докази активації експресії мікробних суперантигенів [112, 121] і вірусоподібних нуклеотидних послідовностей при псоріазі, які можуть сприяти зміні сегментів ДНК, гіперпроліферації епідермісу, порушення послідовності утворення прокератинів, фізіологічного апоптозу кератиноцитів [76, 107, 108].

Псоріатична гіперпроліферація кератиноцитів є своєрідною захисною реакцією, яка стає патологічною завдяки розбалансуванню регуляторних систем імунітету і механізмів, які контролюють мітоз клітинних елементів. Наростання концентрації мітогенного епідермального фактора росту, який

стимулює мітотичну активність клітин в фазі прогресування псоріатичного процесу, що призводить до формування патогістологічної особливості прояву патологічного стану [46, 64].

Крім того, факторами ризику, що сприяють рецидивам псоріазу, є шкірний та кишковий дисбактеріоз і пов'язані з ними ендогенна інтоксикація і підвищена резорбція різних антигенів [11, 23].

У роботах відомих фахівців зазначається, що перші прояви псоріазу у 90% хворих з'являються слідом за маніфестацією бактеріальної, зокрема стрептококової інфекції [111, 137]. Було висунуто навіть гіпотеза, що існує еволюційний синергізм між цим дерматозом і стрептококковими захворюваннями.

Закордонні дослідження показали [187, 191, 216] географічні відмінності в захворюваності на псоріаз і виявили, що поширеність псоріазу в різних країнах тісно корелює з історичної смертністю від епідемій таких стрептококових інфекцій, як скарлатина і бешиха, і припустили, що зміна генотипу у відповідь на стрептококову інфекцію призводить до зниження смертності від цих інфекцій і обумовлює схильність до псоріазу.

Відомо, що найбільш висока поширеність псоріазу спостерігається в Північній Європі, там же історично спостерігається висока захворюваність і смертність від скарлатини. Виражена гіперреактивність імунної системи у жителів міст обумовлена необхідністю боротися з інфекцією, що призводить до змін безлічі генів [17, 18, 21, 50], відповідальних за розвиток псоріазу.

Незважаючи на те, що при псоріазі не встановлені антитіла до будь-яких власних компонентів шкіри, нерідко захворювання розглядається як аутоімунне. І хоча виникнення аутоімунних процесів є результатом впливу багатьох чинників порушення в імунній системі, певні умови навколишнього середовища, в тому числі й сезонні фактори [8], зв'язок між цими захворюваннями і збудниками інфекцій досліджується протягом багатьох років [64, 161]. До основних механізмів аутоімунної стимуляції відносяться: молекулярна мімікрія, що призводить до помилки з боку імунної системи і,

як наслідок цього, до реакції проти компонентів власного організму [9]. Так, протеїни клітинної стінки стрептококів, ліпополісахариди кишкової палички схожі з деякими тканинами організму, встановлено зв'язок між білками клебсієли і антигенами HLA-B27; відбувається ряд змін в макроорганізмі зі стимуляцією структурних змін у власних антигенах в результаті запальної реакції у відповідь на бактеріальну, грибову або вірусну інфекцію. Ці структурні зміни самого антигену викликають вироблення антитіл до структурних компонентів самого організму; поліклональна активація інфікуючими компонентами може призвести до неконтрольованого вироблення антитіл, включаючи антитіла до власних тканин; надмірна активність антигенів, що відносяться до HLA II класу, викликає помилкову презентацію власного антигену Т-клітинам, що реагує проти власних компонентів в результаті інфекції [106, 116]. Огляд і аналіз досліджень впливу бактеріальної інфекції на ініціацію імунної відповіді за Th1-типом дозволили деяким авторам уявити псоріаз як аутоімунне захворювання, викликане молекулярною мімікрією [149, 209, 212, 213, 240]. Деякі дослідники припускають, що Т-клітини CD8⁺ при псоріазі реагують насамперед на антигенну детермінанту М-білка, що є основним поверхневим антигеном β -стрептококів групи А, ідентичну кератину 17, в той час як Т-клітини CD4⁺ дерми розпізнають детермінанти стрептококових пептидогліканів, які виступають в ролі ад'ювантів [148, 169].

Також відомо, що амінокислотна послідовність М-протеїну проявляє значний ступінь гомології з кератинами K16 і K17 епідермісу. У здоровій шкірі базальні кератиноцити в основному експресують кератин K5 і K14, а супрабазально - K1 і K10, тоді як в шкірі при псоріазі утворюються кератини K6, K16 і K17 [185, 197].

Примітно, що в дослідженнях *in vitro* експресія кератинів, асоційованих з псоріазом, зростає при додаванні прозапальних цитокінів IL-1 β і IFN- γ [38, 128, 134]. Наявністю молекулярної мімікрії пояснюється припущення, що пусковим моментом в маніфестації псоріазу може з'явитися перехресна

імунна відповідь на стрептококову інфекцію. Продemonстровано наявність перехресної реакції лімфоцитів в периферичній крові у хворих на псоріаз на антигени стрептококів і кератин шкіри, причому більш виражена реакція спостерігається у HLA-позитивних пацієнтів [5, 37, 110, 160, 225].

У ряді експериментальних робіт показано, що субпопуляція активованих $CD4^+$ Т-лімфоцитів, виділених зі шкіри в області псоріатичних висипань, реагує на екстракт клітинної оболонки стрептокока групи А, що містить комплекс антигенів, і на ізольований М-протеїн посиленням проліферації і продукції медіаторів запалення [111, 194, 228]. Крім того, виявлені спільні з епідермальними антигенами детермінанти для полісахариду не тільки β -стрептокока, а й стафілокока [236]. М-протеїн клітинної стінки β -гемолітичного стрептокока здатний виявляти функції суперантигена. У цьому полягає одна з небезпек персистенції в організмі бактеріальної флори, так як саме суперантигени викликають важкі гіперергічні дерматологічні синдроми, до яких відносяться і ексудативні, пустульозні, ерітродермічні форми псоріазу [100, 145, 159].

Суперантигени здатні викликати поліклональну активацію імунної системи, зокрема активувати велику кількість Т- і В-лімфоцитів незалежно від антигенної специфічності цих клітин. В цьому випадку суперантиген не поглинається антигенпрезентуючими клітинами і не піддається звичайному процесингу з утворенням пептиду. Суперантиген обходить цей етап специфічного розпізнавання і неспецифічно зв'язується з варіабельною частиною β -ланцюга Т-клітинного рецептора. Відбувається своєрідне перехресне зв'язування молекул головного комплексу гістосумісності антигенпрезентуючими клітинами з Т-клітинним рецептором. Фахівцями було розглянуто три можливих механізми участі суперантигенів в розвитку аутоімунних порушень при псоріазі.

Доведено, що суперантигени можуть безпосередньо активувати аутореактивні Т-лімфоцити, які потім мігрують до відповідних тканин і викликають аутоімунні порушення, продукуючи цитокіни. Крім того, Т-

лімфоцити сприяють розвитку запалення в шкірі. Суперантигени також можуть активувати антигенпрезентуючі клітини, зокрема макрофаги. Це призводить до вивільнення з них цитокінів, супероксидних аніонів та інших медіаторів запалення та індукувати експресію шкірного лімфоцитарного антигену на Т-лімфоцитах, полегшуючи їх міграцію з кров'яного русла в шкіру [215, 217, 220]. Нещодавно фахівцями було показано розвиток псоріазоподібних висипань у імунodefіцитних тварин після пересадки шкіри хворих на псоріаз та введення лейкоцитів, оброблених суперантигеном стрептококу [176, 177].

Наявність зв'язку між стрептококовою інфекцією ЛОР-органів і псоріазом було продемонстровано в багатьох дослідженнях. Так, дослідниками виявлено, що початку псоріазу до 97% випадків передуює стрептококова інфекція [236].

Опубліковані дані про те, що за впливу цієї інфекції краплеподібний псоріаз [84, 189] може набувати хронічно-рецидивуючий характер перебігу [214, 217]. Також автори виявили десятикратне збільшення обсіменіння глотки β -гемолітичним стрептококом групи А порівняно з контролем [161]. Ряд дослідників висловлюють припущення, що в мигдалинах у відповідь на стрептококову інфекцію акумулюються Т-лімфоцити, які перехресно реагують з антигенами стрептококів і кератином кератиноцитів. Ці лімфоцити мігрують в шкіру, де викликають запальну реакцію, яка ініціює розвиток псоріазу. Ця гіпотеза підтверджується тим фактом, що у деяких пацієнтів виділені подібні олігоклональним Т-клітини як з мигдалин, так і з псоріатичних бляшок. Крім того, у даних хворих після тонзилектомії часто наступала ремісія псоріазу [155, 162]. Мигдалини є невід'ємною частиною єдиної імунної системи людини, беруть участь в імунному нагляді та резистентності до інфекцій, формуванні як системного, так і місцевого імунітету. Патологія мигдалин може відігравати вирішальну роль в ініціації і подальшій регуляції Т-клітинної опосередкованої імунної відповіді при псоріазі [152, 157, 222]. При розвитку хронічної інфекції мигдалини стають

резервуаром для патогенних мікроорганізмів і місцем перманентної сенсibilізації організму.

У іншому дослідженні також показано, що найчастіше тригерами зовнішнього середовища, які активують патологічний процес при псоріазі є інфекційні чинники й на прикладі гострого екзантемного псоріазу було показано, що виникненню псоріазу передувала гостра стрептококова інфекція глотки [118]. Дуже часто такий зв'язок простежується в анамнезі у молодих людей. Деякі дослідники висловлюють припущення про роль стрептококів в ініціації вульгарного псоріазу, що засновані на виявленні підвищеного титру антистрептолізину-О і позитивного результату посіву із ротоглотки на стрептококи групи А [121].

Способів проникнення стрептококів в епітеліальні клітини кілька. Один з них - зв'язування фибронектина з поверхневими молекулами стрептококів, що дозволяє збуднику проникати в клітини епітелію глотки і мигдалин. В тканині мигдалин стрептококи можуть проявляти резистентність до антимікробних факторів імунного захисту організму і антибіотиків з екстрацелюлярним механізмом дії. Як наслідок - тривала персистенція збудника в тканині мигдаликів і глотки. Це підтверджується результатами дослідження хірургічно видалених тканин [203, 236]. Дане припущення було також підтверджено S.L. Sigurdardottir і співавт.: при дослідженні тканини мигдалин хворих на псоріаз виявлено підвищений вміст Т-клітин зі специфічним шкірним хомінговим рецептором, на відміну від здорових осіб. Згодом у таких хворих були ідентифіковані однакові олігоклональні Т-клітини в тканині мигдаликів і псоріатичних бляшках [222]. Т-клітини пацієнтів з псоріазом демонструють підвищену відповідь не тільки до гомологічних пептидів стрептококових М-протеїнів, але і до кератину епідермісу людини [215]. При цьому стрептококові М-протеїни виявлялися в сосочках і епідермісі ураженої шкіри. За допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції у пацієнтів з псоріазом в псоріатичних висипаннях ідентифікована специфічна стрептококова ДНК [191]. Мабуть, стрептококові

протеїни проникають в шкіру за допомогою дендритних клітин. Імовірно, загострення псоріатичного процесу ініціюються перехресною реакцією Т-клітин з епітопами стрептококових М-протеїнів і кератину людини [107, 108, 137].

Таким чином, імунологічна відповідь за принципом перехресної реакції проти аутологічних протеїнів може зберігатися і після лікування стрептококової інфекції. Одним з можливих механізмів розвитку псоріазу вважають участь S100-протеїнів, що включають псоріазин, який відіграє певну роль у формуванні та підтримці антимікробної захисту. Методом полімеразної ланцюгової реакції в режимі реального часу з використанням мічених флуоресцентними антигенами проб були проаналізовані профілі експресії генів S100A8 і S100A9 в ураженій на псоріаз шкірі та візуально неураженої шкірі тих же хворих. Експериментально було показано значне підвищення експресії генів S100A8 і S100A9 в ураженій на псоріаз шкірі в порівнянні з неураженою шкірою тих же пацієнтів. Таким чином, отримані результати дозволяють вважати, що високий рівень експресії генів S100A8 і S100A9 відображає стан патологічного процесу при псоріазі, а транскрипційна активність цих генів є індикатором виникнення псоріазу на молекулярному рівні [35].

Ще одним можливим джерелом агресії з боку мікрофлори є шлунково-кишковий тракт. Концепція аутоінтоксикації, згідно з якої провідним фактором патогенезу псоріазу є підвищена проникність кишкової стінки, розглядається як одна з провідних та на її підставі фахівці запропонували до розгляду інтегративну модель псоріазу, яка пояснює розвиток захворювання просочуванням в кров бактеріальних токсинів, які є структурними компонентами зовнішньої мембрани практично всіх бактерій, а надмірна концентрація бактеріальних токсинів викликає важкі запальні реакції [150].

Існує теорія хомінг-ефекту, згідно з якої клітинами-мішенями в результаті аутоімунного запалення стають кератиноцити шкіри при псоріазі [149, 158, 213]. Крім того, є дослідження, в яких доведено, що в патогенезі

псоріазу певна роль належить саме дисбіотичним процесам в кишечнику [53, 186, 193]. Встановлено зв'язок розвитку псоріазу внаслідок порушення мікробіоценозу кишечника [207, 237]. Авторами запропоновано гіпотезу про первинність псоріатичної гастроінтестінопатії по відношенню до шкірних проявів та сформульовано модель патогенезу хронічного псоріазу, яка заснована на припущенні про вирішальну роль двох псорафакторів - підвищеної проникності кишкових стінок для певних білків і включення β -стрептококів в мікробіоценоз слизової кишечника [45].

На користь теорії про роль інфекційних агентів в патогенезі псоріазу свідчить і ряд досліджень впливу антибіотикотерапії на перебіг псоріазу. Так, була відзначена позитивна динаміка у вигляді регресу висипань при призначенні рифампіцину в комбінації з пеніциліном або еритроміцином [6, 37, 86].

Слід зазначити, що мікробіом шкіри при псоріазі, характеризується значною різноманітністю видового складу й чисельності мікроорганізмів та відрізняються заміною нормальних членів мікробіоценозу на представників транзиторної флори. Причому якісні і кількісні зміни мікрофлори шкіри визначаються не тільки в місцях висипань, а й на поверхні здорової шкіри. Так, фахівцями показано, що загальний відсоток штамів стафілококів, виділених з уражених ділянок складав 72,1%, з них *S. aureus* - 46%. З поверхні псоріатичних папул і бляшок було виділено 167 штамів різних мікроорганізмів, на частку мікроскопічних грибів прихилилося 77,8%, причому на частку кандиди - 23,1% [208, 232, 239].

Дослідниками різних країн встановлено, що у пацієнтів з генералізованою пустульозною, ексудативною, долонно-підшовною, вульгарною клінічними формами псоріазу, серед діагностично значущих штамів мікроорганізмів переважали золотистий і епідермальний стафілококи. Причому при вульгарному псоріазі *S. aureus* виявлявся достовірно частіше, ніж при пустульозній. Також виявлено кореляцію частоти виявлення *S. aureus* і появи свербіжу у хворих з різними формами псоріазу [115, 156]. Бактерії не

викликають пошкодження самого шкірного бар'єру, але підтримують запалення і перешкоджають загоєнню [103, 143]. На відміну від цього на поверхні, як уражених ділянок, так й здорової шкіри, визначалися *S.pyogenes*, *Enterococcus spp.* та *Pseudomonas aeruginosa*, також виділені мікроскопічні гриби [206, 230].

Деякі коменсальні мікроорганізми можуть стати небезпечними при зміні типових ділянок колонізації. Так, коменсал *S.epidermidis*, з одного боку, є частим представником мікробних спільнот шкіри, з іншого - найчастішою причиною внутрішньолікарняних інфекцій. При попаданні його на поверхню медичної апаратури, катетерів, клапанів серця і об'єднанні з іншими мікроорганізмами можуть утворюватися біоплівки [14, 26, 34], що перешкоджають дії клітин імунної системи і антибіотиків [19]. Мабуть, *S.epidermidis* служить резервуаром генів стійкості до антибіотиків [77, 156, 205].

Дисбіоз тіла людини став ключовим напрямком досліджень в патофізіології псоріазу [238, 239]. Описаний як дисбаланс між мікробіотою і її господарем, дисбіоз можна вважати формою порушення гомеостазу, при якому мікробіота зміщується в бік менш складного, менш різноманітного патологічного спектра [165, 184]. Тригер, який викликає перехід від симбіозу до дисбіозу [139], ще не повністю з'ясований, однак є дослідження, що описують причину як дисбаланс між окисними вільними радикалами і захисними антиоксидантами [40, 42, 49, 83, 96], окислювальний стрес є наслідком дисбактеріозу і механізму, який приводить до патології. Активні форми кисню були ідентифіковані як зв'язок між зміненою мікробіотою і захворюванням. Мікроскопічні гриби також залучені в патофізіологію коморбідності псоріазу [153, 174].

Відомими є багато досліджень, які направлені на вивчення ролі шкірної мікробіоти в патогенезі псоріазу [27, 85, 122, 153].

Таким чином, розуміння наслідків впливу дисбактеріозу на псоріаз може призвести до розробки нових цільових методів діагностичної

тактики та профілактики рецидивів. Але, ще достовірно не встановлено, чи є такі зміни в мікробіоті причиною або наслідком захворювання. Взаємодії між мікробіотою та імунною системою важливі для встановлення і підтримки гомеостазу господаря [30, 43, 51]. Модифікація складу мікробіоти може привести до зсуву активації імунної системи і, в кінцевому підсумку, до розвитку запальних захворювань.

Порушення регуляції мікробіоти шкіри може стати новою терапевтичною мішенню у пацієнтів з псоріазом. Відновлення симбіозу також може підвищити ефективність вже існуючих методів профілактики рецидивів та терпії. З цих причин необхідні подальші дослідження селективної модуляції мікробіоти шкіри.

Отримані результати дозволяють припустити, що бактеріально-грибкові агенти грають ключову роль в патогенезі псоріатичного процесу, і підтверджують необхідність подальшого детального вивчення ролі мікробіоти шкіри в даному аспекті.

1.2. Вплив факторів екзогенного та ендогенного походження на імунний та цитокіновий стан організму при псоріазі.

Стан імунної системи при псоріазі вивчали багато дослідників, однак в проблемі імунопатології цього захворювання ще є питання [20, 25, 61, 63]. У зв'язку з тим, що за останні 20 років змінилися уявлення про роль пускових факторів в модуляції імунної відповіді при псоріазі, імунопатогенетичні зміни необхідно розглядати, як локально, так й системно [158, 211]. Як відомо, шкіра, як імунний орган [142], здатна до ізоляції, процесингу та презентації антигенів, і розвитку локальної імунної відповіді [124, 130], тому що в шкірі містяться імунокомпетентні клітини. Більшість досліджень імунного статусу при псоріазі було виконано на двох рівнях, але їх результати далеко не однозначні.

Аналізуючи фахові літературні дані важливо підкреслити, що незважаючи на суперечливість трактування імунних порушень, більшість авторів розглядають Т-супресорну недостатність, як провідну в патогенезі псоріазу [117, 132]. Крім того, встановлений багатьма авторами низький рівень Т-лімфоцитів - супресорів, що поєднується з підвищеним утворенням патологічних імунних комплексів, дає підставу визнати в патогенезі псоріазу істотне значення аутоімунної патології [175, 182, 213].

Авторами доведено, що при псоріазі в епідермісі до появи висипань є помірне число Т-хелперів, частина яких активована [190, 211, 227], у свою чергу число Т-супресорів в епідермісі не було збільшено до початку висипань, причому ці клітини не були активовані, надалі число Т-супресорів підвищується, їх стає більше, ніж Т-хелперів, при цьому всі вони, як правило, активовані [182]. В цілому при висипаннях відбувається міграція Т-хелперів в епідерміс і їх активація. При цьому наголошується, що міграція Т-хелперів в епідерміс в візуально інтактних областях шкіри починається до появи висипань [48, 70, 75]. Цей факт можна трактувати як аргумент на користь концепції вторинного залучення епідермісу в псоріатичний процес.

Підвищення проникності судинної стінки пов'язано в першу чергу з дією гістаміну, що виділяються при дегрануляції тучних клітин, а також гідролазами, які вивільняються з нейтрофілів у хворих на псоріаз [215, 233, 234], що є однією з найбільш ранніх змін в процесі розвитку запальної реакції.

Деякими авторами показано, що раннім проявом псоріазу є активація макрофагів [200, 211], взаємодії імунокомпетентних і сполучнотканинних клітин [201], трансформуючого фактора росту кератиноцитів, підвищене утворення ендотеліну [122, 182], інших розчинних факторів.

В даний час у хворих на псоріаз встановлено порушення практично всіх ланок імунної регуляції шкіри, що призводять до виділенню активованими кератиноцитами, лімфоцитами, макрофагами і резидентними клітинами дерми різних медіаторів імунної відповіді і запалення [135, 136].

Більшість лімфоцитів, які виявляються в навколосудинних інфільтратах в області псоріатичних папул, є активованими Т-лімфоцитами і відносяться до $CD4^+$ і $CD8^+$. Близько 4% з них мають афінитет до епідермісу і експресують різні медіатори імунної відповіді та запалення [32, 89].

Регулюється міграція Т-лімфоцитів в дерму рецепторами, що знаходяться в ендотеліальних клітинах судин. Одні з цих рецепторів селективно адсорбують $CD4^+$ та клітини пам'яті; інші, що знаходяться на ендотелії венул, прикріплюють $CD8^+$. Встановленим фактом є те, що у хворих на псоріаз спостерігається прискорена проліферація кератиноцитів [175, 177, 178].

В останні роки в патогенезі псоріазу велика увага приділяється цитокінам [2, 4, 199], які є низькомолекулярними медіаторами міжклітинних взаємодій, секретуються клітинами багатьох типів і виконують імунорегуляторну функцію [15, 204]. Згідно існуючими даними, кількість біологічно активного IL-1 знижується в шкірі, ураженою псоріазом [75, 99]. У той же час в псоріатичних кератиноцитах спостерігається більш високий рівень IL-1 рецепторів, ніж в нормальній шкірі. Який з цих параметрів грає роль в патогенезі псоріазу, поки неясно, так як не повною мірою вивчена функціональна активність IL-1 рецепторної системи. Гіперпродукція прозапальних цитокінів має важливе патофізіологічне значення при псоріазі [94, 113]. Але не менш важливим є функціональна активність протизапальних цитокінів, зокрема IL-10, з важливим імунорегулюючим значенням, так як пригнічує дію прозапальних цитокінів, в результаті проведених досліджень фахівцями визначено дефіцит експресії шкірного IL-10 [128, 129].

У ранній фазі запалення підвищена кількість інтерлейкінів і ліпідних медіаторів відіграє важливу роль в патогенезі дисфункції шкіри при псоріазі. Показано, що більш тяжкий перебіг псоріазу тягне за собою збільшення числа імунологічних дисбалансів.

Фактори, які пригнічують міграцію лейкоцитів і макрофагів контролюють рухливість і щільність мігруючих клітин, стимулюють фагоцитоз, є потужними стимуляторами синтезу прозапальних цитокінів [211, 214]. У хворих спостерігається прискорена мітоген-індукована міграція макрофагів в шкіру.

Дослідниками показано, що в псоріатичній бляшці відбувається накопичення активованих Т-лімфоцитів, переважно фенотипу CD4, причому такий варіант імунного статусу схожий з аутоімунною патологією. Останні роки підвищений інтерес викликає вивчення взаємозв'язків показників імунного та цитокінового стану при псоріазі, що пов'язано з їх участю в розвитку і регуляції як імунологічних, так і запальних процесів.

Незважаючи на те, що встановлено підвищену продукцію цитокінів, як імунокомпетентними клітинами, так і клітинами шкіри, роль подібних взаємозв'язків залишається цілком не ясною.

При псоріазі ендогенні імуноцитокіни є потужними індукторами гострої запальної реакції в шкірі, що підтримують патологічний процес. Крім того, з урахуванням їх підвищеної продукції клітинами шкіри, можна припустити участь імуноцитокінів в процесах незавершеного патологічного апоптозу епідермоцитів при псоріазі. Отже, розпочате вивчення цитокінового профілю клітин шкіри й імунокомпетентних клітин при псоріазі є важливим моментом для розуміння імунопатогенезу і свідчить про доцільність продовження досліджень в цьому напрямку.

Важлива роль в імунопатогенезі псоріазу належить розвитку аутоімунних реакцій клітинного типу і мобілізації функціональних властивостей нейтрофілів. При аутоімунних реакціях одним з ключових моментів є діяльність активованих ефektorних Т-лімфоцитів. Ці клітини у відповідь на специфічний і неспецифічний вплив продукують ряд лімфокінів, що регулюють дію клітинного гомеостазу в ділянках патологічного ураження шкіри, зокрема, активовані лімфоцити беруть участь в мобілізації нейтрофільних лейкоцитів в зоні ураження, посилюючи їх функціональну

активність, що в кінцевому підсумку, визначає участь лімфокінів в розвитку і підтримці запально-проліферативної реакції шкіри при псоріазі [204, 212].

В даний час отримані певні докази підвищеної активності системи ендогенних імунітокінів в ініціації і регуляції імунологічних і запальних реакцій при псоріазі. Дисбаланс в системі імунітету підтверджується виявленими закономірностями: при тяжкому перебігу захворювання більшого значення набувають імунні порушення, причому дослідження показали, що визначення функції Т-лімфоцитів є діагностичним і прогностичним критерієм тяжкості імуномедіаторних порушень у хворих на псоріаз [227, 233, 234]. Роль Т-клітин в псоріатичній патології демонструє високий ступінь системного запального процесу, зокрема, Т-хелперів Th-1, Th-17 і Th-23 клітинних популяцій. При стимулюванні лімфоцитів вивільняються запальні цитокіни, такі як TNF- α , інтерлейкіни IL-17 і IL-23. Запалення, що виникає при псоріатичній хворобі, носить системний характер [33, 38]. Дослідниками передбачається його стимулюючий вплив на імунологічні, які обтяжують перебіг і збільшують терміни тривалості псоріазу, а також призводять до розвитку супутніх захворювань [185].

Порушення імунної системи виявляються, як в клітинній, так і в гуморальній ланці. Зазвичай це зміни вмісту імуноглобулінів основних класів, циркулюючих імунних комплексів, пулу лімфоцитів в периферичній крові, В- і Т-популяцій і субпопуляцій лімфоцитів, клітин-кілерів, фагоцитуючої активності сегментоядерних лейкоцитів [16, 70].

Імунологічні дослідження встановили обумовленість псоріазу функціональними аномаліями Т-лімфоцитів. Показано, що імунологічні механізми розвитку псоріазу відносяться до Th-1 типу, коли опосередкована відповідь супроводжується експресією IL-2 та TNF- α . Медіатори запалення, що продукуються CD4⁺ Т-лімфоцитами-хелперами і антигенпрезентуючими клітинами епідермісу в зоні висипу можуть бути медіаторами в процесах

гіперпроліферації кератиноцитів, а також факторами запалення і сприяти підтримці патологічного процесу [15, 41].

Псоріаз характеризується порушенням апоптозу [72]. При цьому порушення регуляції загибелі клітин відбувається не тільки в кератиноцитах, але й в імунокомпетентних клітинах запального інфільтрату. Відповідно до цієї гіпотези збільшення тривалості життя клону Т-лімфоцитів, активованого аутоантигеном, призведе до зростання кількості популяції і, як наслідок, до збільшення продукції цитокінів: $\text{TNF-}\alpha$, IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, що в свою чергу буде підтримувати гіперпроліферацію кератиноцитів [43, 52].

У хворих на псоріаз імунокомпетентні клітини мігрують з дерми в епідерміс, де вони виділяють запальні цитокіни і викликають запалення, і надалі стимулюють кератиноцити до проліферації, одночасно порушуючи їх здатність до нормального дозрівання і диференціювання. Крім того, імунокомпетентні клітини хворих на псоріаз викликають посилене утворення нових дрібних судин в шкірі під бляшками [227, 238].

Відомо, що в системі вродженого імунітету імунокомпетентні клітини мають рецептори, які в ході тривалої еволюції даного виду придбали здатність до розпізнавання специфічних білків та інших антигенів, які зазвичай знаходяться на поверхні або в складі патогенів, зокрема збудників різних інфекційних хвороб.

В системі набутого імунітету імунокомпетентні клітини реагують на білки та інші антигени, з якими вони раніше ніколи не стикалися. У ролі антигенпрезентуючих клітин часто виступають клітини вродженої імунної системи, зокрема макрофаги і дендритні клітини. Коли імунна система організму робить помилку, то ідентифікує нормальний компонент тіла, як чужорідний антиген, й імунокомпетентні клітини атакують цей компонент, або тканину, як це відбувається при аутоімунних захворюваннях [149, 154].

1.3. Функціональне значення активності нейтрофілів в патогенезі псоріазу

Відомо, що найпоширенішими клітинами вродженого імунітету є нейтрофіли, до основних функцій яких належать респіраторні вибухи, що супроводжуються виробленням реактивних видів кисню, дегрануляція та утворення нейтрофільних позаклітинних пасток (NETs). Нейтрофіли формують адаптаційний імунітет, оскільки вони взаємодіють з антигенпрезентуючими клітинами та лімфоцитами в місцях ураження [235, 247].

Останнім часом велику увагу фахові дослідники привернули до ролі нейтрофілів у розвитку в прогресуванні аутоімунних захворювань, таких як псоріаз. Псоріатичні нейтрофіли призводять до посиленого дихального вибуху з явним накопиченням окислювального стресу, що пов'язано із системним запаленням. Протеази, що виділяються на етапі дегрануляції нейтрофілів беруть участь у протеолітичній активації запальних медіаторів та утворенні аутоантигенів при псоріазі [106]. Однак роль нейтрофілів при псоріазі не була глибоко проаналізована та узагальнена на основі новітньої літератури.

Зараз нейтрофіли вважаються регуляторами між вродженою та адаптивною імунною системою. Наявність надмірної кількості нейтрофілів характерна для генералізованого псоріазу. Останні повідомлення свідчать, що виснаження нейтрофілів суттєво полегшує симптоми псоріазу у пацієнтів. Розуміння цього твердження є дуже важливим у встановленні патогенетичної ролі нейтрофілів в імунній відповіді при псоріазі.

Процес формування NETs, що можуть захоплювати та знищувати патогени для запобігання поширення антигенів, при псоріазі досконало не вивчений. Нещодавно було показано, що тільки специфічні антигени, такі як мікроорганізми, здатні індукувати NETs шляхом прямої взаємодії з нейтрофілами. Було продемонстровано, що нейтрофіли за дії антигенів

піддаються літичному нетозу, незалежному від TLR4. Отже, зростає доказ вирішальної ролі ендогенних та імунних факторів у процесі формування NETs [179].

Для того, щоб стимулювати запальну реакцію, було показано, що NETs в поєднанні з антигенами індукують вироблення IL-1 β макрофагами через шляхи каспази-1 та каспази-8 [71]. У хворих на псоріаз нейтрофіли попередньо активуються та утворюють NETs при псоріатичних ураженнях шкіри. NETs збільшуються в зразках крові й співвідносяться з тяжкістю псоріазу [140]. Вони створюють надзвичайне імуногенне середовище та беруть участь у початковій фазі псоріазу [141]. NETs стимулюють епідерміс до вивільнення запальних цитокінів за допомогою перехресних рецепторів TLR4 та IL-36 [144, 223]. Різні екзогенні та ендогенні фактори ініціюють імунну реакцію, що призводить до псоріазу, який включає дисбаланс Т-клітин, проліферацію кератиноцитів, ангіогенез та утворення аутоантигенів [167].

Хроматин NETs в псоріатичних бляшках супроводжується стимуляцією синтезу антимікробного пептиду LL-37, що виділяється кератиноцитами та запальних медіаторів, включаючи IFN- α та IFN- β у плазмоцитоїдних дендритних клітинах [147, 172]. Потім мієлоїдні клітини активуються для вивільнення багатьох прозапальних медіаторів, таких як IL-6, IL-12, IL-23 та TNF α [168], які відіграють важливу роль у ініціації Th1, Th17, Th22 [180]. Потім активація Th17 призводить до продукції та активації IL-17 нейтрофілів та кератиноцитів за допомогою рецепторів IL-17, що генерує глибоку відповідь на IL-17 [185].

Отже, вивчення функціонального стану нейтрофілів при псоріазі представляє інтерес, зокрема, через їх вирішальну роль у вродженій та адаптивній імунній системі. Респіраторний сплеск із генеруванням окисного вибуху, дегрануляцією та утворенням NETs є головними результативними функціями нейтрофілів та сприяють імунопатогенезу псоріазу.

Останнім часом велику увагу привернули до ролі NETs у псоріазі через те, що вони виробляються активованими нейтрофілами. Встановлено, що NETs є в псоріатичних шкірних бляшках і пустулах, а також у сироватці крові хворих на псоріаз. Надмірна експресія NETs призводить до активації інших клітин, що вивільняють IL-17, що стимулює синтез запальних медіаторів і, в свою чергу, призводить до автоматичного посилення синтезу та активності нейтрофілів.

Таким чином, визначення здатності до утворення NETs та ролі у патофізіології псоріазу в прогресуючій стадії залежно від клінічної форми захворювання через їх зв'язок між вродженою та адаптивною імунною системою є дуже актуальним.

1.4. Патогенетичне значення Toll-подібних рецепторів у розвитку та перебігу псоріазу.

Відомо, що TLRs експресуються на клітинах, що здійснюють першу лінію захисту: нейтрофілах, макрофагах, дендритних клітинах. Взаємодія RAMP з TLR призводить до послідовних етапів розвитку запальної реакції, що є основним механізмом реалізації вродженого імунітету [243, 244].

Толл-подібні рецептори (TLRs) розпізнають патогенасоційовані мікробні структури, вони експресуються на клітинах шкіри, в тому числі кератиноцитах. Система вродженого розпізнавання реалізується за допомогою клітин-ефекторів, що беруть участь в першій лінії захисту від всіх антигенно чужорідних сполук.

TLRs стимулюють синтез комплексу прозапальних цитокінів, які активують етапи запалення і забезпечують активацію різних типів клітин, що беруть участь в підтримці й регуляції запалення.

Численні експериментальні дослідження свідчать про ключову роль Toll-подібних рецепторів в патогенезі імунопатологічних захворювань [195, 219, 241]. У разі появи інфекційного процесу саме TLR розпізнають характерні для патогена структури і запускають каскади вродженого

імунітету, що призводить до активації транскрипційних факторів NF- κ B, AP-1 і IRF, які запускають каскади імунного захисту і запалення й призводять до підвищення продукції цитокінів та хемокинів [196].

Роль і функція TLRs в шкірі людини стала предметом вивчення порівняно недавно. У зарубіжній літературі наводяться нечисленні відомості про наявність різних TLRs на кератиноцитах різних шарів епідермісу здорових осіб.

За даними B.Baker, TLRs, які експресуються на клітинах епідермісу, можуть зазнавати зміни в міру просування кератиноцитів від базального шару епідермісу до рогового [109]. На думку E. James [170], кератиноцити шкіри здорових осіб експресують TLR1, TLR2, TLR4 і TLR5. A. Pivarsci [210] було встановлено наявність TLR2 і TLR4 у всіх шарах епідермісу шкіри здорових осіб. У дослідженнях M. Mempel [196] показано, що культура первинних кератиноцитів здорової людини виробляє TLR1, TLR2, TLR3, TLR5 і TLR9, у той же час TLR4, TLR6, TLR7 і TLR8 в цій же культурі не були виявлені.

Ряд авторів вважають, що TLRs активовані кератиноцити здатні ініціювати адаптивну імунну відповідь, зокрема, в дослідженнях S. Akira [101] було встановлено, що TLR-стимульовані кератиноцити викликали дозрівання дендритних клітин.

Роль TLRs дуже мало вивчена при псоріазі. E. Bugone і співавт. [120] виявили виражену експресію TLR1 на кератиноцитах базального шару епідермісу хворих на псоріаз. У дослідженнях B. Baker в ураженій шкірі хворих на псоріаз виявлена виражена експресія TLR2 у верхніх рядах шипуватого шару епідермісу, в той час як в шкірі здорових осіб і неуразених ділянок шкіри хворих на псоріаз експресія TLR2 була виявлена в нижніх рядах шипуватого шару, що розташовувалися над базальним шаром [109].

J.Curry зі співавторами виявили зменшення експресії TLR5 на кератиноцитах базального шару епідермісу ураженої шкіри хворих на псоріаз в порівнянні з шкірою здорових осіб [135]. Так само Катуніна і співавтори

виявили, що у хворих на псоріаз в дермі експресія TLR2 і TLR4 спостерігалася на ендотелії кровоносних судин, клітинах макрофагального і гістіоцитарного ряду запальних інфільтратів [39].

Кератиноцити в не ушкодженій шкірі служать бар'єрними клітинами, та за впливу ушкодження та за дії мікроорганізмів і їх продуктів, а потім цитокінів, вони активуються, експресують молекули адгезії і починають виділяти цитокіни, що є пусковими факторами і медіаторами імунних реакцій в шкірі. Надмірна активація Th2 клітин може привести до переваги прозапальних цитокінів в ініціації розвитку псоріаза.

При вивченні експресії TLRs при псоріазі були отримані результати, які носять суперечливий характер. У патогенезі псоріазу певну роль відіграє мікробний фактор, що ускладнює перебіг захворювання. При дослідженні біопсійних фрагментів неушкодженої шкіри у хворих на псоріаз і нормальної незміненої шкіри здорових донорів було продемонстровано, що нормальні кератиноцити експресують TLR1, TLR2 і TLR5 у всіх шарах епідермісу, але більш виражена експресія спостерігалася в базальних кератиноцитах. Відзначено, що в псоріатичних осередках експресія TLR2 була значно вище в верхніх шарах епідермісу, а експресія TLR5 знижена в базальних кератиноцитах.

Однак ряд досліджень показали, що базальні кератиноцити в псоріатичних осередках експресують TLR1, TLR2, TLR4, TLR5 і TLR9. Виявлена висока експресія кератиноцитами в псоріатичних висипаннях білків теплового шоку HSPs, які можуть стимулювати секрецію TLR4 на антигенпрезентуючих клітинах, таким чином беруть участь в іммунопатології псоріазу [211, 234, 238].

Таким чином, сигнали, генеровані TLRs, активізують адаптивний імунітет через індукцію ко-стимуляторів, цитокінів і хемокинів, що залучають клітини адаптивного імунітету. Кожен з відомих TLRs бере участь в швидкому розпізнаванні специфічних мікробних компонентів, включаючи бактерії та гриби. Вивчення Toll-подібних рецепторів є досить цікавим,

особливо це стосується TLR2 і TLR4, і дозволить доповнити сучасні уявлення про патогенез псоріазу.

1.5. Патофізіологічні механізми активації васкулярного ендотеліального фактору росту (VEGF) при псоріазі

У хворих на псоріаз досі остаточно не визначено антигенний стимул, що викликає запалення, ангіогенез і проліферацію імунокомпетентних клітин, тому в результаті розвитку ендотеліальної дисфункції виникає дисбаланс між судинорозширювальними, судинозвужувальними, антитромботичними факторами, а також між проліферативними і прозапальними факторами [24, 223, 226].

Одним із біологічних маркерів ендотеліальної дисфункції служить фактор росту ендотелію судин (VEGF) [202]. VEGF може продукуватися різними типами клітин, в тому числі й макрофагами, кератиноцитами та грає важливу роль в нормальних фізіологічних функціях організму. Було доведено, що даний фактор спричиняє антиапоптотичну дію [221]. Оскільки в патогенезі псоріазу важливу роль грає ангіогенез, то оцінка особливості експресії васкулоендотеліального фактора росту у пацієнтів, які страждають на псоріаз є цікавим.

Дослідження останніх років показали, що одним з провідних факторів у патогенезі псоріазу є несбалансована васкуляризація, причому судинні порушення з'являються раніше епідермальних, дермальні судинні зміни виявляються в клінічно здорових ділянках шкіри хворих.

Однією важливою і найменш вивченої функцією ендотелію при псоріазі є регуляція росту судин, що визначається за допомогою ростових факторів, синтез яких в нормальних умовах практично не відбувається, однак збільшується при активації ендотелію [231].

Головним механізмом регуляції процесів ангіогенезу є вивільнення ангіогенних факторів, одним із потужних промоторів ангіогенезу є VEGF, що

являє собою мітоген для епітеліальних клітин судин, при цьому транскрипція мРНК VEGF індукується в основному цитокінами [104, 245].

Провідні дослідження закордонних фахівців показали, що VEGF є ключовим ангіогенним фактором, що відповідає за утворення нових кровоносних судин в псоріатичних бляшках [119, 163].

Є поодинокі роботи, присвячені вивченню ангіогенезу у хворих на псоріаз [171, 192, 246], але питання патогенетичної ролі VEGF при псоріазі в прогресуючій стадії залежно від клінічної форми залишається відкритим.

На підставі аналізу літературних джерел шляхом системного підходу до визначення основних патогенетичних механізмів виникнення псоріазу було встановлено основні ланки в механізмах патогенезу псоріазу, що представлені в дослідженнях як вітчизняних, так й закордонних фахівців: дегрануляція тучних клітин і проліферація ендотеліоцитів в судинах сосочків дерми, порушення мікроциркуляторного русла сосочків дерми за рахунок подовження їх посткапілярної частини з афінітетом Т-хелперів і утворенням інфільтрату, підвищена активність фосфоліпази А₂ і накопичення в осередках ураження лейкотрієнів, є потужними хемоатрактантами для нейтрофілів і лімфоцитів, Т-клітинний хелперний інфільтрат в сосочках дерми, підвищене утворення Т-хелперами трансформуючого фактора росту кератиноцитів, гіперпроліферація кератиноцитів, порушення їх диференціювання, незавершений апоптоз, аутоімунне запалення, відкладення в верхніх шарах шкіри циркулюючих імунних комплексів, що містять IgA, IgG, IgM, C3, порушення різних ланок імунорегуляції, недостатність макрофагальної системи, ендотоксикоз, що обумовлений прозапальними цитокінами, накопиченням токсичних продуктів перекисного окислення ліпідів та ознаки Т-клітинного імунodefіциту та імунологічний дисбаланс (рис.1.1).



Рисунок 1.1. Механізми патогенезу фенотипового псоріазу.

Таким чином, аналіз літератури показав, що при псоріазі виявлено порушення практично всіх ланок імунної регуляції шкіри, що призводять до виділення активованими кератиноцитами, лімфоцитами, макрофагами і резидентними клітинами дерми різних медіаторів імунної відповіді і запалення; поліамінів, протеаз, які посилюють проліферацію неповноцінних кератиноцитів і стимулюють розвиток запальних змін в шкірі. Представлені матеріали свідчать про те, що на клітинному і молекулярному рівні не можна пояснити механізм розвитку псоріазу активацією або пригніченням якого-небудь одного імунного показнику. Тож, псоріаз - це захворювання, що супроводжується змінами в кератиноцитах, лімфоцитах, нейтрофілах, ендотеліальних клітинах й інших клітинах сполучної тканини, індукованою комбінованими ефектами багатьох цитокінів. Безсумнівно, цитокіни і хімічні медіатори грають важливу роль в регуляції функціональної активності клітин при псоріазі, тому подальше вивчення ролі імунного та цитокінового стану при псоріазі необхідно для правильного обґрунтування провідних критеріїв у патогенезі псоріазу. На закінчення слід зазначити, що визначення причин та доповнення уявлень про патогенетичні особливості псоріазу, є досить актуальними.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Об'єкти і матеріал досліджень

2.1.1. Загальна характеристика хворих

Основну групу досліджуваних складали 114 хворих на псоріаз в прогресуючій стадії, з них 76 жінок і 38 чоловіків, що страждали на псоріаз в стадії прогресування, у віці 18-60 років, без наявності важкої соматичної або інфекційної патології, контрольну групу склали 10 осіб.

Критерії включення пацієнтів в терапевтичні групи:

- ✓ підпис інформованої згоди пацієнта на участь в дослідженні і виконання рекомендацій лікаря;
- ✓ наявність псоріазу, в стадії прогресування;
- ✓ вік хворих від 18 до 60 років.

Критерії виключення з дослідження:

- ✓ псоріатичний артрит;
- ✓ біологічна терапія в анамнезі;
- ✓ дані в анамнезі щодо проведення цитостатичної, імуносупресивної терапії (не пізніше 6 місяців);
- ✓ наявність важкої супутньої соматичної або інфекційної патології в стадії декомпенсації патологічного процесу;
- ✓ використання системних кортикостероїдів протягом 6 місяців до початку дослідження.

Віковий показник пацієнтів-учасників дослідження варіював в діапазоні від 18 і до 60 років (середній вік $45,3 \pm 3,1$ років). Більшість пацієнтів були у віці від 40 до 49 років – 40,4%, від 30 до 39 років -29,8%, пацієнти вікової категорії від 18 до 29 складали 18,4%, старшого віку - від 50 до 60 -11,4% обстежених (табл. 2.1).

Таблиця 2.1

Вікова характеристика хворих на псоріаз

Вік, роки	Кількість хворих	
	абс	%
18-29	21	18,4
30-39	34	29,8
40-49	46	40,4
50-60	13	11,4
Всього	114	100

Терміни тривалості псоріатичного процесу коливалися в досить широких межах, склавши у більшості пацієнтів від 1 до 4 років - 43 особи – 37,7% випадків (табл. 2.2).

Таблиця 2.2

Тривалість захворювання на псоріаз

Тривалість, роки	Кількість хворих	
	абс	%
1–4 років	43	37,7
5–9 років	31	27,2
10–14 років	24	21,1
15–20 років	16	14,0
Всього	114	100

Маніфестація перших псоріатичних ефлоресценцій, в більшості випадків відзначалася найчастіше у віці 18-30 років (45,6% випадків), найменша кількість випадків маніфестації псоріазу була зафіксована у віці старше 50 років, що складало 5,3% (табл. 2.3).

Таблиця 2.3

Вік маніфестації псоріазу у хворих

Вік маніфестації, роки	Кількість хворих	
	абс	%
0-17	8	7,0
18-30	52	45,6
30-40	36	31,6
40-50	12	10,5
50-60	6	5,3
Всього	114	100

У 18 (15,8%) спостережень псоріатичний процес носив обмежений характер, в 96 випадках (84,2%) - поширений (рис. 2.1).

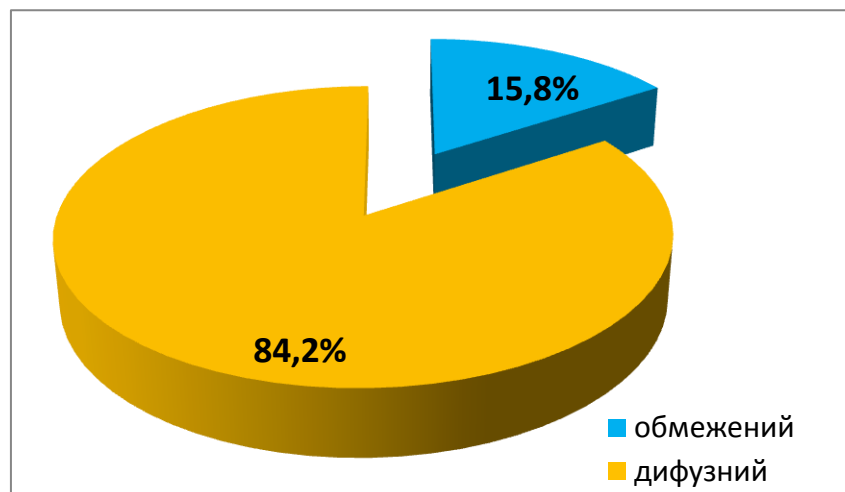


Рисунок 2.1. Характер розповсюдженості висипань у хворих на псоріаз (%).

У 75 пацієнтів (65,8%) псоріатичне ураження було представлено епідермо-дермальними вузликами і бляшками з сріблясто-білими дрібними лусочками на поверхні й віночком еритеми по периферії вогнищ у вигляді піднятих над поверхнею здорової шкіри ділянок запаленої, червоної, гарячої на дотик шкіри, потовщена луската й суха шкіра легко відшаровувалася.

Псоріатичні бляшки формували пластини бляшок (вульгарна форма – рис. 2.2).



Рисунок 2.2. Псоріатичне ураження хворих: псоріатичні бляшки та пластини, шкіра легко відшаровується (вульгарна форма).

У 12 пацієнтів (10,5%) вогнища ураження характеризувалися наявністю великої кількості маленьких, піднятих над поверхнею здорової шкіри, сухих, червоних, схожих за формою на краплі або невеликі точки (краплеподібна форма), кружечки елементів ураження були яскраві, інфільтровані, з нашаруванням жовтих лусочок. Псоріатичні елементи висипали на великій поверхні шкіри, найбільш часто стегна, на гомілках, передпліччях, плечах, волосистій частині голови (себорейний варіант), спині, шиї. Себорейний варіант псоріазу характеризувався наявністю на волосистій частині голови, в області грудини, міжлопатковій області, в області складок тіла помірно інфільтрованих вогнищ з ексудативним компонентом, покритих масивними лусочками жовтого кольору. Тріада псоріатичних феноменів була позитивною у всіх пацієнтів. У дослідження включалися пацієнти з псоріатичний процесом виключно в стадії прогресування, характерними проявами якого було: утворення свіжих псоріатичних висипань, яскравість забарвлення елементів, периферичним зростанням і злиттям окремих елементів з утворенням великих вогнищ ураження, наявністю віночка еритеми - «ободок Пільнова» по периферії вогнищ, визначенням тріади

класичних псоріатичних феноменів, з позитивною ізоморфною реакцією Кебнера, суб'єктивними симптомами, що включають свербіж, печіння, відчуття стягування шкіри.

Хворі наголошували, що загострення відбувається після стрептококової інфекції - частіше ангіни або фарингіту.

У 10 випадках (8,8%) висипання були представлені червоними плямами, які розташовані в складках шкіри, не виступали над поверхнею шкіри з мінімальним лущенням. Найчастіше плями розташовувалися у складках в області зовнішніх статевих органів, в паху, на внутрішній поверхні стегон, пахвових западинах, складках під животом, під молочними залозами у жінок. За впливу тертя, травмування шкіри і виділення поту має ускладнення вторинною грибковою інфекцією та стрептококової піодермією (псоріатична форма – зворотнього псоріазу або згинальних поверхонь).

Пустульозна форма зустрічалася у 7,9% випадків обстежених пацієнтів. Над поверхнею шкіри виявлялися підняті пухирі, що були наповнені запальним ексудатом. Шкіра над поверхнею пустул і навколо них - червона, набрякла, запалена, потовщена, легко відшаровується та гаряча на дотик. Спостерігалось вторинне інфікування пустул. У 4 пацієнтів пустульозний псоріаз був обмеженим з локалізацією на кінцівках - пальмоплантарний пустульоз. У 5 пацієнтів пустульозний псоріаз був генералізованим, з широким розповсюдженням пустул по всій поверхні тіла.

Еритродермічний псоріаз був виявлений у 7,0% випадків та проявлявся генералізованим запаленням і лущенням, відшаруванням шкіри на великій частині поверхні шкіри. Псоріатична еритродермія супроводжувалася інтенсивним свербінням шкіри, набряком шкіри і підшкірної клітковини, інтенсивним болем шкіри. У всіх пацієнтів дослідної групи псоріатична еритродермія є результатом загострення вульгарного псоріазу внаслідок стресу та реактивація інфекційним процесом.

Тож, основні клінічні форми псоріазу у обстежених пацієнтів - учасників дослідження були представлені у 65,8% випадків вульгарною

формою, у 10,5% - краплеподібною, 7,9% - пустульозною, 7,0% - еритродермічною, інверсною - 8,8% (рис. 2.3).

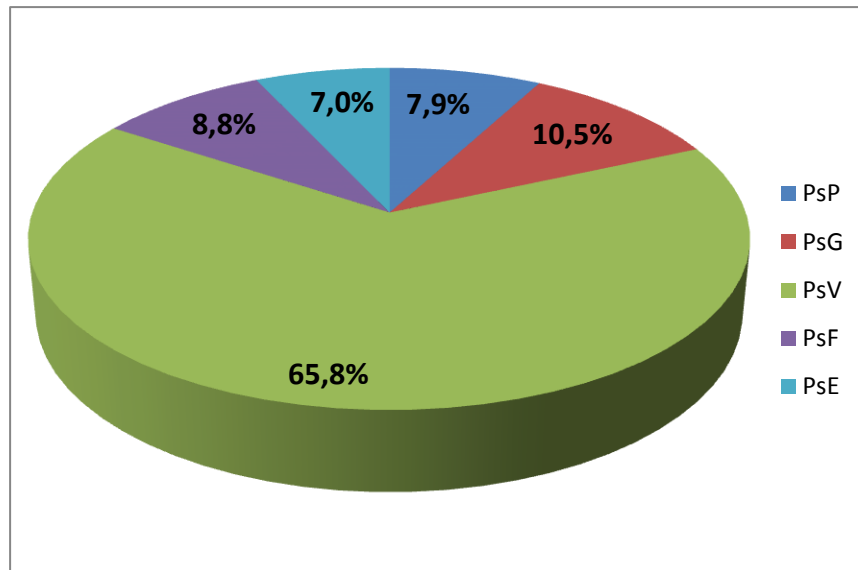


Рисунок 2.3. Графічне зображення частоти виникнення основних клінічних форм псоріазу у обстежених пацієнтів.

Примітка: PsV – вульгарна форма псоріазу; PsG – краплеподібна форма псоріазу; PsP – пустульозна форма; PsE – еритродермічна форма; PsF – псоріаз згинальних поверхонь.

Максимальне значення індексу PASI в групі хворих на псоріаз складає 64,1, мінімальне - 14,1. Розподіл пацієнтів, хворих на псоріаз, по групах було зроблено згідно діапазону значень індексу (табл. 2.4).

Таблиця 2.4

Розподіл пацієнтів залежно від значень індексу PASI

Значення індекса PASI	Кількість хворих	
	абс	%
<10	0	0
10-30	18	15,8
>30	96	84,2
Всього	114	100

Оцінку впливу псоріазу на якість життя пацієнтів основної групи проводили за допомогою індексу DLQI - дерматологічний індекс якості життя, залежно від його величини були сформовані групи в діапазонах значень, які характеризують вираженість несприятливого впливу псоріазу на якість життя пацієнтів (табл. 2.5).

Таблиця 2.5

Розподіл хворих залежно від показника вираженості несприятливого впливу псоріазу на якість життя

DLQI	Кількість хворих	
	абс	%
0-10	2	1,8
11-20	16	14,0
21-30	96	84,2
Всього	114	100

Всі хворі зазначали, що маніфестація псоріазу та подальші рецидиви відбуваються внаслідок інфекційного процесу, зокрема гнійно-запальних захворювань: ангіни, тонзиліту, абсцесів, флегмони, фурункулів, бульозного імпетиго, бешихи, що супроводжувалося виникненням дисбіозу шкіри (рис.2.4).

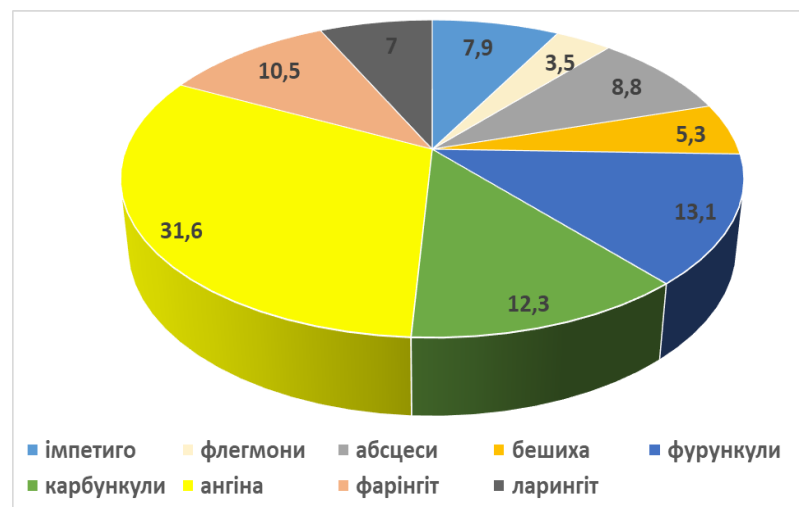


Рис. 2.4. Виникнення псоріазу внаслідок гнійно-запальних захворювань.

2.2. Методи дослідження

2.2.1. Клінічні методи дослідження:

Для оцінки тяжкості перебігу псоріазу використовували аналіз індексу поширеності і тяжкості псоріазу PASI та дерматологічний індекс якості життя DLQI. Для підрахунку PASI шкірний покрив ділили на 4 області (тулуб, верхні, нижні кінцівки, голова). Для кожної секції проводився розрахунок відсотка ураження. Після цього отриманим процентним значенням присвоювався індекс охоплення, де площа менше 10% відповідала 1, 10-29% - 2, 30 - 49% - 3, 50 - 69% - 4, 70 - 89% - 5, 90 - 100% - 6. Далі, незалежно для кожної з чотирьох частин тіла за 4-х бальною системою визначали параметри еритеми, інфільтрації, лущення - 0 - відсутність ознаки, 1 - слабка, 2 - помірна, 3 - тяжка, 4 - максимальна вираженість ознаки, а сума всіх складових множилася на індекс поширеності для кожної області. Загальний PASI обчислювався складанням PASI кожного відділу.

Для розрахунку індексу DLQI використовувалася стандартна анкета, яка призначена для пацієнтів старше 18 років. Індекс розраховувався шляхом підсумовування балів по кожному питанню. Результат варіював в діапазоні від 0, коли шкірне захворювання не впливає на життя пацієнта до 30 балів, коли захворювання спричиняє надзвичайно сильний вплив на життя пацієнта.

2.2.2. Лабораторні методи дослідження:

Забір та бактеріологічні дослідження матеріалу від хворих проводили загальноприйнятими методами [10] Для виділення чистої культури використовували рекомендовані поживні середовища: 5% кров'яний агар, сироватковий агар, сироватковий бульон, середовище Ендо, жовточно-сольовий агар, середовище Хью-Лейфсона (OF-тест), середовище Мюллера-Хінтона, середовище Сабуро [62]. Виділені чисті культури клінічних штамів ідентифікували за допомогою ідентифікаційних наборів МІКРО-ЛА-ТЕСТ® які призначені для проведення стандартної ідентифікації з використанням мікрометодів і дозволяють проводити ідентифікацію більшості клінічно важливих мікроорганізмів у короткий термін. Суспензії мікроорганізмів із

певною концентрацією мікробних клітин готували за шкалою McFarland з використанням приладу Densi-La-Meter (PLIVA-Lachema a.s., Чехія) згідно з інструкцією до приладу (для ентеробактерій мутність суспензії відповідала – 1 ступеню за шкалою мутності McFarland, для стафілококів та неферментуючих бактерій – 2 ступеню, стрептококів, грибів – 3 ступеню).

Приготування суспензій мікроорганізмів із визначеною концентрацією мікробних клітин проводилося за допомогою електронного приладу Densi-La-Meter (PLIVA-Lachema a.s., Чехія) за шкалою McFarland згідно з інструкцією до приладу. Ферментативну ідентифікацію проводили за допомогою ідентифікаційних наборів МІКРО-ЛА-ТЕСТ® (рис. 2.4), які призначені для проведення стандартної ідентифікації з використанням мікрометодів і дозволяють проводити ідентифікацію більшості клінічно важливих мікроорганізмів у короткий термін.



Рисунок 2.4. Ідентифікаційні набори МІКРО-ЛА-ТЕСТ®.

Оптичну щільність біоплівок та планктонних клітин вимірювали за допомогою мікропланшетного рідера «Multiskan EX» (тип 355), що являє собою фотометр зі змінними фільтрами й здатний проводити стандартні фотометричні вимірювання.

Синхронізація періодичної культури шляхом селекції (метод Мітчисона і Вінсента) [198]. Синхронізація періодичних культур досліджуваних штамів проводилася після встановлення кінетики росту асинхронної культури. Готували 500 мл стерильного поживного середовища (сироватковий агар) в кількох колбах. Інкубували клітини в системі періодичного культивування до середини експоненційної фази. Швидко охолоджували культуру до 0-4 °С, занурюючи колби в крижану баню. Клітини збирали 10-хвилинним центрифугуванням на холоду при 10 000 g. Осад клітин ресуспендували в 2 мл крижаного буфера (0,1 М калій-фосфатного буфера, рН 7,0), на гомогенізаторі типу Vortex. Наносили суспендовані клітини на стерильний охолоджений градієнт щільності фіколу. Закриті кришками епендорфи з клітинами акуратно поміщали в охолоджену центрифугу і центрифугували 15-20 хв при 2500 g на холоду). 0,5 мл найлегшої фракції клітин з епендорфу вносили в колбу з нагрітим поживним середовищем. Вимірювали оптичну щільність й визначали її поетапне збільшення, що свідчило про синхронне зростання культури.

Вивчення біоплівкоутворюючих властивостей бактерій проводили за допомогою визначення здатності штамів бактерій до адгезії на поверхні полістиролових планшетів [206]. Штами вирощувалися за загальноприйнятими у мікробіології методами на рекомендованих для кожної родини бактерій середовищах та умовах культивування. Отримані культури змивали суспензійними середовищами, які індивідуальні для кожної родини бактерій. Вимірювання оптичної щільності початкової бактеріальної суспензії проводили на “Densi-La-Meter” і доводили концентрації відповідно до ступенів за McFarland: для ентеробактерій – 1 ($3,0 \pm 0,15 \cdot 10^8$ КУО/мл), для стафілококів – 2 ($8,4 \pm 0,15 \cdot 10^8$ КУО/мл),

P.aeruginosa – 2 ($6,0 \pm 0,2 \cdot 10^8$ КУО/мл) та стрептококів – 3 ($9,0 \pm 0,5 \cdot 10^9$ КУО/мл) за допомогою суспензійного середовища [7]. Для більш точного вимірювання оптичної щільності та отримання статистично достовірних результатів бактеріальна суспензія інокулювалася у комірки панелі дозатором по 200 мкл у 4-х повтореннях. Кількість інокульованих планктонних клітин підраховувалася на фотометрі «Multiskan EX 355» (рис.2.5) при довжині хвилі 540 нм і виражалася в умовних одиницях оптичної щільності. Здобута середня математична оптична щільність (з 4-х комірок) не відрізнялася від необхідної концентрації мікроорганізмів, більш ніж на 10%. При корекції оптичної щільності мікроорганізмів у початковій бактеріальній суспензії використовували суспензійне середовище. У якості контролю використовували стерильні суспензійні поживні середовища без бактеріальної культури.

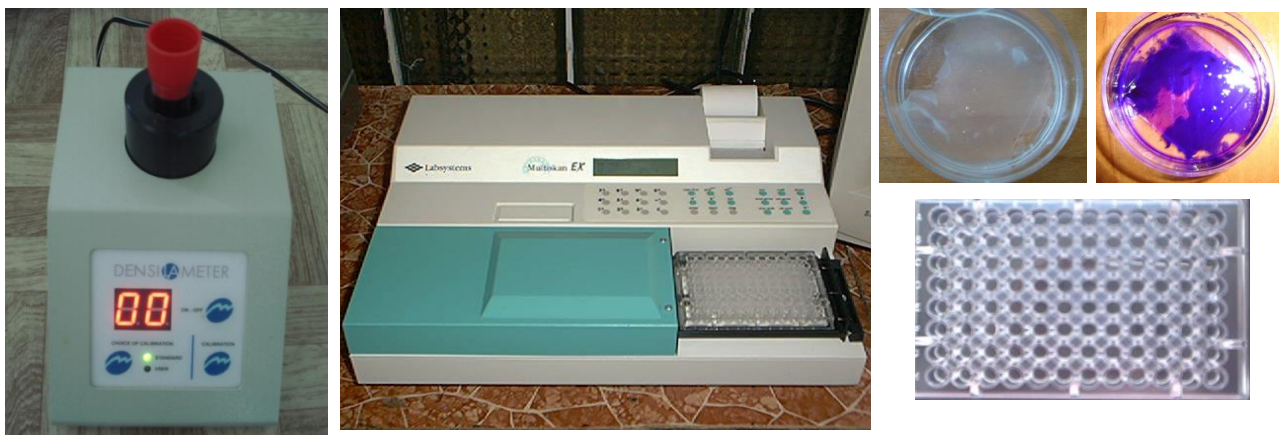


Рисунок 2.5. Мутномер «Densi-La-Meter (A), Фотометр «Multiskan EX 355» (Б), нативна та забарвлена Г-В біоплівка в чашках Петрі (якісний метод) та у планшетах (кількісний метод).

Після одержання бактеріальної суспензії з необхідною концентрацією мікроорганізмів у комірки планшета інокулювали по 200 мкл даної суспензії з відповідним поживним середовищем у 4-х повтореннях з подальшою інкубацією згідно з умовами для кожної родини бактерій у вологому контейнері під закритою кришкою планшета. Через 24 години інкубації проводили підрахунок кількості клітин на рідері. З комірок панелі вилучали

планктонні клітини й забарвлювали плівки. Для цього у комірку вносили 200 мкл фосфатного буферу й 15 мкл 1% спиртового розчину кристалвіолету та інкубували 45 хвилин при кімнатній температурі. Після триразового промивання фосфатним буфером у комірки для екстракції фарби з плівки додавали 250 мкл 96% етилового спирту та інкубували ще 45 хвилин при кімнатній температурі й вимірювали оптичну щільність цього розчину при довжині хвилі 540 нм. Інтенсивність забарвлення вмісту комірок відповідало ступеню плівкоутворення. Кількісним вираженням ступеня утворення біоплівки було значення оптичної щільності, що виміряне на спектрофотометрі при 540 нм [95].

Для отримання біоплівки використовували стерильні полімерні чашки Петрі діаметром 40 мм. У кожную чашку поміщали по 4 мл бульйону Мюллера-Хинтона і вносили добову культуру мікроорганізмів, виділених із вогнища псоріатичного ураження у пацієнтів. Інкубували протягом 12-24 години при $+37^{\circ}\text{C}$. Після інкубації поживне середовище зливали, двічі промивали поверхню чашок розчином Хенкса (по 2 мл), фіксували 10% розчином формаліну на забуференій ($\text{pH} = 7,2-7,4$) дистильованій воді, висушували, фарбували 1% розчином кристалвіолета і промивали дистильованою водою. Мікроскопія препаратів проводилась за допомогою мікроскопа Granum з масляною імерсією. Цифрові зображення бактерій і їх біоплівок отримували за допомогою відеокамери (відеоокуляра) (рис.2.6).

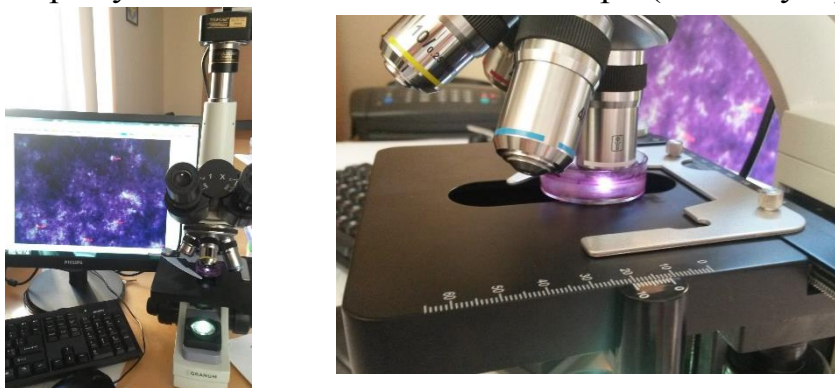


Рисунок 2.6. Мікроскопія біоплівок - мікроскоп Granum з масляною імерсією. Цифрові зображення бактерій і їх біоплівок - відеоокуляр TourCam 3.1.

Визначення субпопуляцій Т- та В-лімфоцитів периферичної крові за допомогою МКАТ, що помічені ФІТЦ, використовували при постановці реакції мембранної імунофлюоресценції в планшетах [88].

Фагоцитарну активність нейтрофілів досліджували за здатністю поглинати частинки полістирольного латексу [55].

Для визначення нейтрофільних пасток [31] ставили реакцію з використанням клітинної суспензії нейтрофілів периферичної крові пацієнтів, хворих на псоріаз, виділених на градієнтних розчинах фіколла-верографіна. Щільність верхнього шару градієнта становила 1,075-1,077, а нижнього - 1,093-1,095. Обсяг кожного градієнта дорівнював 2 мл. Через 40 хвилин центрифугування при 1500 об/хв між градієнтами з'являлося кільце гранулоцитів з чистотою 98-100% (рис.2.7). Кільце нейтрофілів акуратно збирали, переносили в стерильні центрифужні пробірки, тричі відмивали від градієнта стерильним фізіологічним розчином хлориду натрію центрифугуванням при 1500 об/хв протягом 10 хв і доводили до концентрації 5×10^6 клітин/мл.

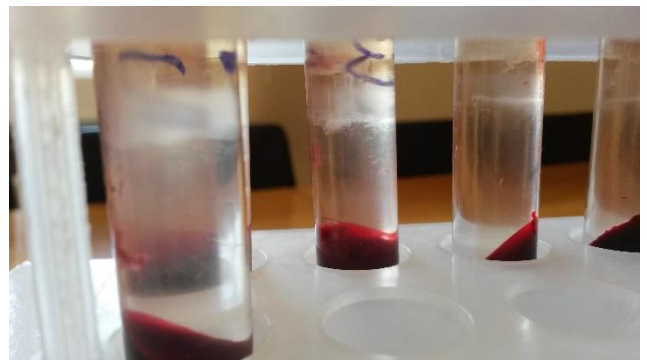


Рисунок 2.7. Виділення кільця нейтрофілів на градієнтних розчинах фіколла-верографіна.

Отриману суспензію клітин інкубували при температурі $+37^{\circ}\text{C}$ протягом 30 хв у присутності активатора. Потім суспензію наносили на скло, висушували і фіксували 96% етиловим спиртом з додатковою фіксацією клітин на склі за методом Лілі [56] в 10% забуференому формаліні. Для фарбування нейтрофільних пасток використовували 200 мкл робочого

розчину акридинового помаранчевого (концентрація 2мкг/мл). Облік проводили за допомогою люмінесцентного мікроскопа Люам при збільшенні 100x10x1,5, використовуючи фільтри, що забезпечують збудливе світло з довжиною хвилі не більше 490 нм і емісію з довжиною хвилі 520 нм. В результаті застосування даного способу нейтрофільні пастки були представлені у вигляді тонких яскравих ниток, які обіймали простір і в 2-3 рази перевершували діаметр нейтрофіла, а бактерії-активатори мали яскраво-помаранчевий колір. Такий спосіб забарвлення дозволив провести кількісну оцінку вмісту пасток. Проводився підрахунок 100 структур різних груп, і визначався відсотковий вміст кожної морфологічної одиниці. Такий спосіб забарвлення дозволив оцінити ефективність фагоцитозу і активність нейтрофільної позаклітинної пастки. Для цього розраховували наступні показники: 1. ФІ - число нейтрофілів з сегментованим ядром, що містять бактеріальні клітини в цитоплазмі, на 100 підрахованих клітин. 2. ФЧ - число бактерій в 100 підрахованих клітинах з сегментованим ядром в перерахунку на 1 клітину. 3. Вміст антигенів в NETs - число антигенів в 100 підрахованих пастках в перерахунку на 1 клітину.

Рівні цитокінів (IL-1 β , IL-10, IL-17, TNF- α), Toll-подібних рецепторів, VEGF, IgA, IgM, IgG визначено за допомогою ІФА (комерційні набори для імуноферментного аналізу (BioSource, Бельгія) і (Bender Medsystems, Австрія). Експресію TLR2, TLR4 оцінено методом проточної цитофлуориметрії з використанням моноклональних антитіл. Дане дослідження проводилося у лабораторії міжінститутського Референтного лабораторного центру НАМНУ м. Київ. У роботі використано МКАТ до CD14, що мічені FITC («Calt», «e-Biosciences», CHIA), а також до TLR2, що мічені PE («e-Biosciences», CI $\pm$ IA), до TLR4, що мічені PE Cy -5 («e-Biosciences», CIIA) до TLR9, що мічені PE («e-Biosciences», CLLIA). Як ізотиповий контроль використано IgG2a, що мічені FITC («Calt», «e-Biosciences», CLUA) та IgG2a, що мічені PE («e-Biosciences», CLLIA).

Статистична обробка результатів досліджень [54, 65, 73].

Достовірність отриманих значень перевіряли за допомогою t критерію Стьюдента. При обробці результатів використані методи параметричної статистики із застосуванням програми «Statistica 7».

РОЗДІЛ 3

КЛІНІЧНА ТА МІКРОБІОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ХВОРИХ НА ПСОРИАЗ В ПРОГРЕСУЮЧІЙ СТАДІЇ ЗАЛЕЖНО ВІД КЛІНІЧНОЇ ФОРМИ

Вплив псоріазу на професійну, побутову, соціальну діяльність людини і якість життя є вельми значимим і робить дану проблему актуальною для сучасної медицини, а складний системний характер, неясність етіології і патогенезу, тривалий перебіг з періодами загострень і ремісій, зумовлюють розгляд великої кількості різноманітної клінічної та лабораторної інформації з різних наукових шкіл, які використовують неоднакові методичні підходи. Тому багато клініко-лабораторних даних є суперечливими і потребують подальших досліджень.

3.1. Клінічна оцінка пацієнтів, хворих на псоріаз в прогресуючій стадії, клінічний випадок

У зв'язку з тим, що у відкритій літературі не було знайдено посилання на залежність порушень процесів адаптації за дії зовнішнього середовища у чоловіків і жінок, то у даному дослідженні не було передбачено розподіл груп хворих залежно від статі. Залежно від стадії захворювання з 114 хворих на псоріаз стаціонарна стадія виявлена у 18 хворих (15,8%) та у переважній більшості обстежених констатована прогресуюча стадія захворювання - 96 (84,2%), з них у 57 випадках було встановлено вульгарну форму псоріазу. У цих хворих було відзначено множинний, з локалізацією на тулубі і кінцівках, дрібнопапульозний висип округлої форми діаметром 2-5мм, що був покритий багат шаровими сріблястими лусочками. По периферії більшості цих елементів виявлялася незначна зона еритеми - симптом Пільнова. Ізоморфна реакція на механічне подразнення - феномен Кебнера - була позитивною. При зіскоблюванні з поверхні папул послідовно виникала тріада характерних для захворювання симптомів: стеаринової плями, якій притаманне посилення

лущення при легкому зіскоблювання, що надає поверхні папул подібності з розтертою краплею стеарину; термінальної плівки, яка виникає після видалення лусочок і проявляється у вигляді вологої тонкої блискучої поверхні елементів; точкової кровотечі, яка виникає після обережного зіскоблювання термінальної плівки у вигляді не зливних крапель крові. На шкірі тулуба і кінцівок спостерігалися множинні папульозні елементи яскраво-червоного кольору, які покриті сріблясто-білими лусочками і нечисленні бляшки розміром від 2-3 см до 5-10 см в діаметрі, інфільтровані, з яскравою облямівкою по периферії. У 75,4% з них в області розгинальної поверхні передпліччя на передній поверхні гомілок, на шкірі попереково-крижової області і живота було виявлено, що великі бляшки зливалися, утворюючи розповсюджені дифузні вогнища ураження. Колір цих осередків ураження був яскраво-рожевим, а поверхня - рясно вкрита сріблясто-білими лусочками. У більшості таких хворих по периферії дифузних вогнищ ураження спостерігалися дрібнокрапельні червоні псоріатичні папули, подекуди і в області фолікулярного апарату. У більшості описуваних хворих середній термін існування псоріазу становив 1-14 років, при цьому період останнього загострення, з приводу якого вони були госпіталізовані в клініку, становив 1-2 місяці. Хворі скаржилися на свербіж, відчуття печіння і стягання в ділянках осередків ураження. У переважній більшості випадків свербіж був незначний, проте у 28 пацієнтів поява висипу супроводжувалася інтенсивним свербіжем.

У 9 хворих з прогресуючою стадією псоріазу були виявлені численні дрібнопапульозні елементи (PsP клінічна форма псоріазу), кількість яких перевищувала таку в порівнянні зі стаціонарною стадією. У стадії прогресування колір папул був яскравим і вони були більш інфільтровані в порівнянні з елементами стаціонарної стадії. При цьому виникнення характерних для псоріазу висипань тривало 3-6 доби вже після прибуття хворих у стаціонар, а великі псоріатичні бляшки демонстрували схильність до периферичного росту.

Стаціонарна стадія була констатована у 18 хворих на псоріаз. Суб'єктивні відчуття у вигляді свербіння і печіння в цій групі хворих були відсутні, але відзначалися скарги на відчуття стягування в області великих вогнищ ураження. Шкірний процес у хворих зі стаціонарної стадією псоріазу був поширеним і характеризувався наявністю множинних псоріатичних бляшок, переважно застійного рожевого кольору, розміром від 1-2 см до великих зливних вогнищ ураження. Висип мав округлі обриси. Зливні вогнища ураження локалізувалися на шкірі попереково-крижової області, живота і стегон. Деякі з таких осередків ураження були значно інфільтровані і кілька височіли над рівнем ураженої патологічним процесом шкіри. Їх поверхня була вкрита дрібними пластинчастими лусочками, в деяких випадках - щільними лусочками й скоринками. Нові псоріатичні висипання в цій стадії не з'являлися, а периферичні зростання - припинялися. Слід зазначити, що у 11 із загальної кількості таких хворих подібні інфільтровані бляшки існували без будь-якої динаміки протягом 1 - 5 років.

Хворі на псоріаз в прогресуючій стадії мали різну площу уражених ділянок шкіри (рис.3.1).

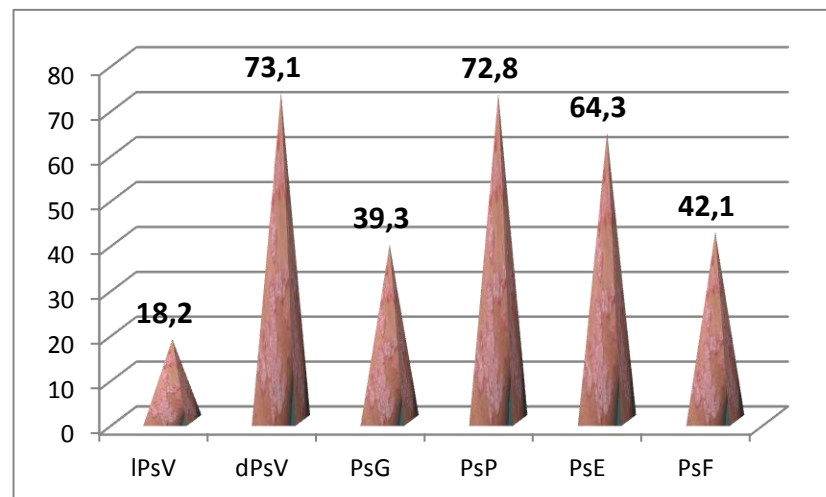


Рисунок 3.1. Середній показник (%) площі ураженої шкіри у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії залежно від клінічної форми захворювання.

Цікавим є зв'язок псоріазу з порами року (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

Розподіл хворих залежно від сезонності

Хворі на псоріаз	Сезонна форма захворювання			Всього
	Осінньо-зимова	Весняно-літня	недиферен- ційована	
абс	86	17	11	114
%	75,4	14,9	9,7	100

Зв'язок загострення псоріазу з порою року відзначена у 103 хворих. У 86 хворих (75,4%) зареєстровано загострення переважно в осінньо-зимовий період, у 17 хворих (14,9%) - у весняно-літній, від перебування на сонці таким хворим ставало гірше. У практичному відношенні дуже важливо правильно встановити форму захворювання, оскільки від цього залежить правильний вибір лікування псоріазу. У 11 хворих (9,7%) протягом останніх 3-5 років не відмічено зв'язку загострення процесу з сезонністю. Як правило, у цих хворих констатовано генералізовані висипання, яким притаманне торпідний перебіг, і резистентність до різних терапевтичних засобів. У 5 хворих з моменту виникнення псоріазу шкірний процес існував без будь-якої динаміки протягом 2-5 років. Ці хворі не могли відзначити змін в перебігу псоріазу залежно від сезонності. Слід зазначити, що серед спостережуваних хворих на псоріаз були представлені всі основні форми і стадії захворювання і різні групи хворих за віком і статтю, що відповідає сучасним уявленням про клінічні особливості хвороби, викладені в роботах інших фахівців в даній області [27, 64, 117, 122].

Клінічний випадок. Хворий Ф. звернувся в листопаді 2016 року на черговий огляд дерматолога, перебуваючи на диспансерному спостереженні з 2010 року, коли вперше було встановлено діагноз:

дифузний вульгарний бляшковий псоріаз з помірним ступенем інфільтрації, стаціонарна стадія, помірно рецидивуючий перебіг. Початок захворювання і подальші загострення шкірного патологічного процесу пов'язував з частими нервовими перенапруженнями. Спадковість з приводу псоріазу обтяжена по материнській лінії. Загострення спостерігав 1 раз в рік в зимовий період. Неодноразово лікувався амбулаторно і стаціонарно відповідно до протоколів. Протягом 2016-2019 років хворий Ф. був госпіталізований 3 рази зі скаргами на масивні висипання на шкірі волосистої частини голови, тулуба, верхніх і нижніх кінцівок. Періоди загострення тривали від 2 до 3 місяців. 17.11.2016 р. - під час огляду на шкірі волосистої частини голови, передньої поверхні тулуба, верхніх кінцівок виявлено інфільтративні еритематозні вогнища. Вся поверхня висипань покрита сріблясто-білими лусочками, які легко відшаровуються. Псоріатична тріада позитивна. Індекс PASI = 38,3. За результатами клініко-лабораторного обстеження встановлено діагноз: дифузний вульгарний псоріаз прогресивна стадія. 1.11.2017 р. - під час огляду на шкірі волосистої частини голови, саме у потиличній області, передній і задній поверхні тулуба, місцями на верхніх і нижніх кінцівках виявлено набряково-інфільтративні еритематозні вогнища. Вся поверхня висипань покрита сріблясто-білими лусочками, які легко відпадають. Псоріатична тріада позитивна. На нігтьових пластинках першого і другого пальця обох рук спостерігаються точкові вдавлення («симптом наперстка»). Індекс PASI = 45,8. За результатами клініко-лабораторного обстеження встановлено діагноз: поширений вульгарний псоріаз з торпідним перебігом, прогресуюча стадія, помірно рецидивуючий перебіг. Псоріатична оніходістрофія. 30.10.2018 р. - під час огляду на шкірі волосистої частини голови, всіх поверхнях тулуба, верхніх і нижніх кінцівок виявлено масивні, набряково-інфільтративні еритематозні вогнища. Вся поверхня висипу вкрита сріблясто-білими лусочками (рис.3.2).



Рисунок 3.2. Поширений вульгарний псоріаз з різко вираженим ступенем інфільтрації, прогресуюча стадія.

Псоріатична тріада позитивна. На нігтьових пластинках спостерігаються численні точкові вдавлення, поперечні борозни. Індекс PASI=53,6. За результатами клініко-лабораторного обстеження встановлено діагноз: дифузний вульгарний псоріаз з торпідною течією і різко вираженим ступенем інфільтрації, прогресуюча стадія, помірно рецидивуючий перебіг. Псоріатична оніходістрофія. Перебіг псоріазу класифіковано як тяжкий.

Під час кожного загострення хвороби до початку терапії всім пацієнтам з псоріазом в прогресуючій стадії проводилися імунологічні дослідження, з визначенням субпопуляцій основних лімфоцитів, активності фагоцитозу та нетозу, цитокінового профілю, встановленням рівнів експресії Toll - подібних рецепторів 2, 4 типів та VEGF – фактору росту ендотелію, виявлялися зміни мікробіоценозу шкіри та визначалися провідні патогени у вогнищі псоріатичного ураження з встановленням щільності основного фактору патогенності - біоплівкоутворення.

3.2 Структура мікробіоценозу шкіри хворих на псоріаз в прогресуючій стадії

Організм людини колонізований різними мікробними спільнотами. У кожному з біотопів макроорганізму в нормі кількість мікроорганізмів і їх видовий склад характеризуються певним еубіозом, тобто постійністю, - це відноситься і до мікробіоценозу шкіри людини [115]. Прийнято вважати, що до постійної бактеріальної флори шкіри відносяться пропіонібактерії, умовно-патогенні коринебактерії, епідермальні і сапрофітні стафілококи, мікрококи. Окремі види, що відносяться до транзиторної мікрофлори, наприклад *S. aureus*, можуть бути присутніми в якості постійної резидентної флори у деяких людей на певних ділянках тіла [157]. Розподіл мікрофлори на різних ділянках шкіри людини є нерівномірним - найбільша кількість її виявлено в пахвовій западині, на шкірі промежини, менше на лобі, значно менше на закритих сухих місцях: шкірі передпліччя, спини [156]. Вважається, що мікроорганізми на шкірі формують мікроколонії чисельністю до 10^5 [155]. Збалансований стан мікробіоценозу шкіри забезпечує колонізаційну резистентність даного біотопу. Порушення тих чи інших компонентів гомеостазу, включаючи різну шкірну патологію, змінює сталість мікроекосистеми і призводить до дисбактеріозу шкіри. Показники мікробного обсіменіння можуть варіювати залежно від факторів зовнішнього середовища та від багатьох інших факторів [1]. Тому, обстеження шкірної мікрофлори є прогностичним тестом, що дозволяє встановити можливість рецидиву захворювання при погіршенні стану даного мікробіоценозу шкіри при псоріазі.

З огляду на вищевикладене, метою даного підрозділу роботи було вивчення мікробіоценозу шкіри хворих на псоріаз в прогресуючій стадії захворювання для визначення наявності шкірного дисбактеріозу. Крім того, у зв'язку з малою висвітленістю даного питання в науковій

літературі, було досліджено та виявлено провідні патогени з встановленням здатності формувати біоплівки, які є одним з основних факторів патогенності і вірулентності мікроорганізмів.

При вивченні мікрофлори з різних біотопів шкіри у пацієнтів з псоріазом в прогресуючій стадії зазначалося більш виражене мікробне забруднення на всіх досліджуваних уражених псоріатичним процесом ділянках в порівнянні з особами контрольної групи. Серед виділених мікроорганізмів найбільшу кількість займали коагулазонегативні стафілококи, стрептококи і мікрококи та умовно-патогенні гриби.

Відомо, що характеристика частоти виявлення та колонізації мікроорганізмами шкіри не дає повного уявлення про мікробіоценоз. Різні види мікроорганізмів, що входять в структуру мікробного консорціуму, по-різному взаємодіють один з одним і мають неоднакові типи популяційних коливань, тому для визначення частки участі різних видів мікроорганізмів в структурі біоценозу було використано показник сталості на підставі частоти зустрічаємості, що дозволить встановити домінанти мікробіоценозу уражених псоріатичним процесом шкіри у хворих в прогресуючій стадії з різним клінічним перебігом псоріазу.

В результаті проведеного дослідження було встановлено, що домінуючими видами мікробіоти шкіри хворих на псоріаз в прогресуючій стадії є грампозитивні коки: *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus capitis*, *Streptococcus viridans*, *Streptococcus pyogenes*, *Acinetobacter spp.* та гриби: *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Trichophyton interdigitale* (рис.3.3), порівняно з контрольною групою, в якій дані мікроорганізми до складу домінуючих видів не відносилися, але показники сталості, що були розраховані на підставі частоти виявлення мікроорганізмів на уражених ділянках шкіри хворих, відрізнялися у групах з різним клінічним перебігом. Так, показник сталості для *Staphylococcus epidermidis* є досить високим у пацієнтів з lPsV, dPsV, PsE та PsF (84,9%, 98,4%, 92,6% та

86,7% відповідно) порівняно з контролем. Звертає на себе увагу показник сталості *Staphylococcus aureus* – у пацієнтів з PsG він збільшився у 3,2 рази, а при PsP – у 3,3 рази, причому *Staphylococcus aureus* у групі контролю відносився до додаткової категорії мікроорганізмів, що входять у склад мікробіоценозу шкіри.



Рисунок 3.3. Домінуючі види мікробіоти шкіри хворих на псоріаз в прогресуючій стадії: *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus capitis*, *Streptococcus viridans*, *Streptococcus pyogenes*, *Acinetobacter spp.* та гриби: *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Trichophyton interdigitale*.

Спостереження виявили значне підвищення показника сталості *Acinetobacter spp.* у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії з PsP у 10 разів, PsG – у 9,8 рази, PsF – у 8,3 рази, lPsV – у 7,7 рази, dPsV та PsE – у 6 разів.

Досить цікавий факт вегетування умовно-патогенних та патогенних грибів на шкірі хворих на псоріаз в прогресуючій стадії: високим показник сталості був для *Aspergillus fumigatus*, *Trichophyton interdigitale*, *Trichophyton rubrum*, *Malassezia furfur*, які найчастіше висівалися при PsV, PsE та PsF та не входили у склад нормо флори шкіри людини. Для *Candida albicans* показник сталості був підвищеним при всіх клінічних формах псоріазу в прогресуючій стадії, але більші значення його були у хворих з PsV, PsF та PsE.

Крім того виявлено, що у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії при всіх клінічних формах захворювання у складі мікробіоценозу ураженої шкіри до додаткових видів мікроорганізмів відносилися: *T.rubrum*, *A.glaucus*, *A.parasiticus*, *A.niger*, *S.capitis*, *C. pseudodiphtheriticum* та *S.viridans*. Одночасно були встановлені випадкові представники мікробіому шкіри хворих на псоріаз в прогресуючій стадії, до яких відносилися: *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Micrococcus varians*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecium*, *Aspergillus terreus*, *Acinetobacter spp.*, *Bacillus spp.*, *Providencia spp.*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium* та *Proteus vulgaris* (табл.3.2).

Таблиця 3.2

**Структура мікробіоценозу шкіри хворих на псоріаз в
прогресуючій стадії її за рівнем показників сталості порівняно з
групою контролю**

№	мікроорганізми	категорія	Показник сталості, %						
			К	PsV		PsG	PsP	PsE	PsF
				lPsV	dPsV				
1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	домінуючі види	62,4	84,9	98,4	69,1	72,4	92,6	86,7
2	<i>Staphylococcus warneri</i>		54,2	64,2	66,5	78,9	81,2	64,4	68,3
3	<i>Streptococcus pyogenes</i>		-	52,6	51,8	66,3	68,4	59,1	54,2
4	<i>Micrococcus luteus</i>		51,1	54,2	58,3	61,4	60,8	56,8	59,4
5	<i>Candida albicans</i>		23,1 (додатковий)	69,2	66,5	51,2	53,4	64,3	71,4
6	<i>Aspergillus fumigatus</i>		-	82,3	70,3	54,8	56,2	72,1	84,6
7	<i>Trichophyton interdigitale</i>		-	80,3	64,6	51,3	52,8	62,7	82,1
8	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>		52,1	61,8	80,2	56,2	58,4	86,9	63,6
9	<i>Staphylococcus aureus</i>		26,4 (додатковий)	51,4	68,2	83,4	86,2	69,6	52,4
10	<i>Trichophyton rubrum</i>		-	74,2	62,4	52,1	50,8	58,2	76,8
11	<i>Malassezia furfur</i>		-	68,4	56,8	54,3	51,6	54,7	69,2
12	<i>Acinetobacter spp.</i>		8,6 (транзитний)	66,3	52,6	83,9	86,4	51,3	71,6
13	<i>Aspergillus glaucus</i>	додаткові види	-	27,6	26,3	25,4	25,8	26,9	29,6
14	<i>Aspergillus parasiticus</i>		-	28,2	25,1	26,3	25,7	26,4	30,1
15	<i>Aspergillus niger</i>		-	29,1	26,7	26,9	27,5	26,1	32,2
16	<i>Staphylococcus capitis</i>		32,5	41,4	44,2	39,3	42,1	43,2	39,3
17	<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>		-	25,1	25,6	26,2	26,4	25,8	25,4

Продовж.табл.3.2

18	<i>Streptococcus viridans</i>		16,4 (транзи торний)	29,3	38,6	42,1	44,2	39,1	31,8
19	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	транзиторні види	5,3	16,4	17,9	18,2	19,4	14,1	15,3
20	<i>Enterococcus faecalis</i>		-	8,7	9,6	10,4	11,8	8,4	9,2
21	<i>Micrococcus varians</i>		8,5	14,3	15,4	17,1	18,9	16,5	15,8
22	<i>Escherichia coli</i>		3,2	7,4	8,3	10,6	12,3	9,2	6,1
23	<i>Enterococcus faecium</i>		-	4,2	6,1	8,8	9,5	5,9	4,8
24	<i>Aspergillus terreus</i>		-	3,8	2,6	2,1	2,4	2,8	3,2
25	<i>Bacillus spp.</i>		12,1	14,1	15,4	15,9	16,1	15,2	14,8
26	<i>Providencia spp.</i>		-	6,2	7,1	7,4	8,2	7,9	6,8
27	<i>Aspergillus flavus</i>		1,7	2,4	2,1	1,8	1,9	2,2	2,9
28	<i>Penicillium</i>		2,6	6,4	5,3	4,2	4,6	5,7	6,9
29	<i>Proteus vulgaris</i>		-	3,2	4,1	5,6	5,9	4,4	3,6

Значення індексу сталості для основних представників мікрофлори шкіри людей контрольної групи представлені на рис. 3.4.

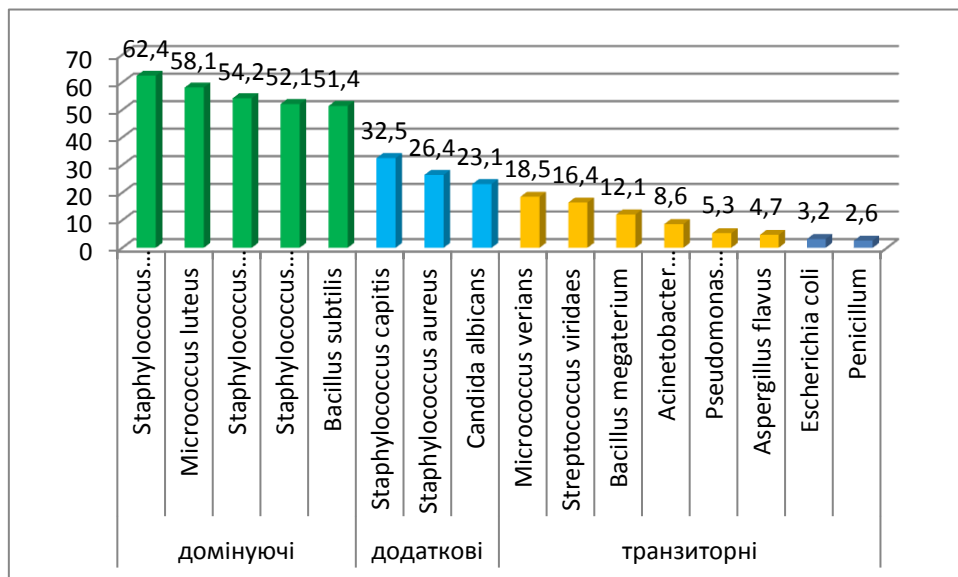


Рисунок 3.4. Структура мікробіоценозу шкіри людей контрольної групи за рівнем показників сталості.

За кількісним і якісним складом мікрофлори шкіри обстежених осіб було проведено аналіз мікрофлори шкіри, як на уражених, так й на інтактних ділянках шкіри та встановлено, що ступень обсіменіння мікроорганізмами на уражених ділянках шкіри варіюється в широких межах: середня щільність колонізації уражених ділянок шкіри хворих на псоріаз в прогресуючій стадії *Staphylococcus aureus* склала найбільш при PsP – $96,9 \pm 2,7$ КУО/см² та при PsG – $92,7 \pm 2,4$ КУО/см². Трохи менша щільність колонізації *Staphylococcus aureus* складала при PsE – $84,8 \pm 2,1$ КУО/см², при dPsV – $80,4 \pm 2,6$ КУО/см², при PsF – $71,2 \pm 1,8$ КУО/см² та lPsV – $66,9 \pm 1,4$ КУО/см², що перевищувало аналогічні показники інтактних ділянок цих хворих у 4 рази. При цьому в результаті кореляційного аналізу встановлено, що щільність колонізації уражених ділянок шкіри *S. aureus*, знаходилися в прямому взаємозв'язку з щільністю колонізації *Streptococcus pyogenes* (PsP – $74,8 \pm 2,9$ КУО/см² та при PsG – $69,2 \pm 2,6$ КУО/см²) цих ділянок ($r = +0.65$) $p < 0,01$. Так, найбільш частий представник нормофлори *S. epidermidis* висівався в кількості $78,6 \pm 2,1$ КОЕ/см² при dPsV та $82,1 \pm 2,7$ КУО/см² при PsE (на інтактних ділянках – $24,6 \pm 0,4$ КУО/см² та $26,9 \pm 0,8$ КУО/см² відповідно). Одним з провідних мікроорганізмом у складі мікрофлори шкіри хворих на псоріаз в прогресуючій стадії при PsG ($68,2 \pm 2,6$ КУО/см²), PsP ($72,3 \pm 2,9$ КУО/см²), lPsV ($54,7 \pm 2,4$ КУО/см²) та PsF ($59,1 \pm 2,3$ КУО/см²) є *Acinetobacter spp.* Особливої уваги заслуговує частота виявлення *Candida albicans*, який зустрічається у мікробіоценозі уражених ділянок шкіри при псоріазі в прогресуючій стадії незалежно від клінічної форми захворювання: PsG ($24,1 \pm 0,8$ КУО/см²), PsP ($22,7 \pm 0,4$ КУО/см²), lPsV ($36,4 \pm 1,2$ КУО/см²), dPsV ($34,2 \pm 1,6$ КУО/см²), PsE ($35,3 \pm 1,9$ КУО/см²) та PsF ($39,7 \pm 1,4$ КУО/см²).

За отриманими результатами (табл.3.3) найбільша щільність колонізації *Aspergillus fumigatus* на уражених ділянках шкіри була встановлена при dPsV ($24,8 \pm 0,6$ КУО/см²) та PsE ($28,3 \pm 0,9$ КУО/см²), що значно перевищувала аналогічні показники на інтактних ділянках: $1,9 \pm 0,3$ КУО/см² та $2,6 \pm 0,8$ КУО/см² відповідно, $p < 0,01$).

Таблиця 3.3

Щільність колонізації домінуючими мікроорганізмами уражених та інтактних ділянок шкіри хворих на псоріаз в прогресуючій стадії залежно від клінічної форми (КУО/см²)

№	мікроорганізми	Клінічні форми псоріазу					
		PsV		PsG	PsP	PsE	PsF
		lPsV	dPsV				
Уражені ділянки							
1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	44,2 ±2,8	78,6 ±2,1*	32,1 ±2,2	34,6 ±2,4	82,1 ±2,7*	51,6 ±2,9*
2	<i>Staphylococcus warneri</i>	32,8 ±1,9	56,1 ±3,4*	48,4 ±2,6*	54,6 ±3,2*	42,1 ±2,4*	36,9 ±2,2
3	<i>Streptococcus pyogenes</i>	18,6 ±0,9	36,2 ±2,6	69,2 ±2,6*	74,8 ±2,9*	44,6 ±2,8*	24,2 ±0,8
4	<i>Micrococcus luteus</i>	24,4 ±0,9	42,6 ±3,2*	56,7 ±3,4*	59,2 ±3,1*	39,1 ±2,9*	26,9 ±0,8
5	<i>Candida albicans</i>	36,4 ±1,2*	34,2 ±1,6*	24,1 ±0,8	22,7 ±0,4	35,3 ±1,9*	39,7 ±1,4*
6	<i>Aspergillus fumigatus</i>	18,2 ±0,8	24,8 ±0,6*	12,7 ±0,4	14,2 ±0,8	28,3 ±0,9*	20,3 ±0,7*
7	<i>Trichophyton interdigitale</i>	20,7 ±0,5*	14,7 ±0,4*	8,4 ±0,6	10,7 ±0,4	18,9 ±0,8*	24,8 ±1,2*
8	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	58,7 ±3,4	84,1 ±3,9*	60,4 ±2,8*	62,2 ±3,1*	82,7 ±3,6*	54,8 ±3,2
9	<i>Staphylococcus aureus</i>	66,9 ±1,4*	80,4 ±2,6*	92,7 ±2,4*	96,9 ±2,7*	84,8 ±2,1*	71,2 ±1,8*
10	<i>Trichophyton rubrum</i>	12,8 ±0,9*	8,2 ±0,4	6,4 ±0,2	6,9 ±0,8	8,7 ±0,4	14,7 ±0,6*
11	<i>Malassezia furfur</i>	16,4 ±0,8*	10,1* ±0,5	9,6 ±0,4*	8,8 ±0,6	12,7* ±0,4	20,9 ±0,8*
12	<i>Acinetobacter</i>	54,7 ±2,4*	32,6 ±1,8	68,2 ±2,6*	72,3 ±2,9*	37,9 ±1,6	59,1 ±2,3*
Інтактні ділянки							
1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	19,6 ±0,9#	24,6 ±0,4•	16,2 ±0,8#	14,6 ±0,5	26,9 ±0,8•	20,4 ±0,6#
2	<i>Staphylococcus warneri</i>	2,1 ±0,16•	2,4 ±0,19•	2,8 ±0,23•	3,2 ±0,29•	2,6 ±0,24•	1,9 ±0,18•
3	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1,6 ±0,12#	2,9 ±0,14•	4,8 ±0,26•	6,2 ±0,34•	2,4 ±0,16•	2,2 ±0,12•

Продовж.табл.3.3

4	<i>Micrococcus luteus</i>	4,3 ±0,24#	6,2 ±0,36#	8,4 ±0,38•	8,9 ±0,41•	6,9 ±0,38#	4,4 ±0,26#
5	<i>Candida albicans</i>	1,8 ±0,12•	1,6 ±0,08#	-	-	1,7 ±0,14#	1,9 ±0,18•
6	<i>Aspergillus fumigatus</i>	1,2 ±0,06#	1,9 ±0,12#	-	-	2,6 ±0,8•	1,4 ±0,11#
7	<i>Trichophyton interdigitale</i>	2,4 ±0,6•	-	-	-	-	2,6 ±0,8•
8	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	10,4 ±0,8#	19,7 ±1,4•	14,9 ±1,2#	16,2 ±1,8#	21,8 ±1,6•	12,6 ±0,9#
9	<i>Staphylococcus aureus</i>	18,2 ±1,4•	19,6 ±1,8•	26,8 ±1,6•	23,7 ±2,1•	21,3 ±1,4•	20,4 ±1,5•
10	<i>Trichophyton rubrum</i>	2,4 ±1,2•	-	-	-	-	2,8 ±1,6•
11	<i>Malassezia furfur</i>	2,6 ±1,4•	-	-	-	-	2,9 ±1,8•
12	<i>Acinetobacter</i>	16,9 ±1,2•	12,8 ±0,9#	22,8 ±1,9•	26,3 ±1,7•	10,2 ±0,6#	18,6 ±1,4•

Примітка: відмінності з контролем достовірні: *p<0,01; відмінності з ураженими ділянками шкіри достовірні: •p<0,01; #p<0,05.

Слід зазначити високу частоту виділення *Staphylococcus warneri*, які виявлені в найбільшій кількості при dPsV – $56,1 \pm 3,4$ КУО/см² та PsP – $54,6 \pm 3,2$ КУО/см² на уражених ділянках шкіри. На шкірі обстежених осіб виявлялися також умовно-патогенні та патогенні гриби роду *Trichophyton interdigitale*, *Trichophyton rubrum* та *Malassezia furfur*. Значний інтерес представляв аналіз кількісного і якісного стану мікробіоценозу шкіри інтактних ділянок.

На інтактних ділянках шкіри також спостерігаються зміни в складі мікробіоценозу в порівнянні з контрольною групою: спостерігається загальна забрудненість стафілококами *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus haemolyticus* та *Staphylococcus aureus*. Бактерії роду *Acinetobacter* значно більше колонізували інтактні ділянки шкіри і їх щільність на інтактних ділянках склала при PsG ($22,8 \pm 1,9$

КУО/см²), PsP (26,3±1,7 КУО/см²), IPsV (16,9±1,2 КУО/см²) та PsF (18,6±1,4 КУО/см²) $p < 0,01$. На чистих ділянках шкіри не були виявлені дріжджоподібні гриби роду *Candida* та гриби *Aspergillus fumigatus* при PsG та PsP, *Trichophyton interdigitale*, *Trichophyton rubrum* та *Malassezia furfur* при PsG, PsP, PsE та dPsV в прогресуючій стадії.

Отримані результати про склад мікробіоти уражених ділянок шкіри при різних клінічних формах псоріазу в прогресуючій стадії свідчать про значні відмінності складу мікрофлори від інтактних ділянок та від нормобіоценозу шкіри. Всі розглянуті клінічні форми псоріазу в прогресуючій стадії захворювання характеризуються збільшенням не тільки частки представників кокової флори та умовно-патогенних грибів у складі мікробіоти, але і високим рівнем їх щільності колонізації.

Проведені дослідження показують, що домінуюче становище в мікробіоті шкіри при псоріазі в прогресуючій стадії займають представники *Staphylococcus* pp., що складають найчисленішу групу грампозитивних мікробів, як за частотою, так і за щільністю колонізації.

Виявлені достовірні відмінності за показниками щільності обсіменіння шкірних покривів у пацієнтів, хворих на псоріаз в прогресуючій стадії з різною клінічною формою захворювання. Так найбільша щільність мікробних популяцій зафіксована на уражених ділянках обстежених осіб з PsP, PsG та dPsV. Такі зміни характеризуються появою у складі мікробіоти представників мікроорганізмів, які не зустрічаються у здорових людей. В ході проведених досліджень показано, що домінуючими видами на шкірі у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії в більшості при PsF та IPsV – стають гриби роду *Aspergillus*, *Trichophyton interdigitale*, *Malassezia furfur*, а найбільш частими співмешканцями мікробіоценозу є *Staphylococcus epidermidis*, *Acinetobacter* spp. та *Candida albicans*; при PsE та dPsV – грампозитивні коки *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus* та гриби *Aspergillus fumigatus* й *Candida albicans*, при PsP та PsG

переважають бактерії - *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter* та *Streptococcus pyogenes*.

Аналіз популяційної структури мікробіоти шкіри у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії показав, що такі показники мікробної спільноти, як показник сталості і щільність колонізації більшості представників мікробіоти шкіри відрізняються при різних клінічних формах захворювання. Виявлені порушення складу мікробного співтовариства у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії проявляються в розширенні спектра видового різноманіття симбіонтів і підвищенні показника обсіменіння більшості відів на тлі зниження аналогічного показника у представників постійної мікрофлори шкіри. Тож, склад мікробіоти шкіри при псоріазі в прогресуючій стадії незалежно від клінічної форми перебігу захворювання зазнає значних змін і структурні перебудови в бік збільшення числа представників транзитornoї мікрофлори. Нормальна мікрофлора шкіри замінюється додатковими видами, переважаючими серед яких є бактерії родини стафілококів. Значна частка при цьому належить золотистому стафілококу. Відзначається зростання обсіменіння не тільки уражених ділянок шкіри, але і видимих здорових ділянок.

Таким чином, в мікробіоценозі шкіри хворих на псоріаз відбулися зміни порівняно з контрольною групою: домінуючими видами стали мікроскопічні гриби та грампозитивні кокоподібні бактерії.

3.3 Мікробний фактор в патогенезі псоріазу в прогресуючій стадії залежно від клінічної форми захворювання

У природних умовах представники мікробної флори шкіри знаходяться в вигляді спільнот - QS – quorum sensing (відчуття кворуму). Як відомо, біоплівки мікроорганізмів являють собою структуровані спільноти, що занурені в позаклітинний полімерний матрикс і

розташовані на межі розділу фаз. При утворенні біоплівки формується специфічний біоплівковий фенотип, в результаті чого у клітин з'являються особливі властивості, відмінні від властивостей клітин того ж штаму в планктонній формі. В результаті біоплівка набуває фактично властивості багатоклітинного організму, що має певний набір антигенів, і є вже доведеним, що здатністю до формування біоплівок володіють виключно мікроорганізми, що здатні викликати патологічний процес, тобто біоплівка є основним фактором патогенності мікроорганізмів. Тож, вивчення біоплівок є одним з необхідних досліджень мікробіома людини, оскільки він багато в чому визначає стан і функціонування ряду систем організму людини, а в разі утворення біоплівок патогенних мікроорганізмів - хронічних інфекцій, зокрема псоріазу, що важко піддається лікуванню. В результаті проведеного дослідження було виявлено, що провідні мікроорганізми, що були ізольовані з ураженої ділянки від хворих на псоріаз в прогресуючій стадії були здатні формувати щільні біоплівки (рис. 3.5).

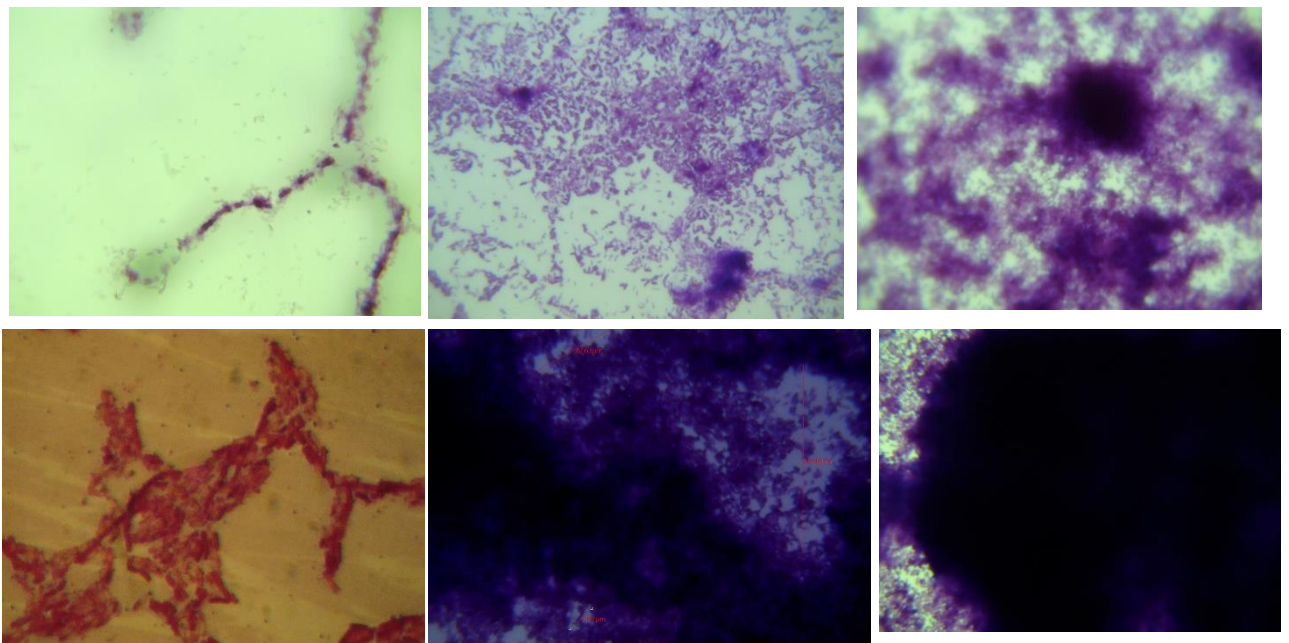


Рисунок 3.5. Здатність до формування біоплівок ізолятами мікроорганізмів з ураженої ділянки від хворих на псоріаз в прогресуючій стадії

Здобуті дані свідчать про те, що провідними мікроорганізмами, що формують щільні біоплівки при PsF та IPsV є гриби *Aspergillus fumigatus* ($6,24 \pm 0,16$ од.ощ. та $6,18 \pm 0,14$ од.ощ.), *Trichophyton interdigitale* ($5,86 \pm 0,12$ од.ощ. та $5,61 \pm 0,17$ од.ощ.), *Malassezia furfur* ($5,32 \pm 0,14$ од.ощ. та $5,21 \pm 0,19$ од.ощ.), *Candida albicans* ($5,08 \pm 0,16$ од.ощ. та $4,96 \pm 0,12$ од.ощ.) та бактерії *Staphylococcus epidermidis* ($2,06 \pm 0,06$ од.ощ. та $2,03 \pm 0,08$ од.ощ.), *Acinetobacter spp.* ($2,71 \pm 0,04$ од.ощ. та $2,64 \pm 0,06$ од.ощ.), при PsP та PsG – бактерії *Staphylococcus aureus* ($3,44 \pm 0,02$ од.ощ. та $3,26 \pm 0,04$ од.ощ.), *Acinetobacter spp.* ($2,86 \pm 0,02$ од.ощ. та $2,94 \pm 0,06$ од.ощ.) та *Streptococcus pyogenes* ($3,18 \pm 0,06$ од.ощ. та $3,12 \pm 0,04$ од.ощ.); PsE та dPsV – бактерії *Acinetobacter* ($5,98 \pm 0,04$ од.ощ. та $5,76 \pm 0,08$ од.ощ.), *Staphylococcus epidermidis* ($3,36 \pm 0,06$ од.ощ. та $3,28 \pm 0,04$ од.ощ.), *Staphylococcus haemolyticus* ($3,18 \pm 0,04$ од.ощ. та $3,09 \pm 0,08$ од.ощ.) та гриби *Candida albicans* ($4,52 \pm 0,08$ од.ощ. та $4,18 \pm 0,04$ од.ощ.) (рис. 3.6).

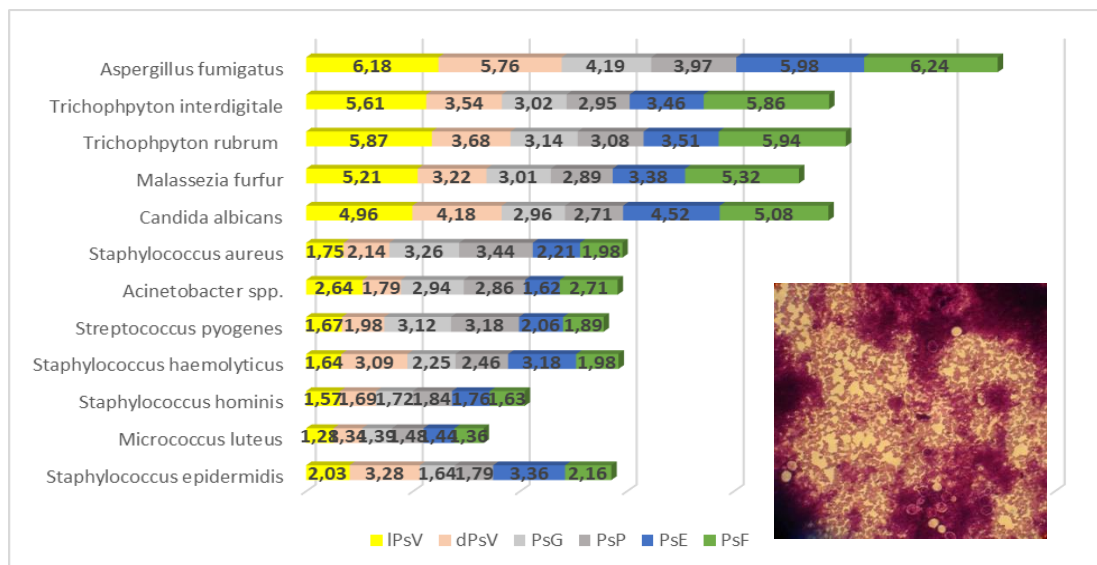


Рисунок 3.6. Щільність добових біоплівок, сформованих ізолятами мікроорганізмів з ураженої ділянки від хворих на псоріаз в прогресуючій стадії.

Подальші дослідження дозволили встановити, що добові біоплівки мікроорганізмів були здатні утворювати отвори, діаметром від 2 мкм до 22 мкм й продукувати планктонні клітини (рис.3.7), які дисемінують на

інтактну шкіру, що сприяє розповсюдженню та хронізації псоріатичного процесу.

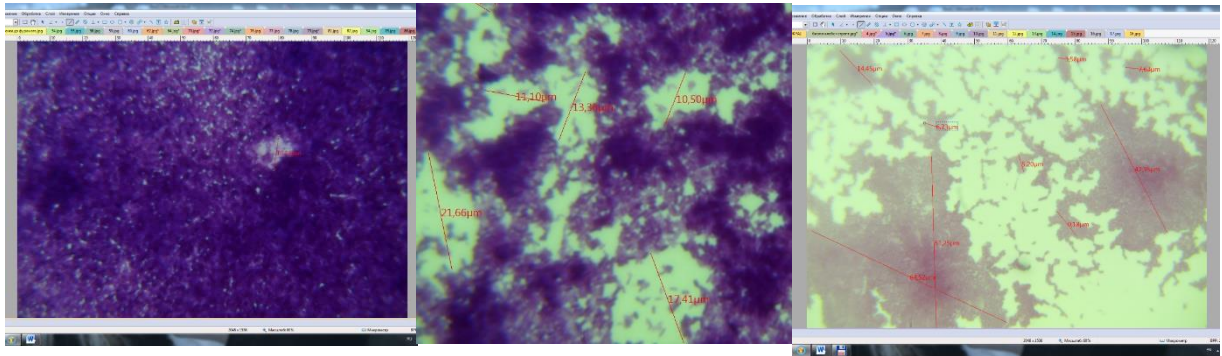


Рисунок 3.7. Здатність планктонних клітин до формування вторинних біоплівок ізолатами мікроорганізмів з ураженої ділянки від хворих на псоріаз в прогресуючій стадії.

Висновки до розділу 3:

1. Виявлено зв'язок загострення псоріазу з порою року: у 75,4% випадках переважно в осінньо-зимовий період, у 14,9% - у весняно-літній, перебування на сонці ускладнювало перебіг.

2. Визначено структуру мікробіоценозу шкіри хворих на псоріаз в прогресуючій стадії залежно від клінічної форми захворювання. Показано, що домінуючими видами при PsF та IPsV є гриби роду *Aspergillus*, *Trichophyton interdigitale*, *Malassezia furfur*, *Candida albicans* та бактерії *Staphylococcus epidermidis*, *Acinetobacter* spp.; при PsE та dPsV – грампозитивні коки *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus* та гриби *Aspergillus fumigatus* й *Candida albicans*, при PsP та PsG переважають бактерії - *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter* та *Streptococcus pyogenes*.

3. *In vitro* доведено здатність до біоплівкоутворення у провідних мікроорганізмів при псоріазі в прогресуючій стадії залежно від клінічної форми захворювання.

4. Автохтонна мікрофлора шкіри хворих на псоріаз в прогресуючій стадії на ділянках ураження утворює біоплівки: при PsE та dPsV – щільні

переважно бактеріально (*Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*) – грибкові (*Aspergillus fumigatus*), при PsP та PsG – переважно бактеріальні (*Staphylococcus aureus*), при PsF та IPsV – переважно грибково (*Candida albicans*) – бактеріальні (*Acinetobacter*).

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Daschuk A.M., **Pochernina V.V.** TLR expression on peripheral blood monocytes in patients with psoriasis. *Wiadomości Lekarskie*, tom LXXIII, nr 2. Polska: Wydawnictwo Aluna. 2020. P.401-404.

РОЗДІЛ 4

ВИЗНАЧЕННЯ ПАТОГЕНЕТИЧНОЇ РОЛІ TOLL-ПОДІБНИХ РЕЦЕПТОРІВ ТА VEGF ПРИ ПСОРІАЗІ В ПРОГРЕСУЮЧІЙ СТАДІЇ ЗАЛЕЖНО ВІД КЛІНІЧНОЇ ФОРМИ ЗАХВОРЮВАННЯ

Незважаючи на безперечний факт, що активовані Т-клітини мають вирішальне значення для розвитку і персистенції псоріатичного ураження, патофізіологія захворювання не може бути пояснена виключно роллю Т-лімфоцитів. Точна послідовність подій, які призводять до ініціації каскаду механізмів виникнення та перебігу псоріазу, залишається невідомою, але ідентифікація ранніх діагностичних критеріїв і ролі, яку відіграють медіатори запалення та фактори росту, може надати нові дані щодо визначення підходів для профілактики і контролю псоріазу.

4.1. Встановлення ролі Toll - подібних рецепторів (TLR2 та TLR4) в імунopatогенезі псоріазу прогресуючої стадії різних клінічних форм захворювання

Імунopatогенез псоріазу складний, багатофакторний і ще недостатньо вивчений [98]. Нині наголошується на системному, запальному та аутоімунному аспектах псоріазу [46, 106]. Toll-подібні рецептори (TLR) характеризуються як рецептори розпізнавання пускові екзогенні фактори виникнення псоріазу, які здатні активувати різні типи імунних клітин. TLR низхідних сигнальних шляхів призводять до вироблення широкого спектру імуностимулюючих цитокінів та хемокінів. Аберрантна активація TLR може призвести до необмеженої запальної реакції, тому рецептори можуть грати ключову роль у розвитку імунopatогенезу псоріазу, зокрема запальних та аутоімунних порушень [173]. Тому здається цікавим визначення патогенетичної ролі TLR,

зокрема TLR2 та TLR4, при різних клінічних варіантах перебігу псоріазу в прогресуючій стадії.

В результаті проведеного дослідження було встановлено, що рівень експресії TLR2 та TLR4 при різних клінічних формах псоріазу в прогресуючій стадії відрізнявся, а саме: мала місце тенденція до підвищення експресії TLR4 на лімфоцитах при PsF ($4,8 \pm 0,31$ mfi) та майже не відрізнялося від контрольних значень ($3,3 \pm 0,26$ mfi) при IPsV ($3,5 \pm 0,29$ mfi). Статистично достовірні результати були здобуті щодо підвищення експресії TLR4 при інших клінічних формах псоріазу в прогресуючій стадії: при PsP рівень експресії TLR4 був підвищений у 3,2 рази, PsG – у 2,8 рази, PsE – у 2,7 рази, dPsV – у 2 рази порівняно з контролем (рис.4.1).

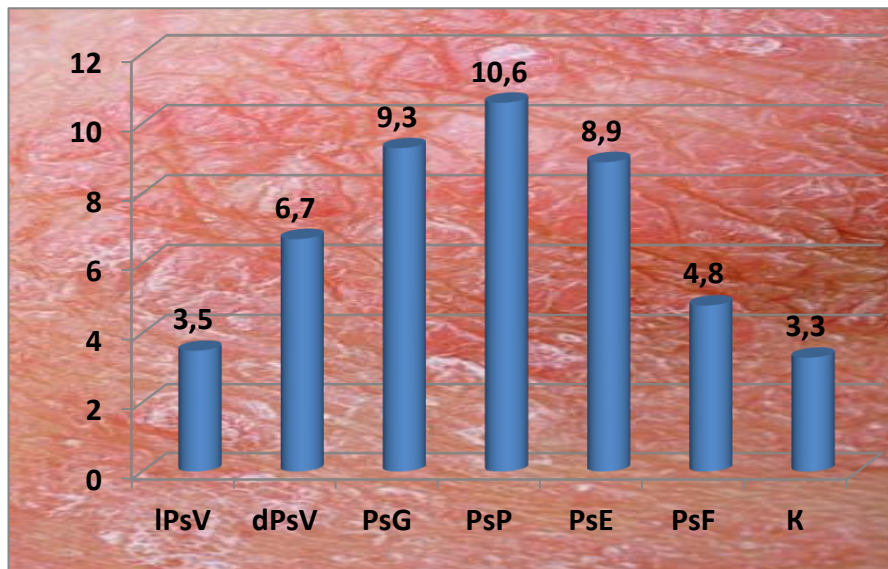


Рисунок 4.1. Рівень експресії TLR4 (mfi) на лімфоцитах хворих на псоріаз в прогресуючій стадії залежно від клінічної форми захворювання

При визначенні експресії TLR2 на лімфоцитах було встановлено, що рівень її достовірно перевищів аналогічні показники контрольної групи при PsP та PsG - у 2 рази, PsE – у 1,6 рази, dPsV – у 2 рази, PsF та IPsV – у 1,5 рази (рис.4.2).

Отримані в результаті дослідження результати можна пояснити тим, що TLR2 та TLR4 активуються факторами патогенності мікроорганізмів, які

вегетують, як на уражених, так й на інтактних ділянках шкіри хворих на псоріаз в прогресуючій стадії захворювання, їх експресія підвищується за дії прозапальних цитокінів. Незначне збільшення експресії TLR4 при IPsV та PsF можливо пов'язано з надмірною стимуляцією Toll-рецепторів екзогенними лігандами до початку або в дебюті захворювання і розвитком стану рефрактерності TLR в подальшому розвитку захворювання і в ряді випадків є захисною реакцією від гіперергічного запалення, за даними літератури [170, 195, 210] носить транзиторний характер.

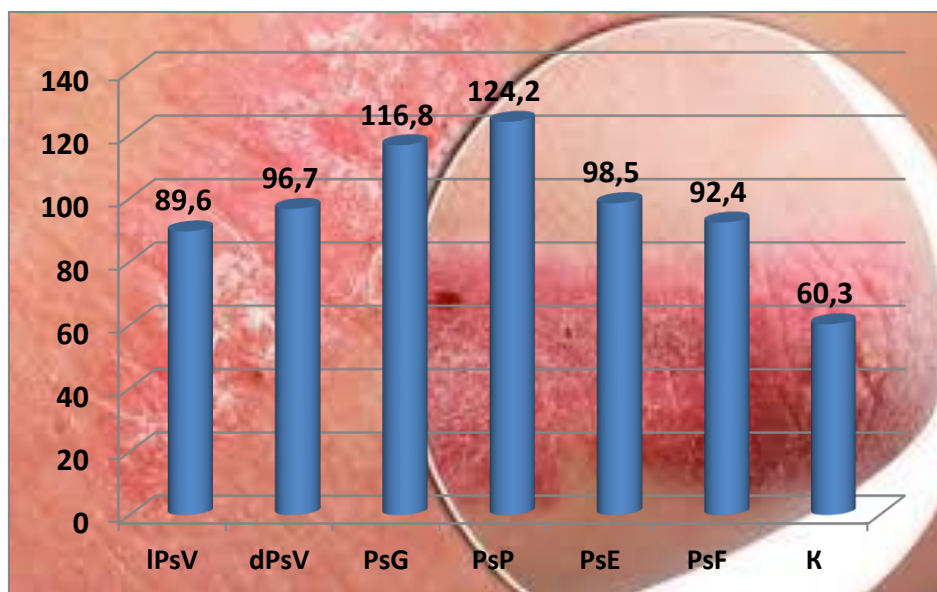


Рисунок 4.2. Рівень експресії TLR2 (mfi) на лімфоцитах хворих на псоріаз в прогресуючій стадії залежно від клінічної форми захворювання

У випадках PsP, PsE, PsG, dPsV спостерігалось достовірне зростання експресії TLR2 та TLR4 на лімфоцитах, що свідчить про гіперергічну запальну реакцію з залученням в процес судинного тракту. Тож, зростання експресії дослідних типів Toll-рецепторів на лімфоцитах свідчить про активність самого аутоімунного процесу.

В результаті проведеного аналізу даних було встановлено, що вміст TLR2 має прямий корелятивний зв'язок (рис.4.3) з маркером диференціювання апоптозу CD95⁺ та CD25⁺, особливо при PsP та PsG клінічних формах захворювання ($r=+0.84$, $r=+0.59$). TLR4 має прямий

корелятивний зв'язок середньої сили (рис.4.4) з маркером диференціювання апоптозу CD95⁺. Одночасно виявлені взаємозв'язки (рис.4.5) між експресією TLR2 й CD25⁺ та CD95⁺, що свідчить про ключову роль Toll-подібних рецепторів 2 типу в посиленні проліферації та диференціювання Т-лімфоцитів рецепторами на своїй поверхні CD25⁺ та CD95⁺.

Отримані результати показують середній ступень зворотної кореляційної значності TLR2 й TLR4 та CD8⁺ (рис. 4.6) при PsP, PsG dPsV, IPsV та PsF в прогресуючій стадії внаслідок інфекційного захворювання, крім PsE, де встановлено сильний зворотній корелятивний зв'язок ($r=-0.73$) між TLR2 та CD8 (рис.4.7).

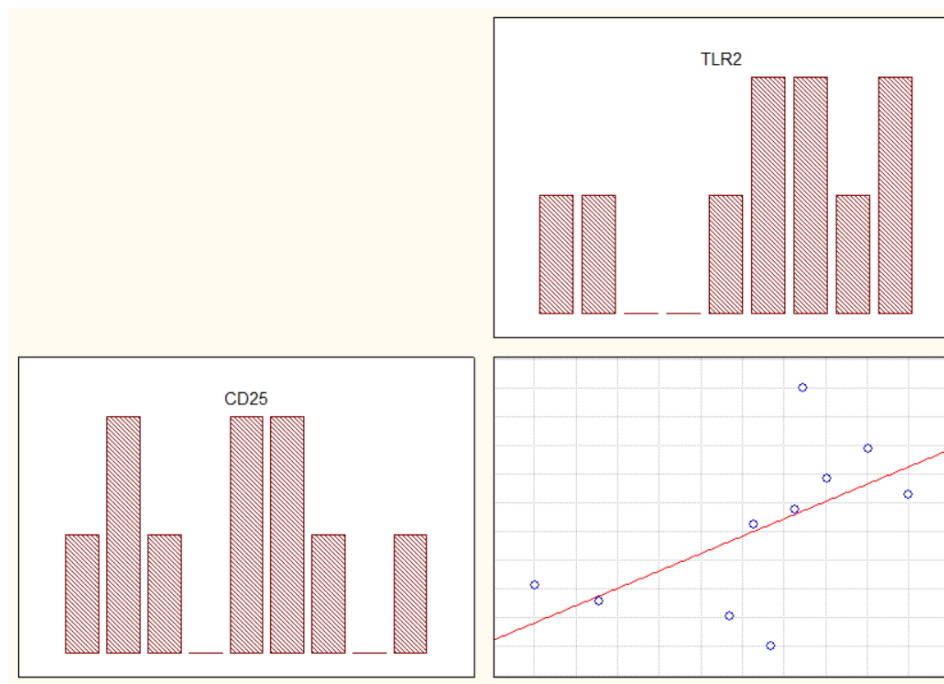


Рисунок 4.3. Кореляційний зв'язок між TLR2 та CD25 ($r=+0.59$) при PsP.

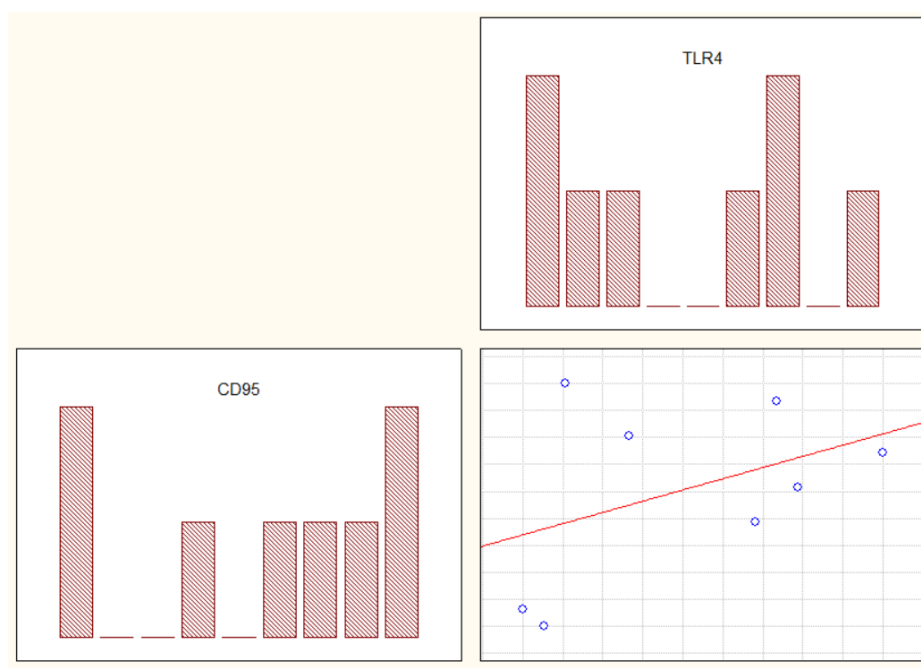


Рисунок 4.4. Кореляційний зв'язок між TLR4 та CD95 ($r=+0.42$) при PsE.

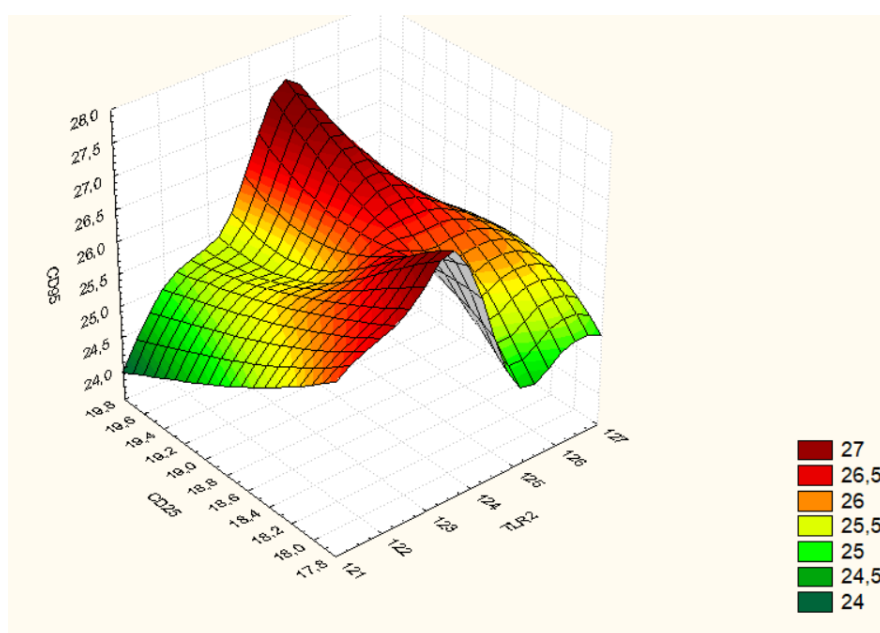


Рисунок 4.5. Взаємозв'язки між TLR2, CD25⁺ та CD95⁺ при PsP.

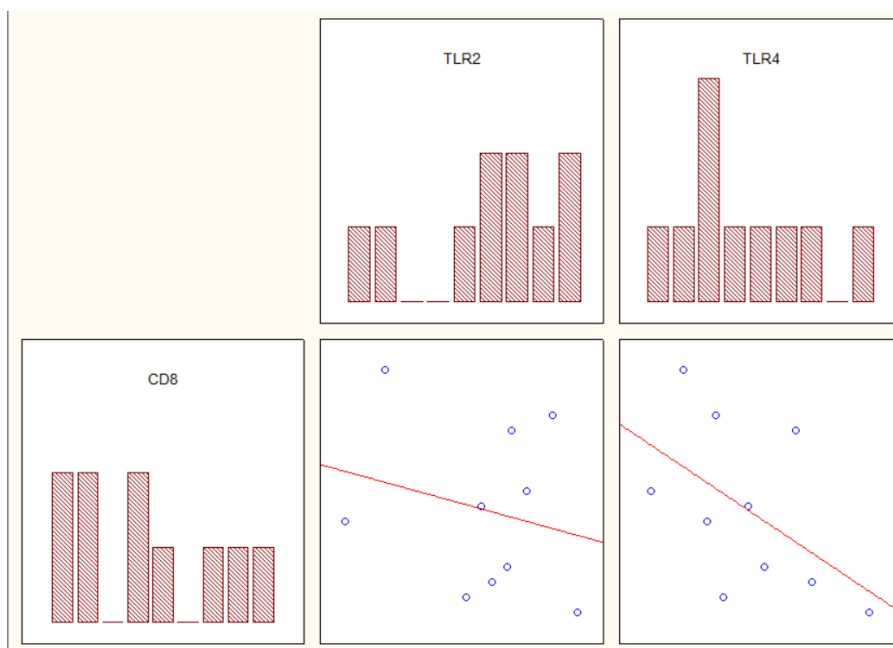


Рисунок 4.6. Зворотній кореляційний зв'язок між TLR2, TLR4 та CD8⁺ при PsP.

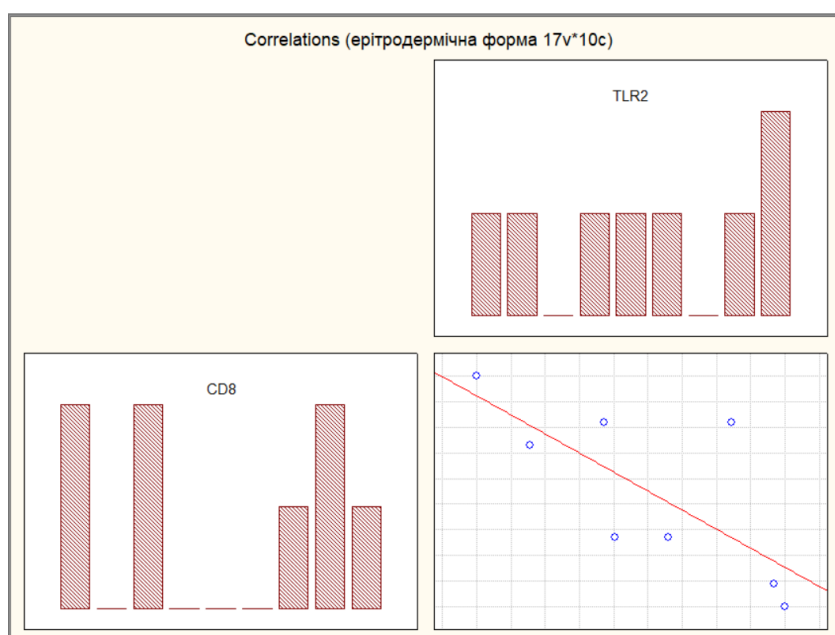


Рисунок 4.7. Сильний зворотній кореляційний зв'язок між TLR2 та CD8⁺ при PsE.

Звертають на себе увагу прямі кореляційні зв'язки експресії TLR2 й TLR4 та прозапальних цитокінів, зокрема IL-1 β (рис.4.8), VEGF (рис.4.9),

CD4⁺, а також площею псоріатичного ураження шкіри (рис.4.10 та рис.4.11) та частотою рецидивування псоріазу (рис.4.12).

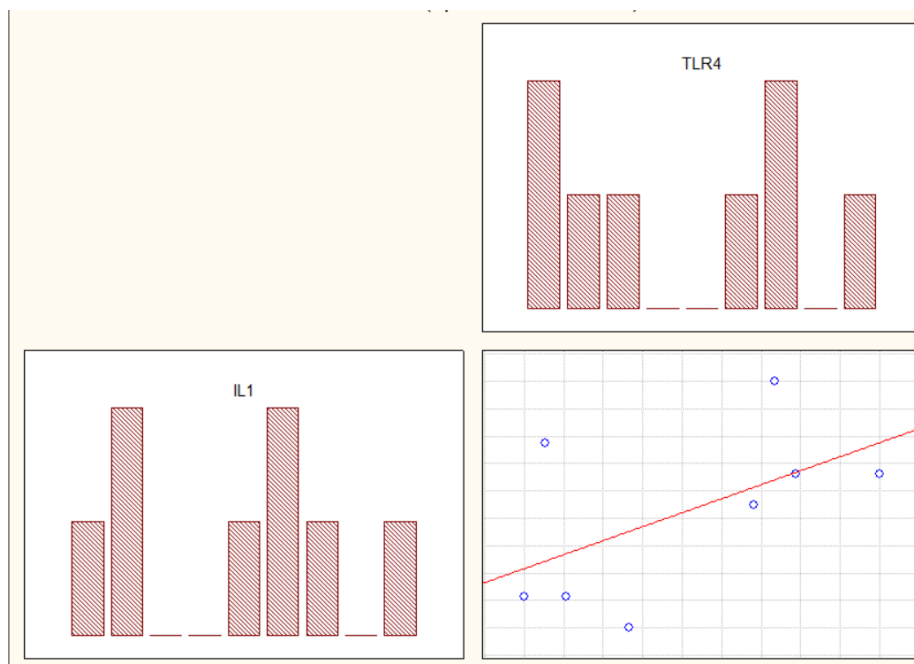


Рисунок 4.8. Кореляційний зв'язок між TLR4 та IL-1 β ($r=+0.55$) при PsE.

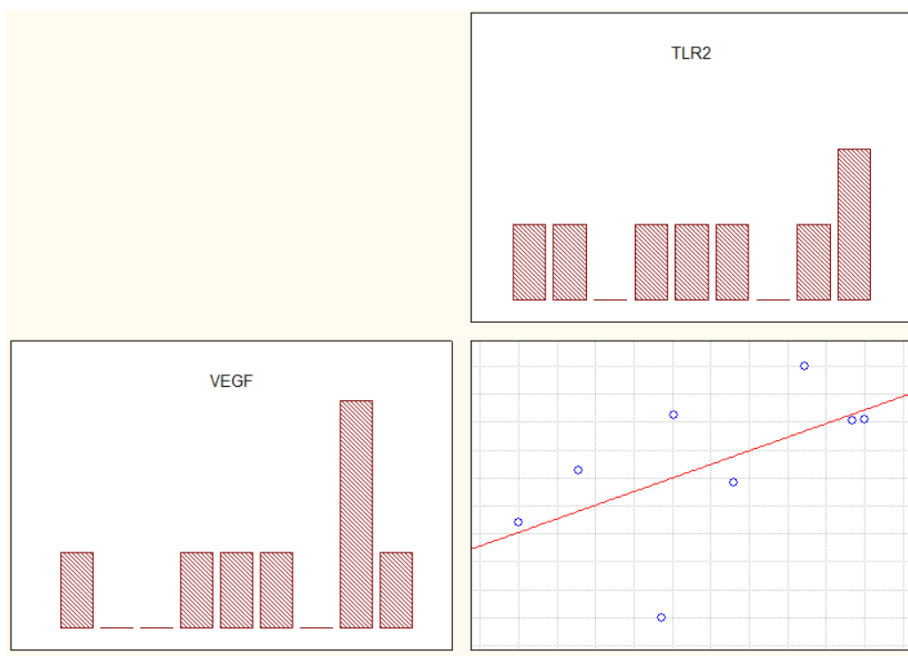


Рисунок 4.9. Прямий кореляційний зв'язок між TLR2 та VEGF при PsE.

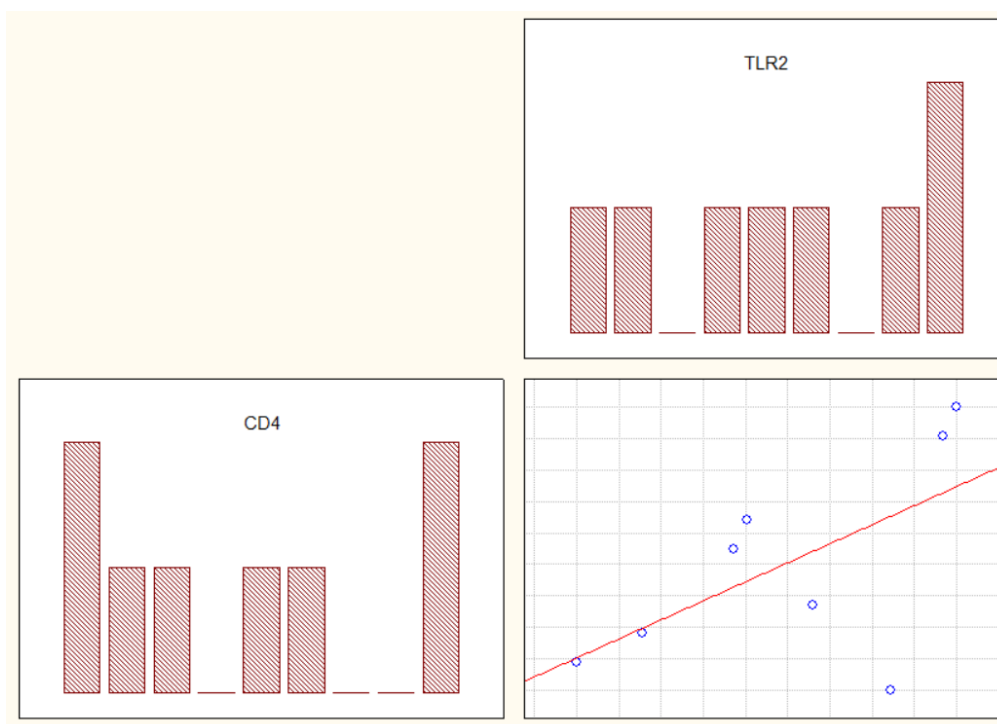


Рисунок 4.10. Прямий кореляційний зв'язок між TLR2 та VEGF при PsE.

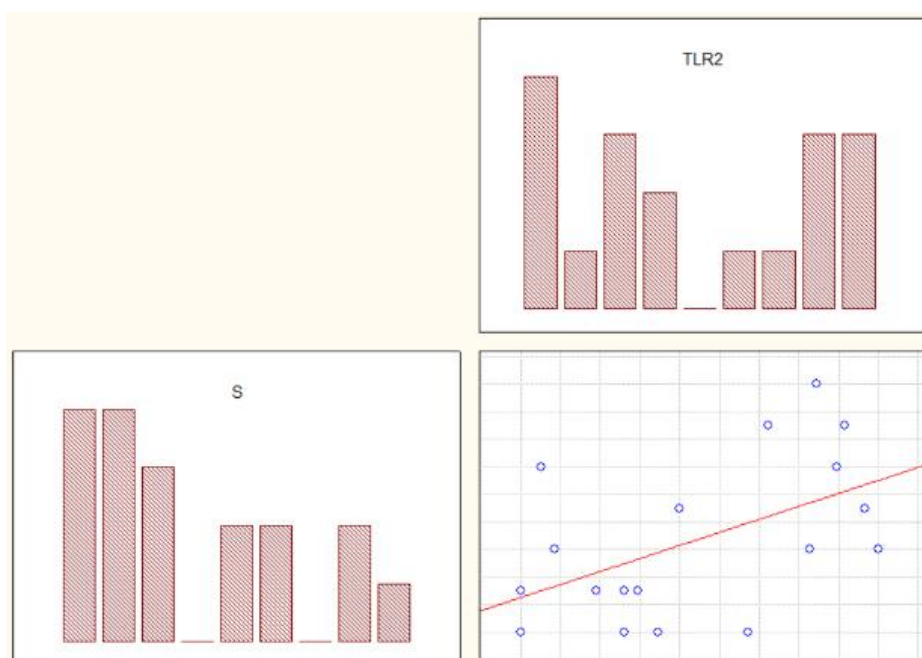


Рисунок 4.11. Прямий кореляційний зв'язок між TLR2 та площею псоріатичного ураження шкіри при LPsV.

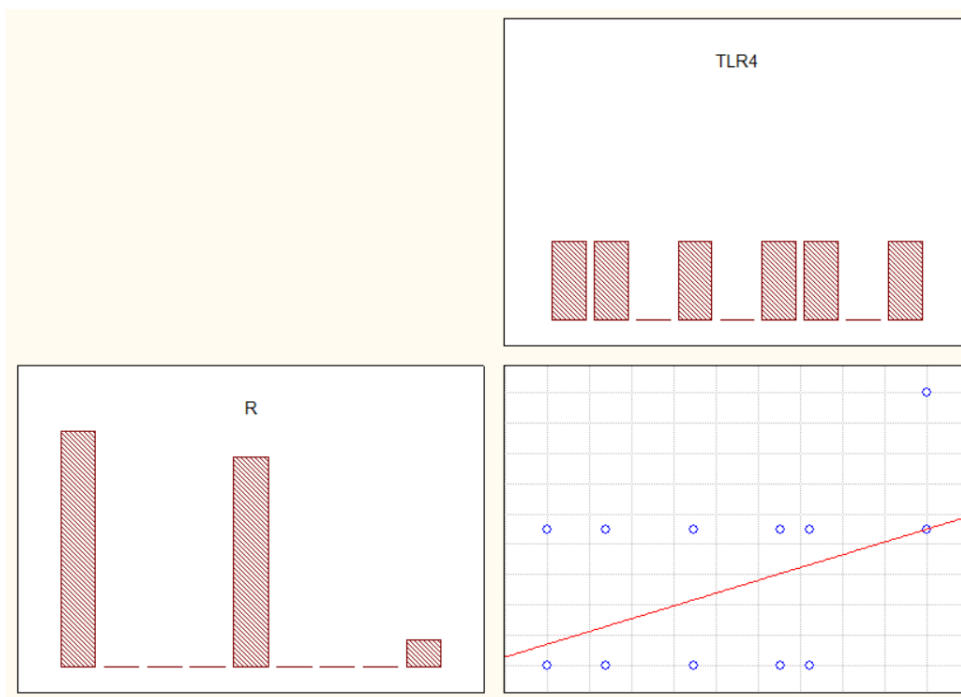


Рисунок 4.12. Прямий кореляційний зв'язок між TLR4 та частотою виникнення рецидивів при IPsV.

На підставі проведених досліджень було визначено провідну патогенетичну роль TLR2, TLR4 при псоріазі в прогресуючій стадії захворювання та запропоновано спосіб діагностики псоріатичної еритродермії. У пацієнтів з PsE різної етіології спостерігаються однакові зміни лабораторних показників крові: лейкоцитоз, лімфоцитоз, еозинофілія, анемія, підвищена ШОЕ, високий рівень імуноглобулінів, а також підвищений вміст $CD4^+$, системні метаболічні порушення. Тож, однаковість змін лабораторних показників крові у хворих на еритродермію значно зменшують точність діагностики та, тим самим, ефективність лікування. Тому діагностика PsE при псоріазі повинна бути заснована на ретельному вивченні анамнезу і даних імуногістохімічного дослідження шкіри. У зв'язку з вищевикладеним для підвищення точності діагностики псоріатичної еритродермії поставлено задачу визначити в епідермісі та дермі хворого Toll-подібні рецептори. В результаті проведеного дослідження, що включало визначення в епідермісі та дермі хворого маркерів пошкодження, для

діагностики псоріатичної еритродермії в епідермісі та сосочковому шарі дерми було визначено Toll-подібні рецептори імуногістохімічним методом з використанням моноклональних антитіл до TLRs із здійсненням постановки реакції відповідно до протоколів, що додаються до моноклональних антитіл, які використовують при цьому, отримані імуногістологічні препарати вивчалися за допомогою світлового мікроскопу, підрахунок площі та інтенсивності експресії Toll-подібних рецепторів здійснювалося із застосуванням комп'ютерної програми аналізу зображень ImageJ і при виявленні TLR2, TLR4 і TLR9 типу діагностували псоріатичну еритродермію. Сукупність суттєвих ознак дозволяє при однакових змінах лабораторних показників крові та однакових системних метаболічних порушеннях, які спостерігаються при більшості еритродермій, діагностувати псоріатичну еритродермію. Забір біоптатів шкіри проводилося під місцевою анестезією 2% розчином лідокаїну. Біоптати піддавали стандартній гістологічній обробці: фіксують в 10% розчині забуферованого формаліну, піддають гістологічній проводці шляхом зневоднення в етиловому спирті і заливки в парафін. Вивчення кількості і розподілу Toll-подібних рецепторів 2-го, 4-го і 9-го типів (TLR2, TLR4 і TLR9) в структурах шкіри проводять імуногістохімічним методом з використанням моноклональних антитіл до TLR2, TLR4 і TLR9 виробництва фірми «Abbotec» (США) і вторинних антитіл Novocastra Peroxidase Detection System виробництва «Leica Microsystems» (Великобританія). Парафінові зрізи розподіляли на предметних стеклах з полілізиновим покриттям. Постановку реакції здійснюють відповідно до протоколів, що додаються до моноклональних антитіл. Високотемпературне антигенне демаскування проводили шляхом кип'ятіння зрізів в цитратному буфері (pH 6,0) в ЗВЧ-печі при максимальній потужності 900 Вт трьома циклами по 5 хв. з однихвилинними перервами. Препарати промивали в розчині трис-буфера (pH 7,54-7,58), обробляли 0,3% розчином перекису водню на метанолі (1:1) для запобігання ендогенної пероксидазної активності. Інкубацію з первинними антитілами проводили

протягом 60 хв. при кімнатній температурі 23°C, з вторинними антитілами - протягом 30 хв. в термостаті при температурі 37°C. Для завершення забарвлення здійснювали фонове контрастування зрізів гематоксиліном Майєра. Підрахунок площі експресії Toll-подібних рецепторів в епідермісі і дермі здійснювали із застосуванням комп'ютерної програми аналізу зображення ImageJ. В епідермісі визначали площу клітин з позитивною реакцією, яку відображали в квадратних пікселях. У дермі вміст Toll-подібних рецепторів визначали шляхом підрахунку площі судин, на ендотелії яких спостерігалася експресія рецепторів, з наступним розрахунком її відсоткового відношення до площі поля зору. При виявленні TLR2, TLR4 і TLR9 типу діагностували псоріатичну еритродермію.

Ефективність способу доведена клінічними дослідженнями. Обстеження хворих на еритродермію проводилось в умовах стаціонару. Критеріями включення пацієнтів в групу спостереження стали: письмова згода пацієнта на участь в дослідженні, наявність клінічно підтвердженого діагнозу псоріатична еритродермія у стадії загострення. У кожному випадку діагноз ставили на підставі клінічного обстеження хворих, враховуючи анамнестичні дані та лабораторні дані. Всім хворим було проведено всебічне клініко-лабораторне обстеження для з'ясування стану внутрішніх органів з метою визначення супутніх хвороб. Для уточнення діагнозу призначалося мікроскопічне дослідження на патогенні бактерії та гриби. Пацієнтам проводили біопсійні дослідження з ділянок шкіри, уражених дифузним почервонінням та лущенням або дифузним почервонінням без лущення, а так само з ділянок інтактної шкіри. Крім того для порівняння результатів імуногістохімічного дослідження було проведено вивчення біопсійного матеріалу 5 здорових людей. При дослідженні шкіри хворих на псоріатичну еритродермію та шкіри здорових людей з контрольної групи були виявлені такі зміни: поверхневі шари епідермісу, як у хворих на псоріатичну еритродермію, так і у здорових людей з групи контролю, містили тільки поодинокі клітини, які мали слабе позитивне забарвлення. Так само в шкірі

зустрічалися ділянки без ознак набрякості і негативною реакцією на TLR2, TLR4 і TLR9. Поодинокі TLR2, TLR4 і TLR9-позитивні клітини виявлялися в дермі в дрібних скупченнях запальних клітин. Так само субстратом позитивної реакції були дрібні гранули з легким і помірним забарвленням як в ядрі, так і в цитоплазмі позитивних клітин. В уражених ділянках шкіри хворих значно потовщувався шар епідермісу, збільшувалась кількість TLR2, TLR4 і TLR9-позитивних клітин. Спостерігалася закономірність: TLR2, TLR4 і TLR9-позитивні клітини в епідермісі виявлялись в ділянках набряку і значно менше в ділянках компактного розміщення епітеліоцитів. Епітеліоцити мали легке і помірне ядерне і цитоплазматичне забарвлення. Макрофаги, які мігрують в судинах сосочків дерми, мали виражену позитивну експресію маркерів. TLR2, TLR4 і TLR9-позитивні моноцити і макрофаги виявлялися в судинах і периваскулярному просторі сосочкового шару дерми. Найбільша кількість позитивних клітин визначалася в судинах, які знаходяться в сосочках. У фолікулоподібних скупченнях запальних клітин в сосочковому шарі дерми, безпосередньо під епідермісом виявлялася позитивна експресія TLR2, TLR4 і TLR9 в великих макрофагах і слабопозитивна реакція в частині лімфоїдних клітин.

Відомо, що частиною Toll-позитивних клітин в епідермісі є запальні клітини, які мігрують з сосочкового шару дерми. До таких клітин належать в першу чергу макрофаги і активовані лімфоїдні елементи, а так само нейтрофіли. У ділянках з дифузним почервонінням і лущенням або без нього в сосочках дерми спостерігалася максимальна кількість різко TLR2, TLR4 і TLR9-позитивних макрофагів. У інтактній шкірі хворих на псоріатичну еритродермію в епідермісі вогнищево визначалася активна експресія TLR2, TLR4 і TLR9. Топографічно такі ділянки відповідали збільшеним сосочкам або сосочкам, які формуються. В епідермісі над ними визначалося позитивне забарвлення епітеліоцитів на всю товщину епідермісу. Активна експресія маркера спостерігалася так само на ділянках залучення епідермісу. Закономірним було збільшення кількості TLR2, TLR4 і TLR9-позитивних

клітин в поверхневих шарах епідермісу у напрямку до поверхні шкіри. Помірне позитивне забарвлення визначалося так само в нечисленних клітинах периваскулярних запальних інфільтратах сосочкового шару дерми. У контрольній групі в шкірі здорових людей реєструвалася незначна експресія TLR2, TLR4 і TLR9 в епідермісі, яка була найбільш виражена в базальних відділах і в шипуватому шарі дерми. Ближче до рогового шару визначалися поодинокі клітини з позитивним забарвленням. Визначалося чітке розмежування клітин з слабо позитивною реакцією і клітин, які мали негативну експресію. У дермі позитивна експресія маркера визначалася в поодиноких запальних клітинах. Експресія клітин в основному ядерна, в цитоплазмі епітеліоцитів позитивне забарвлення мінімальне.

Таким чином, у хворих на псоріатичну еритродермію встановлено гіперпродукцію та гіперсекрецію епітеліоцитами шкіри прозапальних біологічних маркерів, зокрема TLR2, TLR4, TLR9-позитивних клітин. Відповідні TLR2, TLR4, TLR9-позитивні клітини виявлялися як у ділянках шкіри, ураженої дифузним почервонінням і лущенням або без нього, так і в інтактній шкірі. Водночас кількість відповідних клітин у ділянках шкіри з псоріатичною еритродермією більша, ніж в інтактній шкірі. TLR2, TLR4, TLR9-позитивні клітини в ділянках шкіри, ураженої псоріатичною еритродермією, а також в інтактній шкірі свідчать про перманентну стимуляцію лімфоцитів і макрофагів не лише в ділянках псоріатичної еритродермії, а й у віддалених. Експресія TLR2, TLR4, TLR9-позитивних клітин свідчить про антигенну стимуляцію імунокомпетентних клітин, що призводить до розвитку запального процесу в поверхневих шарах шкіри.

Визначення Toll-подібних рецепторів рекомендується використовувати для діагностування PsE. Якщо в шкірі виявляється експресія Toll-подібних рецепторів 2, 4 та 9 типів, то це свідчить, що еритродермія пов'язана із загостренням псоріазу.

Таким чином, визначення Toll-подібних рецепторів значно підвищує точність діагностики псоріатичного захворювання при однакових змінах

лабораторних показників крові та однакових системних метаболічних та імунних порушеннях.

5.2. Визначення вмісту та встановлення ролі VEGF в патогенезі псоріаза в прогресуючій стадії залежно від клінічної форми захворювання

Дослідження останніх років, які присвячені динаміці прогресування псоріазу, показали, що одним з найважливіших факторів патогенезу є несбалансована васкуляризація [24, 171]. Найменш вивченою функцією ендотелію при псоріазі є регуляція росту судин, що здійснюється за допомогою ростових факторів, синтез яких різко посилюється при активації ендотелію. Одним із потужних промоторів ангіогенезу є васкулоендотеліальний фактор росту (VEGF) [192]. Важлива роль ангіогенезу в розвитку псоріазу вказує на перспективність подальшого вивчення цього процесу і ролі VEGF в патогенезі псоріазу.

Тому метою даного підрозділу було визначення рівню VEGF у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії залежно від клінічної форми захворювання, площі ураження, терміну тривалості, частоти виникнення та перебігу захворювання.

В результаті проведеного дослідження було встановлено, що рівень VEGF в сироватці крові хворих вульгарним псоріазом складав $189,8 \pm 11,6$ пг/мл (при локалізованому варіанті перебігу - lPsV) та $412,6 \pm 17,2$ пг/мл (при поширеному - dPsV), найбільш високі показники VEGF були визначені при PsP – $469,4 \pm 18,3$ пг/мл та PsE – $443,2 \pm 17,5$ пг/мл, ($p < 0,01$ порівняно з групою контролю).

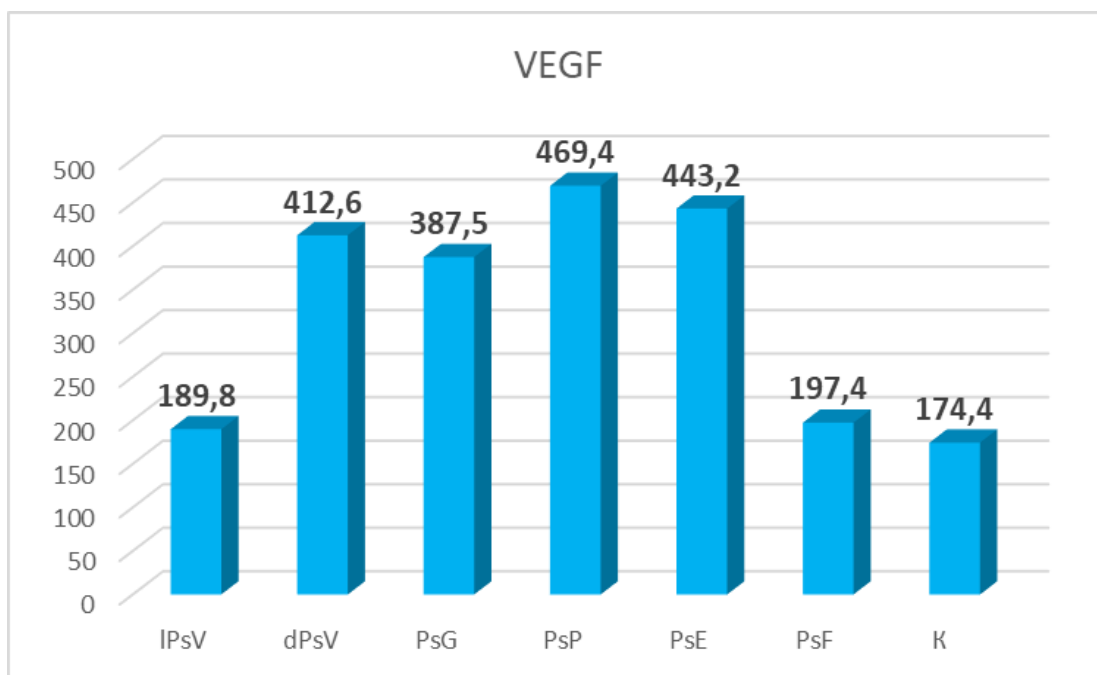


Рисунок 4.13. Рівень судинного ендотеліального фактору VEGF в крові хворих на псоріаз в прогресуючій стадії (пг/мл)

Проведені дослідження виявили суттєве підвищення рівню VEGF (у 3,4-7,9 разів) у крові хворих на PsG, d PsV, PsE та PsP в прогресуючій стадії захворювання у 2 рази, 2,4 рази, у 2,5 рази та у 2,7 рази відповідно порівняно з контрольними значеннями. Тенденцію до підвищення мали показники VEGF при PsF та IPsV. Звертає на себе увагу той факт, що різке підвищення вмісту VEGF спостерігається у крові пацієнтів з тяжким ступенем псоріазу. Достовірних відмінностей між показниками у пацієнтів з різною тривалістю хвороби не встановлено ($p > 0,05$). Аналіз вимірювання VEGF в залежності від частоти рецидивів псоріазу виявив істотне підвищення рівня VEGF у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії, рецидивування захворювання у яких відбувалося чаще двох разів на рік відносно аналогічного при рецидивах 1-2 рази за рік ($p < 0,01$), що можна пояснити тим, що синтезований в ушкодженій ділянці шкіри VEGF поступає у системний кровотік і впливає на проникність мікросудин усього організму [202], тому аналіз рівня VEGF у пацієнтів з тяжким

псоріазом і частими рецидивами може бути одним з прогностичних критеріїв несприятливого перебігу захворювання.

Клініко-патогенетична оцінка вмісту VEGF в крові хворих на псоріаз в прогресуючій стадії при всіх клінічних формах захворювання, зокрема ІРsV, показала наявний позитивний кореляційний зв'язок з вмістом ІL-10 (рис.4.14), частотою рецидивів й $CD25^+$ ($r=+0.63$, $r=+0.48$ та $r=+0.41$ відповідно).

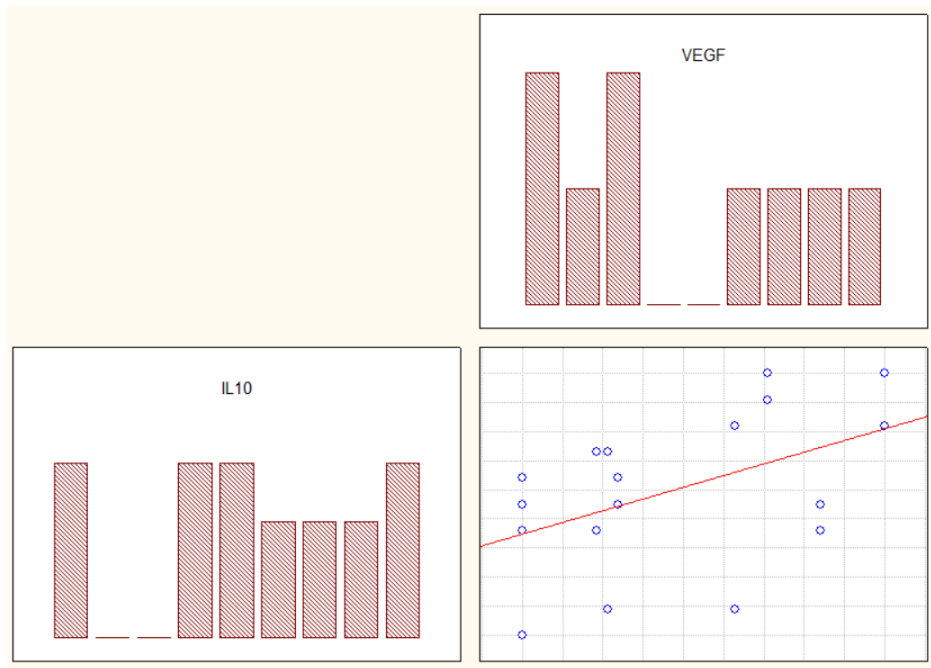


Рисунок 4.14. Кореляційний прямий зв'язок між VEGF та IL-10 ($r=+0.87$) при ІРsV.

В результаті проведеного дослідження було виявлено взаємозв'язок показників VEGF, IL-10, між частотою виникнення рецидивів та площею ураженої шкіри при псоріазі: при підвищенні вмісту VEGF реєструється збільшення концентрації IL-10 (рис.4.15), що відповідає більшому відсотку ураженої шкіри та частому виникненню рецидивів (рис.4.16)

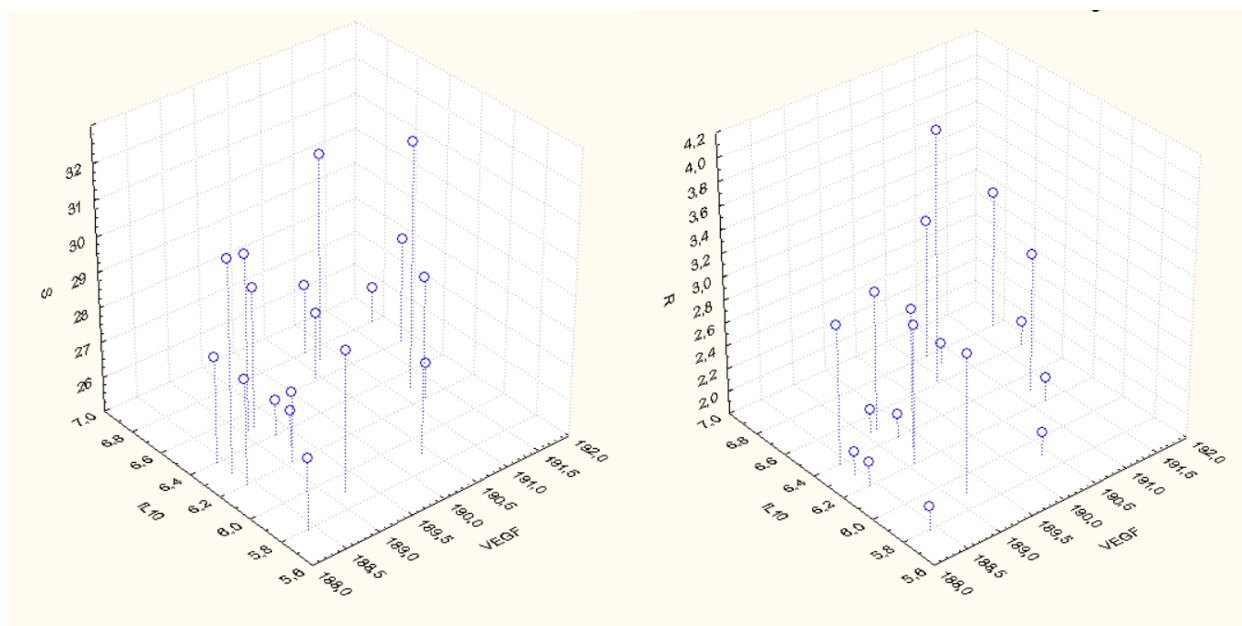


Рисунок 4.15. Взаємозв'язки між VEGF, IL17, частотою виникнення рецидивів та площею ураженої шкіри при псоріазі в прогресуючій стадії, внаслідок колонізації шкіри мікроорганізмами.

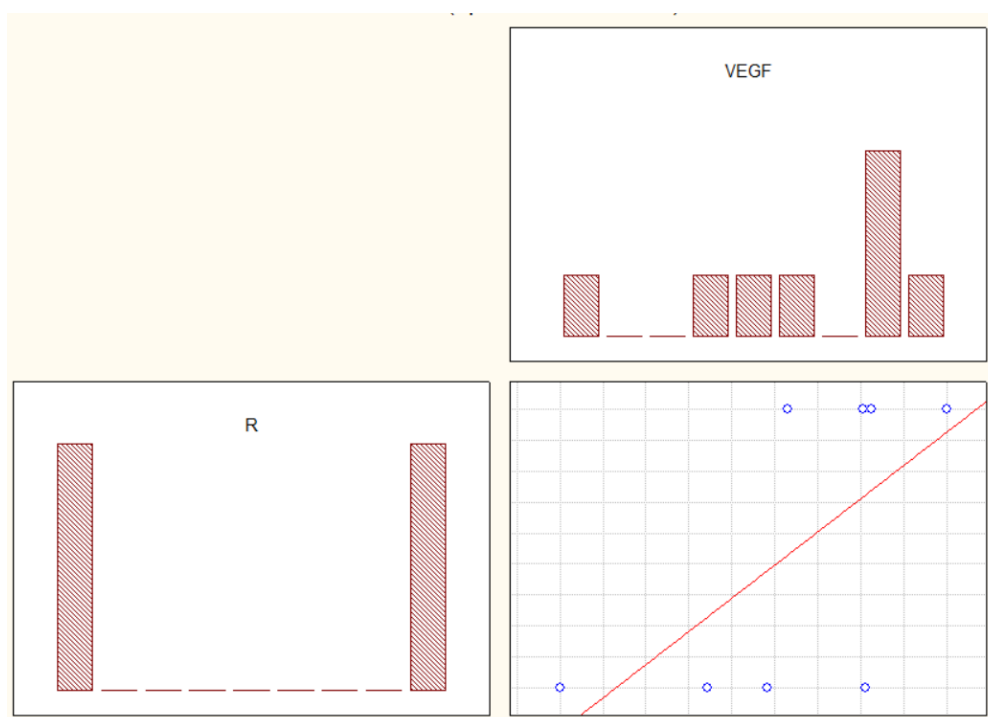


Рисунок 4.16 Кореляційний зв'язок між VEGF та частотою виникнення рецидивів ($r=+0.63$) при PsE.

Значення вмісту VEGF в сироватці крові знаходяться у прямій кореляції (рис.4.17) з CD25 у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії та одночасно встановлено взаємозв'язок з частотою рецидивування (рис.4.18).

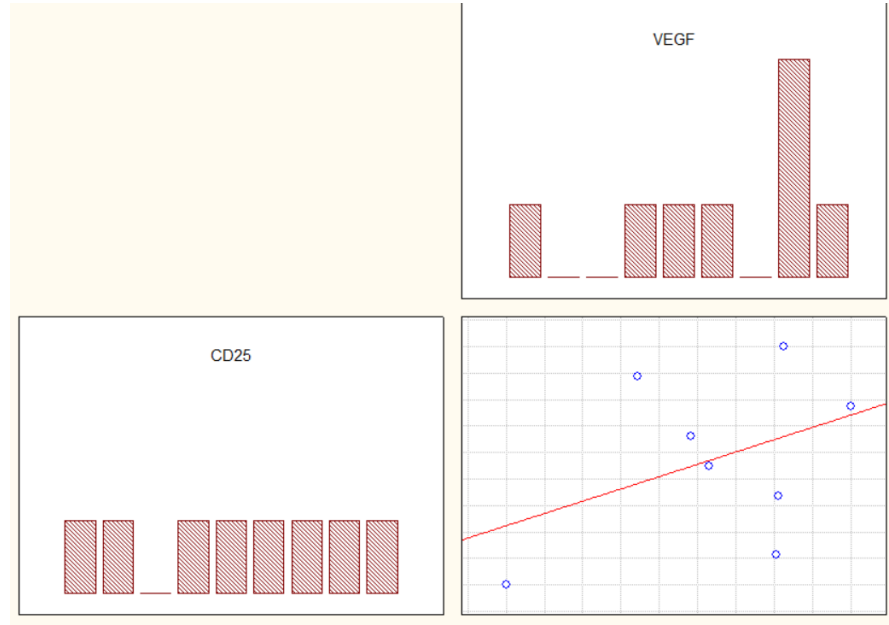


Рисунок 4.17. Кореляційний зв'язок між VEGF та CD25 ($r=+0.41$) при PsE.

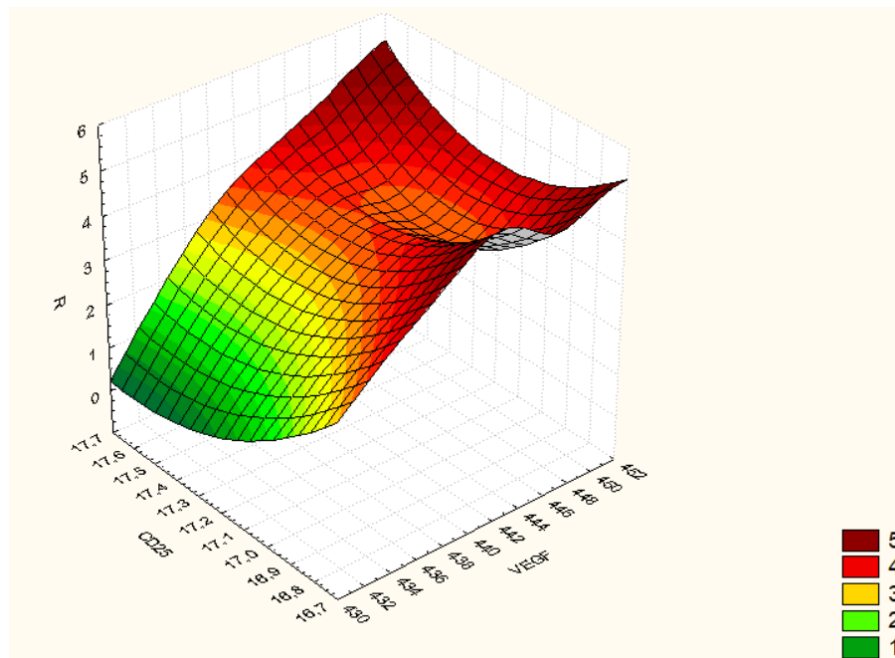


Рисунок 4.18. Взаємозв'язки між VEGF, CD25 та частотою виникнення рецидивів при PsE.

Тож, підвищення вмісту VEGF в крові хворих на псоріаз в прогресуючій стадії достовірно при PsE, PsP, dPsV та PsG свідчить про активний патологічний ангиогенез та про ендотеліальну дисфункцію, що можна оцінити, як відповідь на неадекватне утворення в ендотелії біологічно активних речовин.

Висновки до розділу 4:

1. У хворих на псоріаз в прогресуючій стадії при PsE, PsP, d PsV та PsG виявилось збільшення від 2 до 2,7 разів у сироватці крові вмісту VEGF порівняно з контрольними значеннями.

2. Виявлені кореляційні зв'язки між VEGF та клінічними проявами псоріазу, а саме частотою рецидивів та площею уражених ділянок, що свідчить про появу патогенних значень VEGF при псоріазі.

3. TLR є ключовими трансмембранними білками як у вродженій, так і у адаптаційній імунній відповіді, та є інтегральними показниками у патогенезі псоріазу.

4. При псоріазі в прогресуючій стадії виявлено достовірне збільшення експресії TLR4 на лімфоцитах периферичної крові при PsE, PsP, dPsV, PsG ($p < 0,01$), а при PsF та lPsV рівень експресії TLR4 на лімфоцитах майже не відрізнявся від аналогічного показника контрольної групи. Рівень TLR2 був достовірно вищим за показник контрольної групи при всіх клінічних формах псоріазу в прогресуючій стадії захворювання.

5. Найбільше патогенетичне значення в розвитку псоріазу в прогресуючій стадії є експресія TLR2 та TLR4 на лімфоцитах периферичної крові.

6. У хворих на псоріаз встановлено гіперпродукцію і гіперсекрецію епітеліоцитами шкіри прозапальних біологічних маркерів, зокрема TLR4 і TLR9 - позитивних клітин. Відповідні TLR4 і TLR9-позитивні клітини визначаються, як в уражених псоріатичними висипаннями ділянках шкіри,

так і в інтактній шкірі, але кількість відповідних клітин в ділянках ураженої шкіри більше, ніж в інтактній.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Daschuk A.M., Pochernina V.V. TLR expression on peripheral blood monocytes in patients with psoriasis. *Wiadomości Lekarskie, tom LXXIII, nr 2. Polska: Wydawnictwo Aluna. 2020. P.401-404.*
2. Дащук А.М., Почерніна В.В. Toll-подібні рецептори та їх експресія при псоріазі. *Медичний форум. 2015. №6 (06). С.48-50.*
3. Daschuk A.M., Pochernina V.V. Toll-like receptors 4 and 9 types and their role in the pathogenesis of psoriasis. *Relevant issues of modern medicine: the experience of Poland and Ukraine: International research and practice conference, Lublin, October 20-21, 2017. Lublin, Republic of Poland. 2017. №1. P.79-82.*
4. Дащук А.А., Почерніна В.В. TOLL-подібні рецептори 4 і 9 та їх роль в патогенезі псоріазу. *Матеріали III (X) з'їзду Української асоціації лікарів- дерматовенерологів і косметологів, м. Львів 22-23 листопада 2017 р. ТОВ «ВІТ-А-ПОЛ». Київ.. 2017. С.65.*
5. Дащук А.А., Почерніна В.В. Дослідження TOLL-подібних рецепторів у патогенезі псоріазу. *Світова медицина: сучасні тенденції та фактори розвитку: матеріали науково-практичної конференції, Львів, 26-27 січня 2018 р / Львів: ГО «Львівська медична спільнота». 2018. С.50-54.*
6. Pochernina V.V. Psoriasis. TOLL-like receptors in its pathogenesis. *Advances of Science: Proceedings of articles the international scientific conference. Czech Republic, Karlovy Vary – Ukraine, Kyiv, 6 April 2018 Editors prof. L.N. Katjuhin, I.A. Salov, I.S. Danilova, N.S. Burina. – Electron. txt. d. (1 файл 3 MB). – Czech Republic, Karlovy Vary: Skleněný Můstek – Ukraine, Kyiv: MCNIP. 2018. P.211-215.*

7. Дашук А.А., Почерніна В.В. The role of TOLL-like receptors in the pathogenesis of psoriasis. *Актуальні проблеми дерматології, венерології та ВІЛ/СНІД-інфекції: матеріали наук.-прак. конф (з між нар. участю), присвяч. 145-річчю з дня народження професора Соболева Л.А., Харків 16 листопада 2018 р./ «Водний спектр Джі-Ем-Пі»*. 2018. С.46-50.

8. Патент України на винахід UA 118802, номер заявки а 2017 01630, дата пріоритету 11.03.2019 Публікація відомостей про видачу патенту 11.03.2019, Бюл. № 5. Спосіб діагностики псориатичної еритродермії. Дашук А.М., Почерніна В.В.

РОЗДІЛ 5

ОСОБЛИВОСТІ ІМУНОГО ТА ЦИТОКІНОВОГО СТАНУ ПРИ ПСОРІАЗІ В ПРОГРЕСУЮЧІЙ СТАДІЇ ЗАЛЕЖНО ВІД КЛІНІЧНОЇ ФОРМИ ЗАХВОРЮВАННЯ

Імунопатогенезу псоріазу присвячено багато робіт. До недавнього часу псоріаз розглядався виключно як патологія шкіри, а супутні імунологічні порушення вважалися вторинними. Сьогодні точка зору змінилася, псоріаз розглядається як Т-залежне аутоімунне захворювання, а імунологічним порушенням відводиться пріоритетна роль в його патогенезі [6, 158, 227]. Тому метою цього розділу досліджень було вивчення провідних показників імуного та цитокінового стану пацієнтів, хворих на псоріаз в прогресуючій стадії, з визначенням інтегральних критеріїв залежно від клінічної форми перебігу захворювання.

5.1. Особливості змін клітинної та гуморальної ланок імунітету при псоріазі в прогресуючій стадії залежно від клінічної форми захворювання

В результаті вивчення загального стану імунітету організму у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії встановлено характерне достовірне підвищення кількості лімфоцитів у периферичній крові й спостерігається запальний процес: виявлено зсув лейкоцитарної формули вліво з переважанням паличкоядерних нейтрофілів: загальна кількість лейкоцитів була достовірно вище за контрольні величини у хворих з пустульозною (PsP), еритродермальною (PsE) та поширеною вульгарною (dPsV) клінічними формами псоріазу ($p < 0,001$). У хворих з іншими формами, а саме: обмеженою або локальною формою вульгарного псоріазу (lPsV), краплеподібною формою (PsG) та псоріазу згинальних поверхонь (PsF) кількість лейкоцитів мала тенденцію до збільшення.

При аналізі основних показників клітинної ланки імунітету у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії порівнянно з контрольною групою, незалежно від клінічної форми захворювання, виявлені однотипні статистично значущі зміни: збільшення вмісту субпопуляцій $CD3^+$, $CD4^+$, $CD16^+$, $CD25^+$, $CD95^+$ лімфоцитів та зниження показника специфічного поверхневого рецептора субпопуляції клітин з маркером $CD8^+$ порівняно з контрольними значеннями (рис.5.1).

Поряд з активацією Т-системи лімфоцитів відмічається збільшення кількості В-лімфоцитів $CD22^+$, що є ключовими рецепторами, які модулюють проходження сигналу під час антигенної стимуляції.

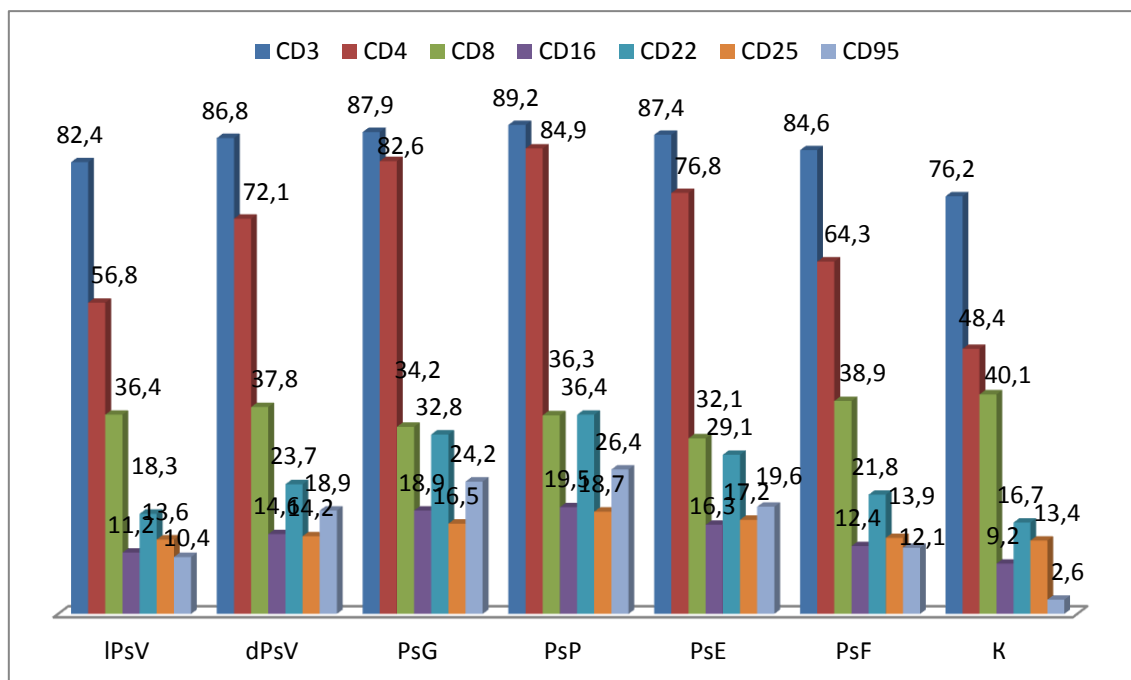


Рисунок 5.1. Інтегральні показники субпопуляцій лімфоцитів у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії залежно від клінічної форми захворювання.

При математичному аналізі встановлено сильний зворотній кореляційний зв'язок між $CD4^+$ та $CD8^+$ при PsP (рис. 5.2), PsE та PsG ($r=-0.79$, $r=-0.72$, $r=-0.78$ відповідно), середньої сили кореляційний зв'язок спостерігався при PsF ($r=-0.56$) та dPsV ($r=-0.58$) й помірний зворотній зв'язок відмічено при IPsV ($r=-0.29$).



Рисунок 5.2. Сильний зворотній кореляційний зв'язок між CD4 та CD8 ($r=-0.79$) при PsP.

Виявлено середньої сили позитивний кореляційний зв'язок між CD4 та частотою виникнення рецидивів при IPsV ($r=+0,56$, рис.5.3), PsF ($r=+0,58$), PsG ($r=+0,54$), dPsV ($r=+0,52$), PsE ($r=+0,62$) та PsP ($r=+0,64$).

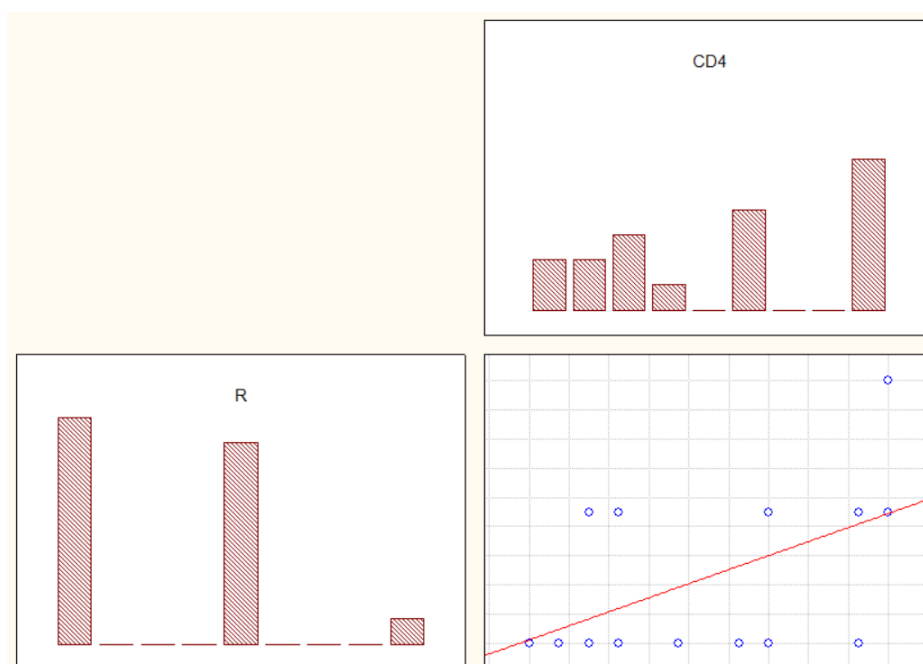


Рисунок 5.3. Середньої сили прямий кореляційний зв'язок між CD4 та частотою виникнення рецидивів ($r=+0,56$) при IPsV.

Аналогічні результати було виявлено при встановленні кореляційного зв'язку Т-лімфоцитів-хелперів та площею псоріатичного ураження: при IPsV ($r=+0,38$), PsF ($r=+0,39$), PsG ($r=+0,54$), dPsV ($r=+0,52$), PsE ($r=+0,41$, рис.5.4) та PsP ($r=+0,64$).

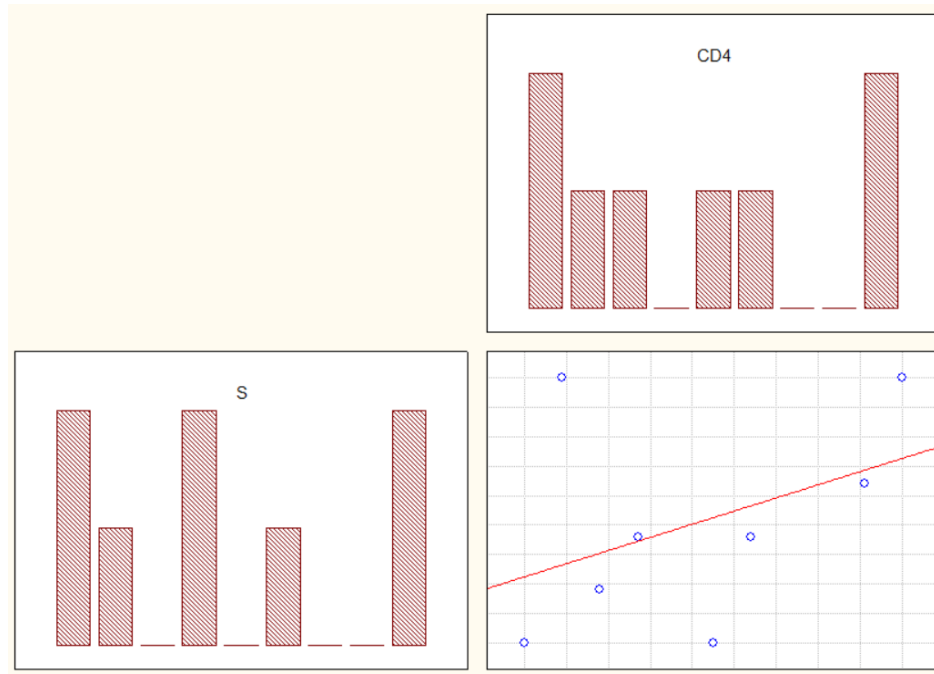


Рисунок 5.4. Середньої сили прямий кореляційний зв'язок між CD4 та площею псоріатичного ураження ($r=+0,41$) при PsE.

При зіставленні основних показників клітинної ланки імунітету у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії, що виник внаслідок інфекційного захворювання, було встановлено міжклітинні взаємозв'язки: CD4 з площею псоріатичних уражень та частотою виникнення рецидивів одночасно зі здатністю до формування щільних біоплівки провідними мікроорганізмами при всіх клінічних формах, зокрема PsE (рис.5.5).

Запрограмована смерть клітин шляхом апоптозу є одним з основних механізмів регуляції клітинного гомеостазу, тому є дослідження, що свідчать про порушення термінального диференціювання і зниження апоптозу кератиноцитів при псоріазі саме в кератиноцитах псоріатичної бляшки, тобто знижується чутливість кератиноцитів до апоптогенних сигналів.

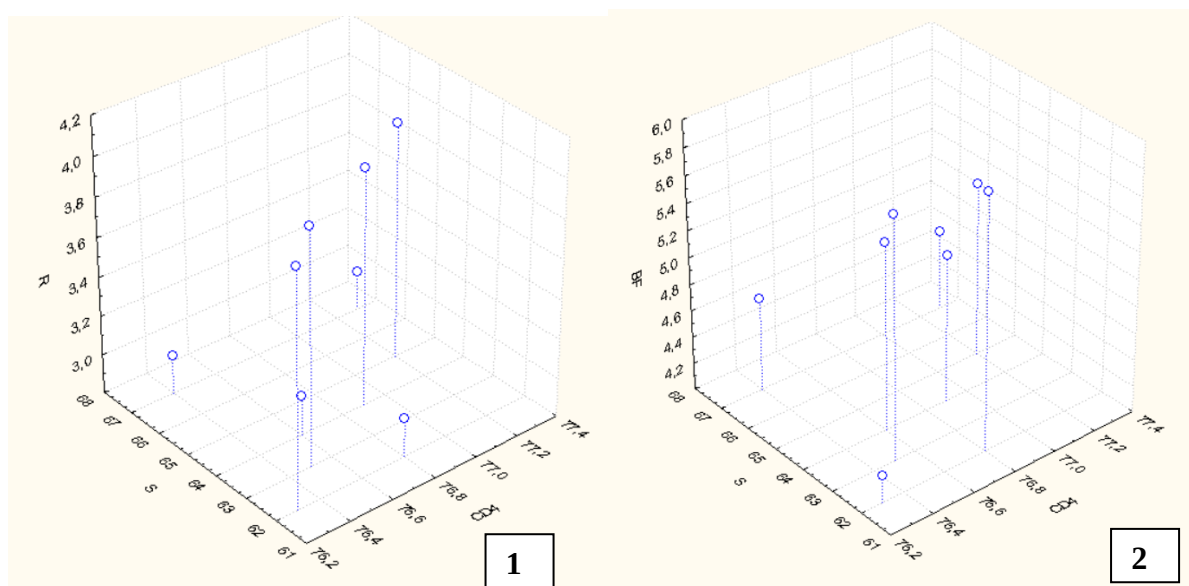


Рисунок 5.5. Міжклітинні взаємозв'язки: 1 - CD4 з площею псоріатичних уражень та частотою виникнення рецидивів; 2 - CD4 з площею псоріатичних уражень та здатністю до формування щільних біоплівки провідними мікроорганізмами при PsE.

В результаті вивчення стану апоптозу лімфоцитів в периферичній крові встановлено, у хворих на псоріаз рівень Т-лімфоцитів, які містять на поверхні своєї мембрани рецептори $CD95^+$, значно перевищує значення контрольних, що свідчить про активацію запрограмованої загибелі лімфоцитів. Відповідно, посилення апоптозу призводить до подальших глибоких змін з дисбалансом всіх ланок імунної системи та девіацією досліджуваних показників. У той же час виявлено збільшення експресії маркера $CD25^+$ на поверхні Т-клітин, що є α -ланцюгом рецептора для IL-2. Виявлене збільшення рівня імунорегуляторних $CD4^+$ й $CD25^+$ Т – регулюючих лімфоцитів в периферичній крові у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії свідчить про розвиток аутоімунного запалення. При кореляційному аналізі встановлено середньої сили прямий кореляційний зв'язок між CD25 та CD95 при PsP ($r=0.56$), PsE $r=0.59$ та PsG ($r=0.47$) (рис.5.6). Помірний к кореляційний прямий зв'язок було встановлено між CD25 частотою виникнення рецидивів ($r=+0,26$) при lPsV (рис.5.7).

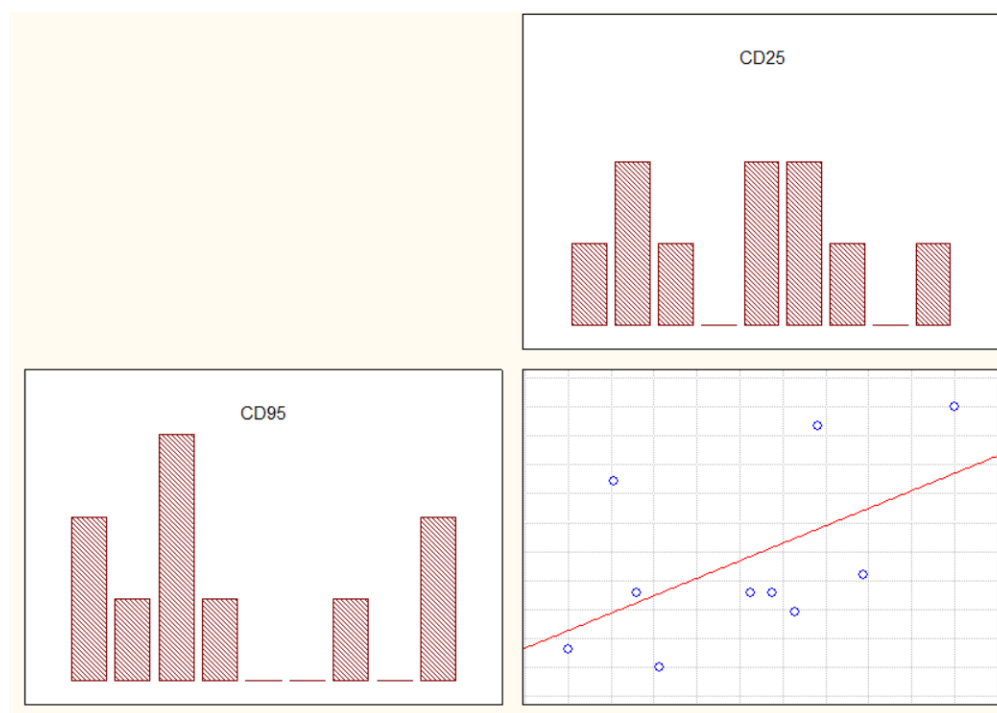


Рисунок 5.6. Середньої сили прямий кореляційний зв'язок між CD25 та CD95 ($r=0.56$) при PsP.

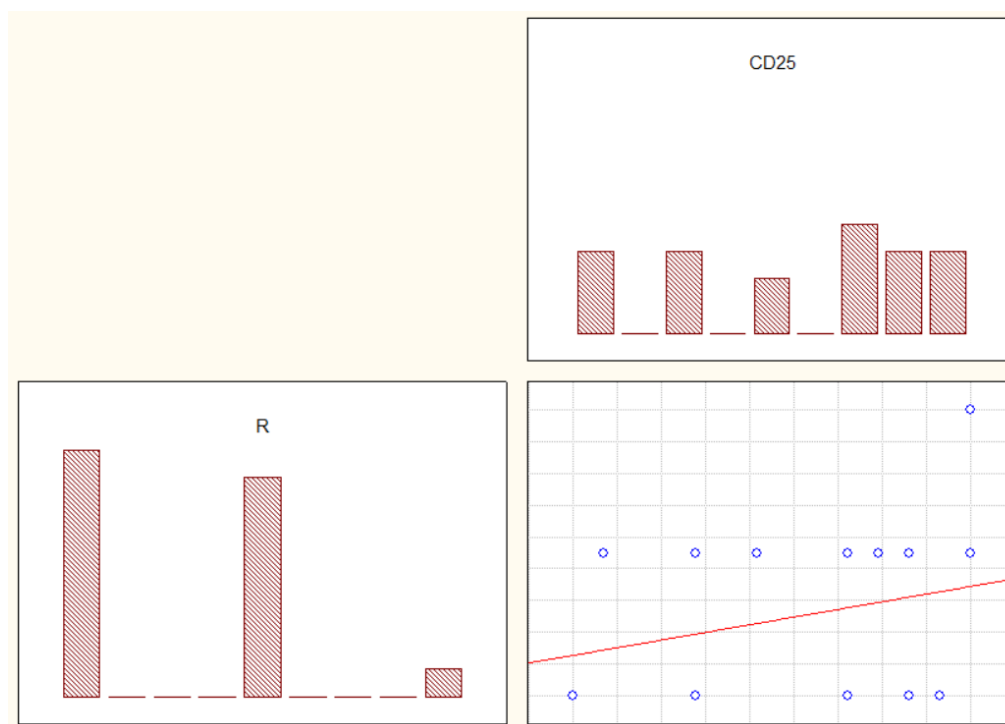


Рисунок 5.7. Помірний прямий кореляційний зв'язок між CD25 частотою виникнення рецидивів ($r=+0.26$) при IPsV.

В результаті проведеного дослідження було виявлені міжклітинні взаємозв'язки: CD4, CD25 та частотою виникнення рецидивів при псоріазі в прогресуючій стадії з тяжким перебігом захворювання, а саме при PsE, PsP, PsG й dPsV (рис.5.8).

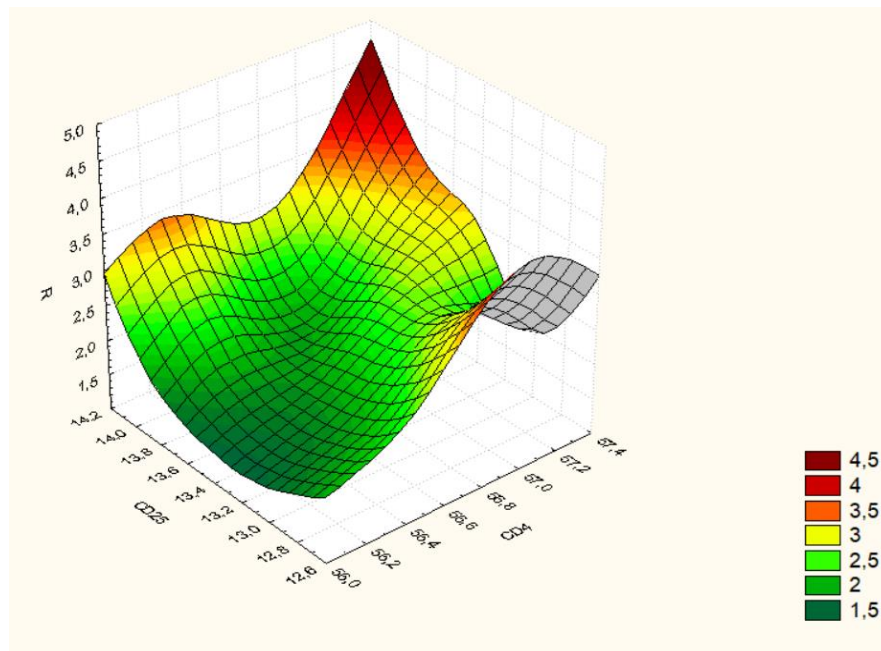


Рисунок 5.8. Міжклітинні взаємозв'язки: CD4, CD25 та частотою виникнення рецидивів при PsP.

Також сильні міжклітинні взаємозв'язки були встановлені між CD8, CD25 та CD95 при псоріазі в прогресуючій стадії при всіх клінічних формах захворювання, але вони мають зворотню силу (рис.5.9).

Таким чином, процеси активації апоптозу при вираженій Т-клітинній активності є важливим патогенетичним аспектом при псоріазі.

У хворих на псоріаз в прогресуючій стадії хвороби реєструється тенденція до збільшення в крові кількості В-лімфоцитів (CD22⁺). Однак у хворих з PsE, PsP та dPsV кількість В-лімфоцитів достовірно вище контрольних показників ($p < 0,05$). Мабуть, виражена запальна реакція є додатковим стимулом до активації В-клітинної ланки імунітету.

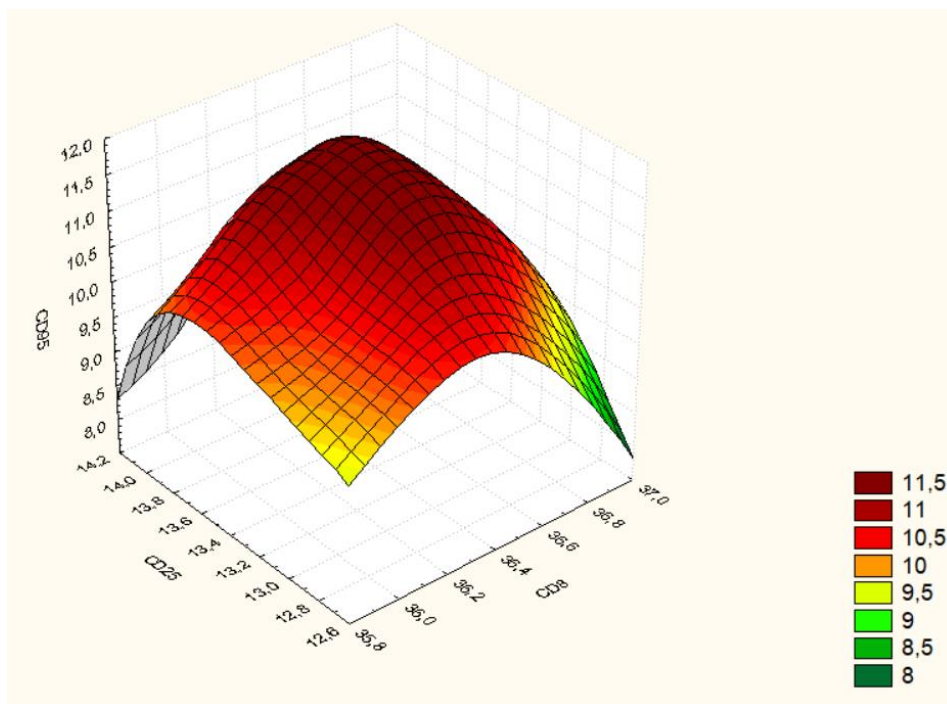


Рисунок 5.9. Міжклітинні взаємозв'язки: CD8, CD25 та CD95 при PsP.

З огляду на те, що стан гуморальної ланки імунітету є одним з важливих показників імунного статусу, було проаналізовано стандартні параметри (вміст в сироватці крові імуноглобулінів) у хворих на псоріаз в періоді загострення хвороби. Встановлено відмінності у вмісті імуноглобулінів залежно від клінічної форми псоріазу (рис.5.10): у хворих на псоріаз PsP, PsE та dPsV достовірно збільшувалася в сироватці крові концентрація сироваткового IgA ($p < 0,01$), а у хворих з PsF, PsG та lPsV - мав тенденцію до збільшення; концентрація IgM при PsP була значно підвищена. У всіх хворих на псоріаз незалежно від клінічної форми концентрація IgG була достовірно збільшена ($p < 0,01$).

Таким чином, у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії захворювання незалежно від клінічної форми виявлено збільшення вмісту сироваткових імуноглобулінів.

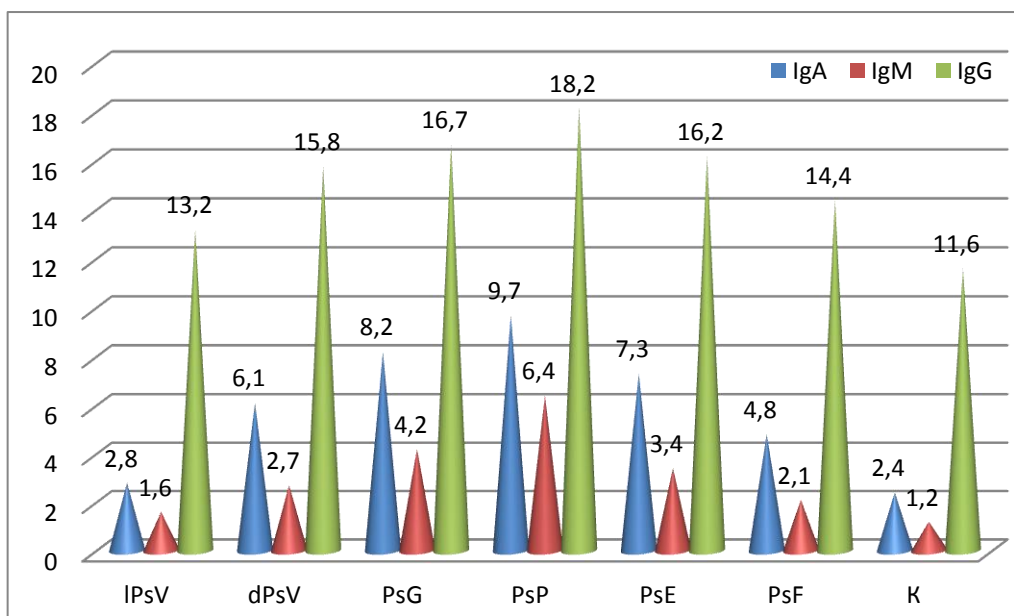


Рисунок 5.10. Концентрація імуноглобулінів у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії залежно від клінічної форми захворювання.

При визначенні взаємозв'язків показників імунного стану при псоріазі в прогресуючій стадії було виявлено, що знижений рівень вмісту в крові $CD8^+$ поєднується з підвищеним утворенням $CD25^+$, що є підставою для припущення про участь аутоімунних процесів в патогенезі псоріазу [212]. Це положення підтверджується зворотним корелятивним зв'язком між зниженими показниками кількості $CD8^+$ і високими $CD25^+$. Одночасне зменшення у хворих на псоріаз в крові кількості $CD8^+$ і збільшення $CD25^+$ може свідчити про участь аутоімунних механізмів у розвитку патологічного процесу і бути одним з діагностичних тестів для проведення профілактичної протирецедивної терапії. При дефіциті $CD8^+$ В-лімфоцити можуть надмірно продукувати антитіла, в тому числі і аутоантитіла, що було виявлено у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії хвороби. У процесі дослідження було встановлено достовірні корелятивні зворотні зв'язки між показниками $CD8^+$ і В-лімфоцитів.

Тож, в результаті даного дослідження виявлено імунологічні маркери при псоріазі в прогресуючій стадії незалежно від клінічної форми захворювання: гіперактивацію адаптивного клітинного імунітету за критеріями збільшення вмісту субпопуляцій Т-лімфоцитів, крім

цитотоксичних CD8⁺ лімфоцитів та активація гуморальної ланки імунітету (IgA, IgM, IgG).

5.2. Значення активності нейтрофільних гранулоцитів при псоріазі в прогресуючій стадії залежно від клінічної форми захворювання

Нейтрофільні гранулоцити є найбільш поширеним типом лейкоцитів у периферичній крові людини. Одним з найважливіших досягнень останнього десятиліття стало відкриття утворення нейтрофільних позаклітинних пасток (NETs), які залучені до імунного захисту та аутоімунітету і тепер пов'язують нейтрофіли з патогенезом різних захворювань, в тому числі й дерматологічного значення. Відомо, що нейтрофіли відіграють вирішальну роль у розвитку псоріазу, але мало відомо про здатність нейтрофілів формувати NETs при псоріазі. Тому необхідні подальші дослідження для кращого з'ясування ролі нейтрофілів та основних механізмів в патогенезі псоріазу.

Тому метою даного підрозділу роботи було оцінити ефективність роботи нейтрофілів за критеріями фагоцитарної активності та здатність формувати NETs у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії залежно від клінічної форми захворювання.

Як відомо, фагоцитоз є одним із важливих аспектів функціонування клітин, які забезпечують захисні властивості організму, його перебіг проявляється у часі, однак, на сучасному етапі досліджується не сам процес, а його результат – доля фагоцитуючих клітин, кількість часток, що поглинають клітини та його інтенсивність. Фагоцитарна активність нейтрофілів звичайно підвищується на початку розвитку запального процесу, а зниження ефективності функціонування нейтрофілів призводить до підтримання аутоімунного процесу, тому що при цьому порушується функція руйнування і виведення імунних комплексів з організму.

В результаті проведеного дослідження встановлено тенденцію до збільшення показника фагоцитарного індексу (ФІ) у пацієнтів на псоріаз в прогресуючій стадії при різних клінічних формах перебігу: при d PsV, PsF та PsE – у 1,3 рази, а при PsP та PsG – у 1,2 рази порівняно з контрольними значеннями (рис. 5.11).

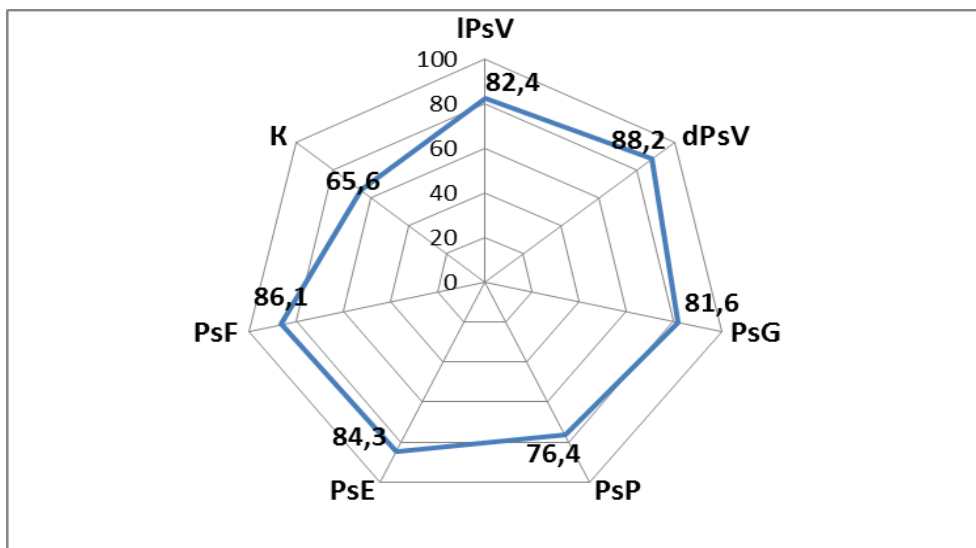


Рисунок 5.11. Активність фагоцитозу (ФІ,%) у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії залежно від клінічної форми захворювання

При кореляційному аналізі встановлено позитивний кореляційний зв'язок середньої сили між показником інтенсивності фагоцитозу та здатністю до утворення щільних біоплівки провідними мікроорганізмами при псоріазі в прогресуючій стадії незалежно від клінічної форми захворювання, зокрема при PsE (рис.5.12).

У відповідь на мікробні і немікробні агенти нейтрофіли в момент окисного вибуху активно формують у позаклітинному просторі сіткоподібні структури (Neutrophil Extracellular Traps, NETs), які здатні утримувати антигени [167, 235]. Порівнюючи *in vitro* фагоцитарну активність незмінених нейтрофілів та ефективність уловлювання антигенів в нейтрофільних пастках було встановлено, що інтенсивність фагоцитозу (ФЧ) у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії відрізняється при різних клінічних формах захворювання. Так, зафіксовано, що при низькому показнику ефективності

фагоцитозу показник кількості антигенів в NETs є максимальним: при PsP ефективність уловлювання антигенів в NETs збільшується у 7,3 рази, а при PsG – у 6,4 рази порівняно з аналогічними показниками при інших клінічних формах псоріазу: при IPsV – кількість Аг в NETs підвищується у 1,7 рази; при dPsV – у 2,7 рази; при PsE – у 3,6 рази, а при PsF – у 2,2 рази (рис.5.13).



Рисунок 5.12. Середній прямий кореляційний зв'язок між інтенсивністю фагоцитозу та здатністю до утворення щільних біоплівки провідними мікроорганізмами ($r=+0.59$) при PsE.

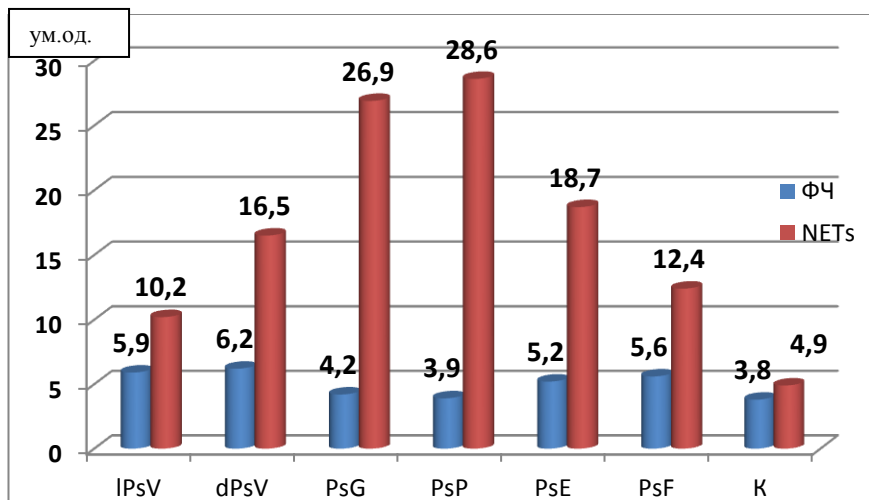


Рисунок 5.13. Кількість фагоцитованих частинок антигенів, що виявляються в нейтрофілах та екстрацелюлярних нейтрофільних пастках у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії при різних клінічних формах захворювання (ум.од.).

Аналізуючи здобуті результати встановлено, що інтенсивність фагоцитозу й вміст антигенів в NETs був підвищений порівняно з контрольними значеннями, але зафіксовано, що при досить низьких значеннях ФЧ відбувається підвищення ефективності роботи NETs – вони затримують більшу кількість антигенів.

При люмінесцентному дослідженні препаратів встановлено, що після взаємодії з антигенами нейтрофіли утворюють позаклітинні сіткоподібні структури, які добре візуалізуються (рис. 5.14).

При математичному аналізі встановлено середньої сили зворотній кореляційний зв'язок між NETs та CD8 ($r=0.49$) при PsE (рис.5.15). Аналогічні зв'язки було встановлено при PsP, PsG, PsF та dPsV.

При зіставленні основних показників фагоцитарної ланки імунітету з рівнем цитотоксичних лімфоцитів у периферичній крові хворих на псоріаз в прогресуючій стадії, що виник внаслідок інфекційного захворювання, було встановлено взаємозв'язки між клітинами, що мають на поверхні рецептори CD8⁺ та здатністю до уловлювання антигенів в NETs й фагоцитарною активністю нейтрофілів (рис.5.16).

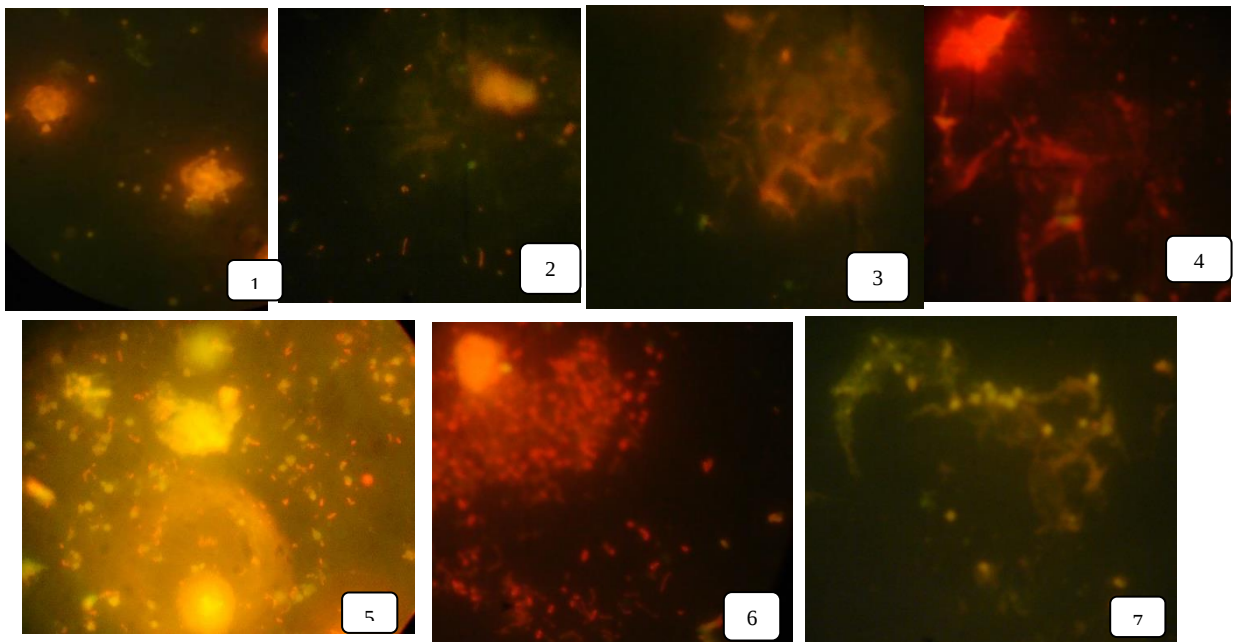


Рисунок 5.14. Формування нейтрофільних позаклітинних пасток у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії: 1 – К, 2 - IPsV, 3 - d PsV, 4 – PsF, 5 –PsG, 6 – PsP, 7 - PsE.

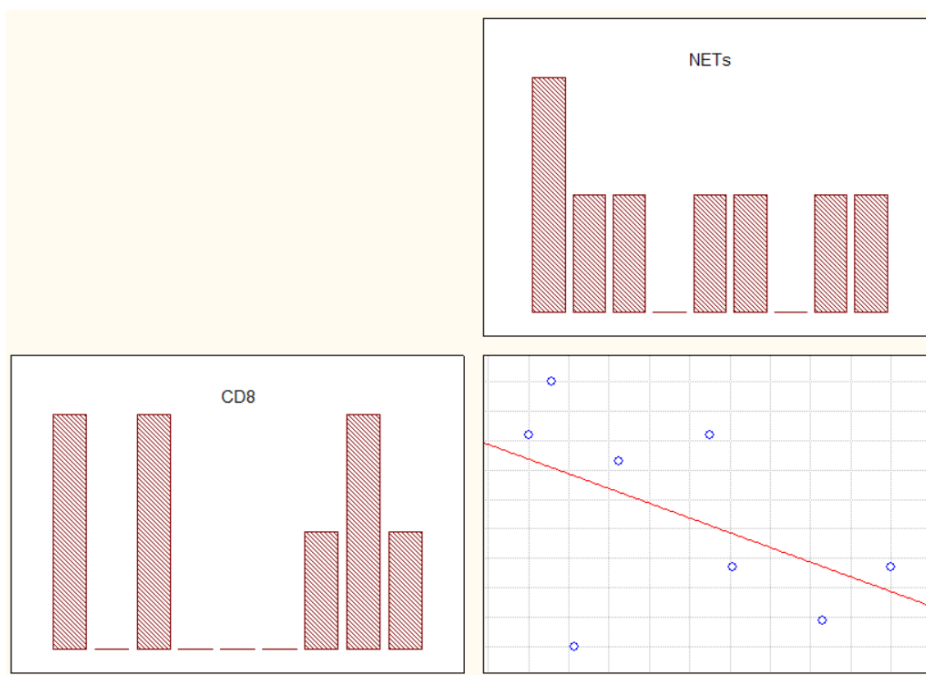


Рисунок 5.15. Зворотній середній кореляційний зв'язок між NETs та CD8 ($r=0.49$) при PsE.

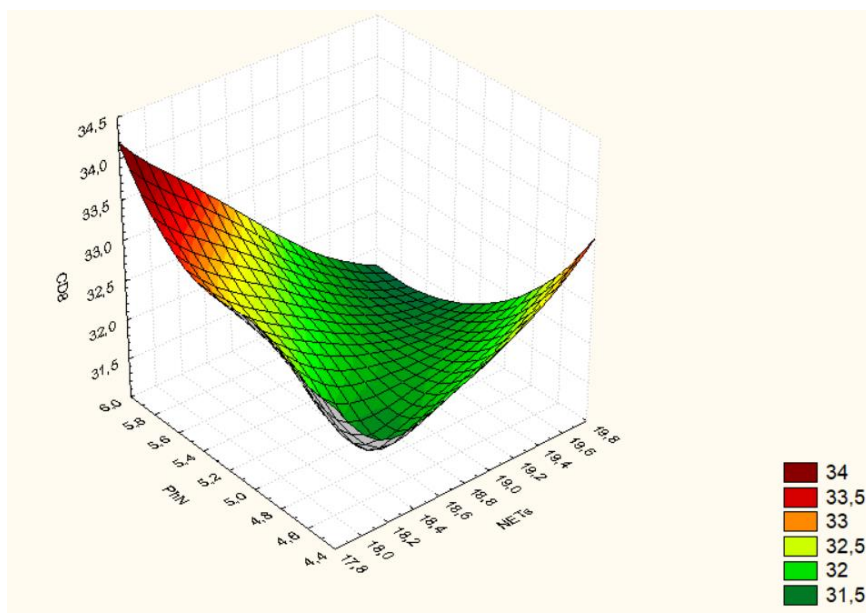


Рисунок 5.16. Міжклітинні взаємозв'язки: CD8, NETs та фагоцитарним числом при PsE.

Таким чином, мікробні та немікробні агенти стимулюють утворення екстрацелюлярних пасток, при цьому нейтрофіл втрачає життєздатність, але продовжує виконувати захисну функцію. Екстрацелюлярні пастки утворюються після реалізації біологічної програми нейтрофілів, тобто після їх загибелі шляхом некрозу або апоптозу. Отже, на підставі літературних даних та власних результатів можна зробити наступні висновки: нейтрофіли при псоріазі представляють інтерес через їх вирішальну роль у вродженому та адаптивному імунітеті. Дихальний вибух з генерацією вільних радикалів, дегрануляцією та формуванням NETs призводить до активації інших клітин, що вивільняють медиатори запалення, які в свою чергу сприяють посиленню активності нейтрофілів.

5.3 Оцінка рівня цитокінового балансу у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії залежно від клінічної форми захворювання

Вивченню ролі і значення імунної системи при псоріазі приділяється значна увага. За останні роки пріоритетним напрямком стало вивчення цитокінового профілю у хворих на псоріаз, тому що саме цитокінам відводиться одна з ключових ролей у розвитку даного захворювання [177]. Результати сучасних досліджень, що стосуються продукції і ролі ключових про- і протизапальних цитокінів (TNF- α , IL-1 β , IL-10, IL-17) при псоріазі суперечливі. Якщо в псоріатичній ділянці встановлено підвищений вміст прозапальних цитокінів, то дані про вміст та баланс про- і протизапальних цитокінів в периферичній крові залишаються досить неоднозначними [185]. Ряд робіт вказує на переважання рівня прозапальних цитокінів і щодо низької експресії протизапальних цитокінів, що передбачає недостатню протирегулюючу здатність імунної системи [44, 90]. Інші автори висловлюють думку про відносну анти запальну поляризацію цитокінового спектра з переважанням IL-4 та IL-10 при цьому захворюванні [99].

Вивчення імунопатогенезу псоріазу в даний час не представляється можливим без дослідження стану медіаторів запалення, а саме цитокінів. У розвитку адаптивної імунної відповіді та процесів диференціювання імунних клітин має ключове значення баланс про- та протизапальних цитокінів, як регулятору активації або пригнічення імунопатологічних процесів в організмі хворих. У зв'язку з цим, визначення особливостей балансу системи цитокінів у хворих на псоріаз може стати одним з напрямків, що дозволяють не тільки судити про імунологічні порушення, а й надалі, удосконалювати і індивідуалізувати методи профілактики виникнення рецидивів. Мікробні антигени є важливим фактором, що беруть участь у патогенезі псоріазу. Відомо, що частота рецидивування, тяжкість та тривалість перебігу псоріазу тісно пов'язані, а в багатьох випадках обумовлені в першу чергу патологією імунної системи. Ключова роль у патогенезі запальної відповіді при псоріазі відводиться факторам патогенності мікроорганізмів, які володіють широким спектром біологічної дії на організм господаря. Клітини макроорганізму при ушкодженні, а також мікроорганізми, починають продукувати білки теплового шоку, які сигналізують про ураження власної клітини. Крім цього, у великій кількості вони продукуються ендотеліальними клітинами, активованими цитокінами. Цитокіни опосередковано впливають на функціональну активність і виживання клітин, а також на стимуляцію або інгібування їх росту. Вони забезпечують злагоджену кооперацію у діях імунної, ендокринної та нервової систем у нормальних умовах та у відповідь на патологічні впливи, а їх накопичення в крові багатьма вченими розглядається як системна запальна відповідь. Про- та протизапальні цитокіни забезпечують розвиток повноцінної та адекватної запальної реакції в організмі, є факторами зміни фаз запального процесу. Є багато суперечливих досліджень щодо вивчення цитокінового стану при псоріатичному процесі, але ж вони мають не системний характер. Тому визначення провідних показників цитокінового балансу при різних клінічних формах псоріазу є зараз актуальним та обумовлює показання до проведення

імунотерапії в складі комплексної, щодо профілактичних заходів рецидивування захворювання.

Для оцінки стану цитокінового профілю були вивчені отримані результати визначення рівня прозапальних цитокінів: IL-1 β , IL-17 та TNF- α , і протизапального IL-10. При визначенні рівня вмісту прозапальних цитокінів в крові хворих на псоріаз в прогресуючій стадії було виявлено статистично достовірне розходження їх концентрацій в крові здорових осіб: IL-1 β ($4,62 \pm 0,26$ пкг/мл), IL-17 ($2,63 \pm 0,03$ пкг/мл) та TNF- α ($42,1 \pm 0,19$ пкг/мл) і осіб, що страждають на псоріаз ($p < 0,01$) при всіх клінічних формах. Однак, слід зазначити, що найбільш високі показники прозапальних цитокінів були виявлені в крові хворих з тяжким перебігом псоріазу: при PsE рівні IL-1 β та IL-17 підвищувалися у 7 разів, TNF- α – у 2,1 рази; при PsP рівень IL-1 β був підвищений у 6,1 рази, IL-17 - у 5,4 рази, а TNF- α – у 2 рази; при PsG - вміст IL-1 β був підвищений у 6,4 рази, IL-17 - у 6,2 рази, TNF- α – у 2,1 рази; при PsF концентрація IL-1 β підвищувалася у 5,7 разів, IL-17 - у 4,9 рази, TNF- α – у 1,7 рази; при d PsV рівні IL-1 β підвищувалися у 3,9 рази, IL-17 - у 3,8 рази, TNF- α – у 1,7 рази, а при l PsV рівні IL-1 β були підвищені у 3,1 рази, IL-17 - у 2,9 рази, а TNF- α мав тенденцію до підвищення – у 1,4 рази, тож концентрація прозапальних цитокінів при всіх клінічних формах перебігу псоріазу в прогресуючій стадії була підвищеною, однак найбільші показники вмісту цитокінів спостерігалися при еритродермічній, пустульозній та ексудативній краплеподібній клінічними формами перебігу захворювання порівняно з аналогічними показниками групою контролю ($p < 0,01$). Причому показники цитокінового профілю зростали зі збільшенням площі і вираженості запальних змін (табл.5.1). Слід зазначити, що у хворих з важкими формами псоріазу (PsE, PsP, PsG, PsF, dPsV) вміст IL-1 β , IL-17 та TNF- α в сироватці крові достовірно вище ($p < 0,01$), ніж у хворих на локалізовану форму вульгарного псоріазу (lPsV), що може свідчити про більш виражений прозапальний зсув імунорегуляторних процесів і активації запалення при важких клінічних формах псоріазу. Отримані дані

підтримують думку ряду дослідників, які вказують на переважання при псоріазі рівня прозапальних цитокінів в периферичній крові і порушення імунорегуляторних процесів із зсувом в сторону Th-1 ланки імунного відповіді [134, 197].

Таблиця 5.1

**Вміст цитокінів в крові пацієнтів, які страждають на псоріаз,
пкг/мл ($M \pm m$)**

№ п/п	Показники	Контрольні значення	Клінічні форми псоріазу					
			PsV		PsG	PsP	PsE	PsF
			l PsV	d PsV				
1	IL-1 β	4,62 $\pm$ 0,26	14,12 $\pm$ 0,16	18,11 $\pm$ 0,18*	29,76 $\pm$ 0,24*	28,31 $\pm$ 0,19*	32,63 $\pm$ 0,21*	26,44 $\pm$ 0,14*
2	IL - 10	4,06 $\pm$ 0,12	6,37 $\pm$ 0,09	8,23 $\pm$ 0,04*	12,36 $\pm$ 0,12*	10,58 $\pm$ 0,16*	14,35 $\pm$ 0,12*	9,16 $\pm$ 0,08*
	IL - 17	2,63 $\pm$ 0,03	7,64 $\pm$ 0,06	10,1 $\pm$ 0,08*	16,2 $\pm$ 0,14*	14,3 $\pm$ 0,12*	18,6 $\pm$ 0,18*	12,8 $\pm$ 0,12*
4	TNF- α	42,1 $\pm$ 0,19	58,8 $\pm$ 0,26	69,5 $\pm$ 0,34*	86,7 $\pm$ 0,41*	84,2 $\pm$ 0,38*	89,4 $\pm$ 0,46*	72,8 $\pm$ 0,36*

Примітка: * - $p < 0,01$ - достовірність відмінностей в порівнянні з контрольною групою здорових осіб

При дослідженні протизапального цитокіну IL-10, що володіє доведеною антипсоріатичною дією, встановлено його достовірне підвищення у хворих з тяжким перебігом псоріатичного процесу (PsE, PsP, PsG, PsF, dPsV) по відношенню до контрольної групи у 3,5; 2,6; 3,0; 2,3 та у 1,6 рази ($p < 0,01$) відповідно. У пацієнтів lPsV групи вміст IL-10 мав лише тенденцію до підвищення в порівнянні з контрольною групою, що також свідчить про порушення імунорегуляторних процесів із зсувом у бік Th-1 ланки імунної відповіді з активацією запалення при важких формах псоріазу, розвитку порушення регуляторної здатності імунної системи.

Характерною особливістю імунологічних змін у хворих на псоріаз стало порушення співвідношень вмісту IL-1 β до IL-10: так у хворих PsE

групи показник співвідношення IL-1 β /IL-10 підвищився у 2,1 рази, PsG - у 2,2 рази, PsV (IPsV та dPsV) – у 2 рази, але найбільше порушення цього показника спостерігалось у хворих на PsP - у 2,7 рази та PsF – у 2,6 рази в порівнянні з показником контрольної групи. Таким чином, у пацієнтів з псоріазом в прогресуючій стадії з тяжким перебігом відзначалася низька експресія протизапального антипсоріатичного цитокину IL-10 на тлі значного підвищення рівня прозапальних цитокінів IL-1 β , IL-17 та TNF- α , що свідчить про наявність дисбалансу між про- і протизапальними цитокінами та переважанням Th-1 клітин над Th-2 клітинами з розвитком недостатньої регулюючої здатності імунної системи. При цьому цитокіновий дисбаланс більш виражений при важких формах псоріазу, особливо при наявності мікробного обсіменіння, що дозволяє розглядати показник співвідношення IL-1 β /IL-10 як діагностично значущий критерій тяжкості псоріазу.

На сьогоднішній день встановлено, що в патогенезі псоріазу ключову роль відіграє IL-17. У роботах деяких дослідників встановлено достовірне збільшення даного цитокину в сироватці крові у хворих на псоріаз. При цьому виявлена здатність IL-17 активувати експресію IL-1 β , який в свою чергу володіє деструктивним потенціалом в запальному процесі, що призводить до тканинного ремоделювання та стимуляції гранулопоезу [164, 245]. IL-17 запускає тканинні реакції, що призводять до міграції нейтрофілів в зону запалення. IL-17 виконує важливу фізіологічну функцію, беручи участь в захисті організму від бактеріальних і грибкових інфекцій. Мішенями для IL-17 є кератиноцити, синовіоцити, фібробласти, епітеліальні клітини та активація цих клітин індукує синтез цитокінів, що підсилює рекрутування Th17-клітин і нейтрофілів в зону запалення.

Аналізуючі результати дослідження встановлено достовірно більш високий вміст IL-17 в сироватці крові всіх хворих на псоріаз в прогресуючій стадії в порівнянні з контролем ($p < 0,01$).

При вивченні зв'язку між рівнем IL-17 в сироватці крові і маркерами запалення у пацієнтів з псоріазом в прогресуючій стадії встановлено

наявність прямих достовірних зв'язків між збільшенням значення ІЛ-17 і показником активності псоріатичного процесу ($r = 0,80$, рис.5.17) і його окремими компонентами: мікробною вегетацією та щільністю основного фактору патогенності мікроорганізмів - біоплівкою.

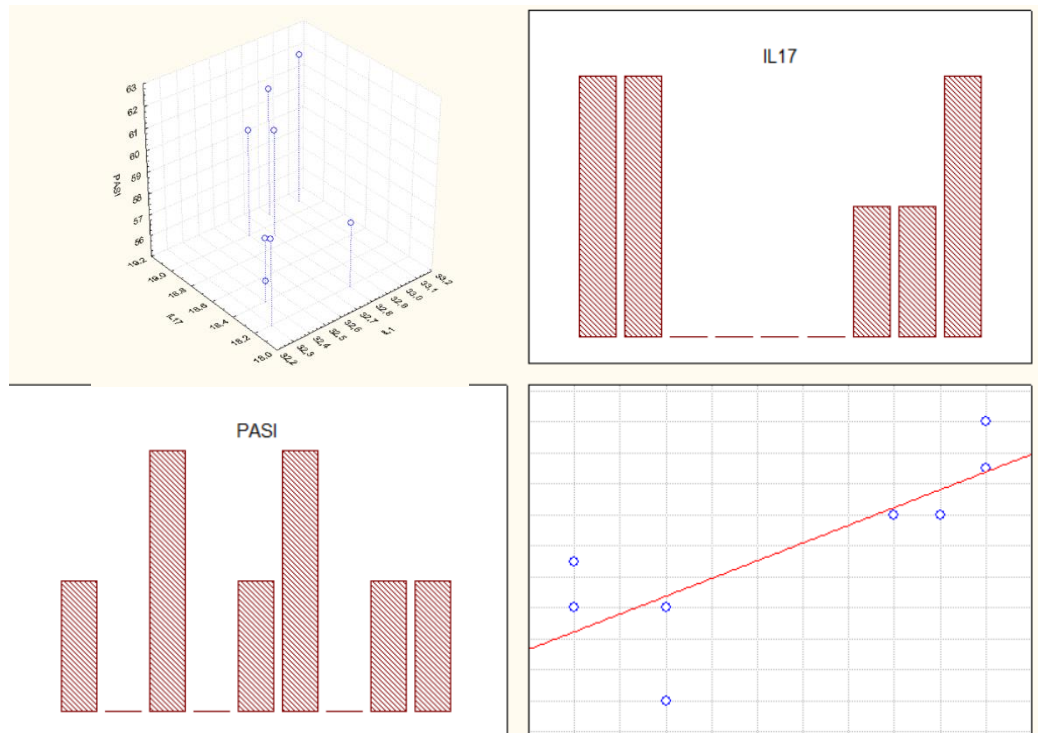


Рисунок 5.17. Сильний прямий кореляційний зв'язок між ІЛ-17 та величиною індексу PASI ($r=+0.80$) при PsE.

Значення вмісту ІЛ-1 β в сироватці крові знаходяться у прямій сильній кореляції ($r = 0,80$, рис.5.18) з показником PASI, в той же час виявлено сильні взаємозв'язки між концентрацією інтерлейкінів та індексом PASI (рис. 5.19).

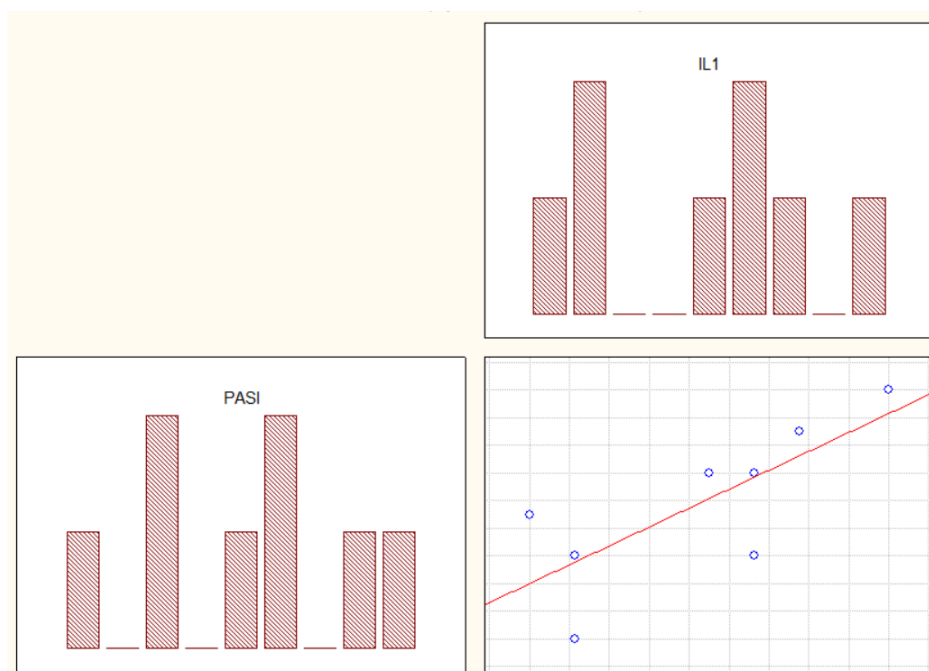


Рисунок 5.18. Сильний прямий кореляційний зв'язок між IL1 β та величиною індексу PASI ($r=+0.76$) при PsE.

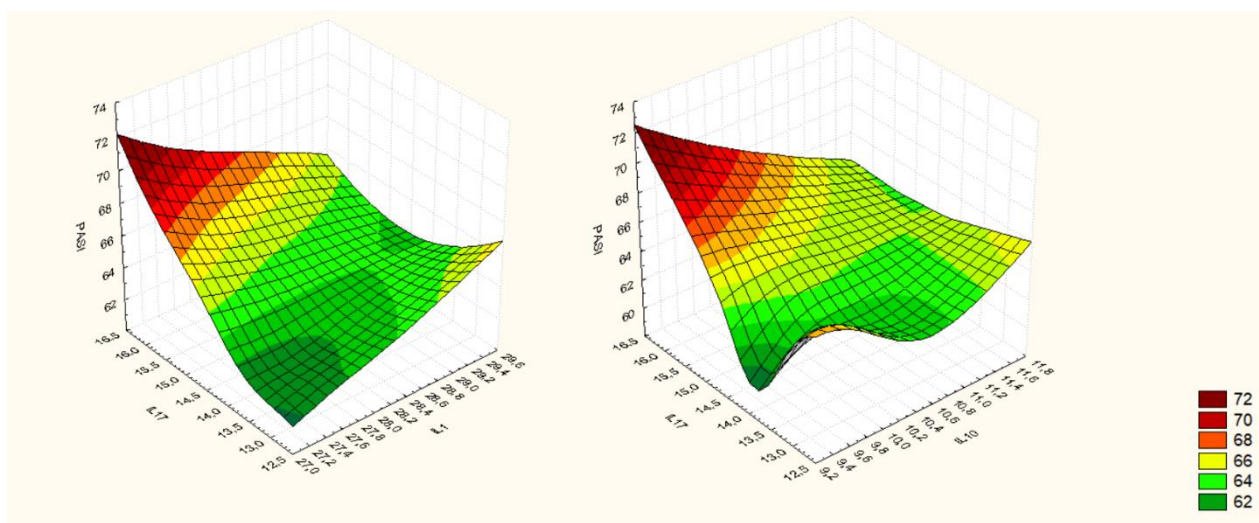


Рисунок 5.19. Взаємозв'язки між IL17, IL-10, IL-1 β та величиною індексу PASI при PsP.

Показники концентрацій прозапального інтерлейкіну IL-1 β та протизапального IL-10 в сироватці крові знаходяться у прямій сильній кореляції ($r = +0.74$) з показником IL-17 (рис. 5.20, рис.5.21).

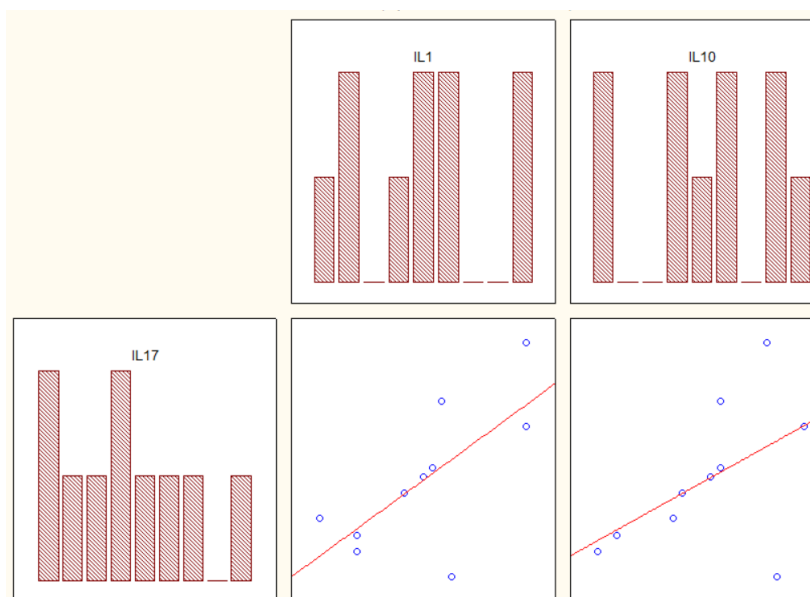


Рисунок 5.20. Кореляційні цитокінові зв'язки між IL-17 та IL-10 ($r=0.51$) й IL-17 та IL-1 β ($r=0.70$) при PsP.

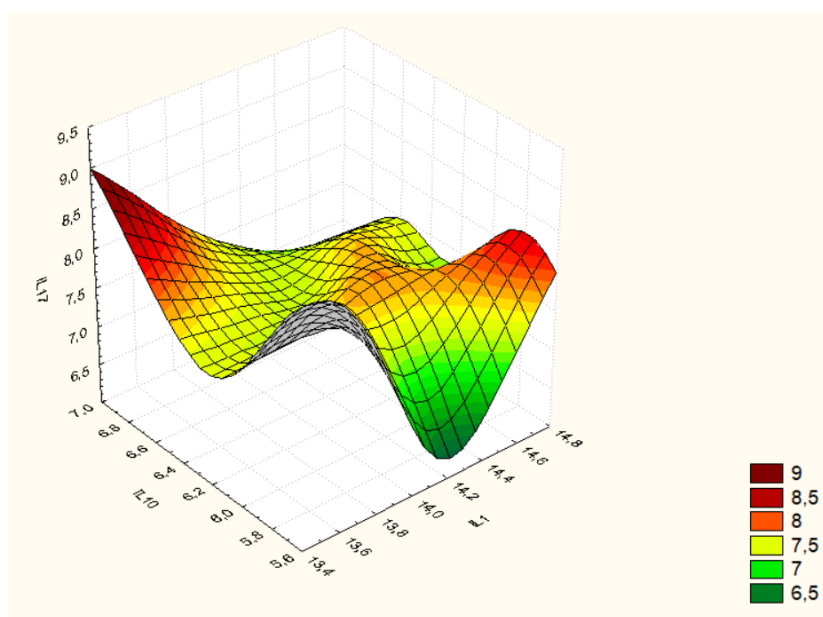


Рисунок 5.21. Міжклітинні взаємозв'язки: IL-17, IL-10 та IL-1 β при IPsV.

Одночасно з цим встановлено середній прямий кореляційний зв'язок між IL17 та площею псоріатичного ураження шкіри ($r=+0.38$) при ІРsV (рис.5.22) та прямі взаємозв'язки між IL17, PASI та площею псоріатичного ураження шкіри (рис.5.23).

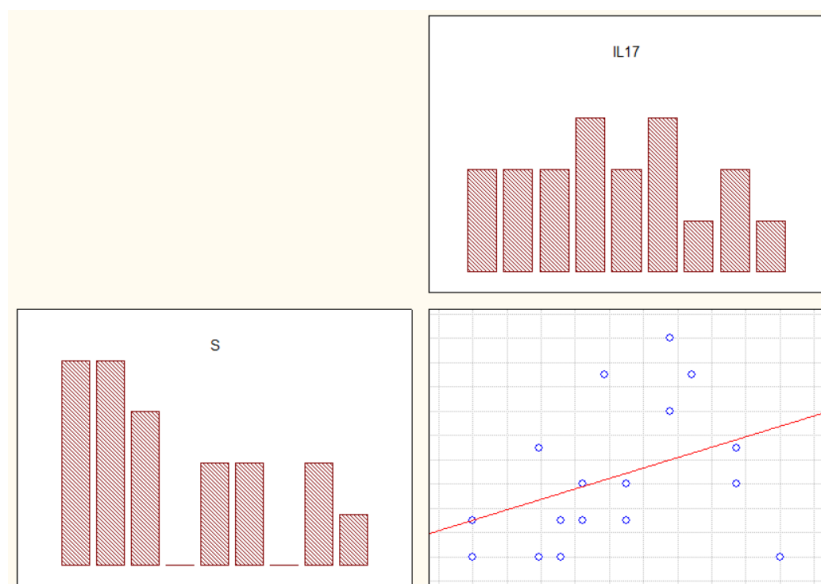


Рисунок 4.22. Середній прямий кореляційний зв'язок між IL17 та площею псоріатичного ураження шкіри ($r=+0.38$) при ІРsV.

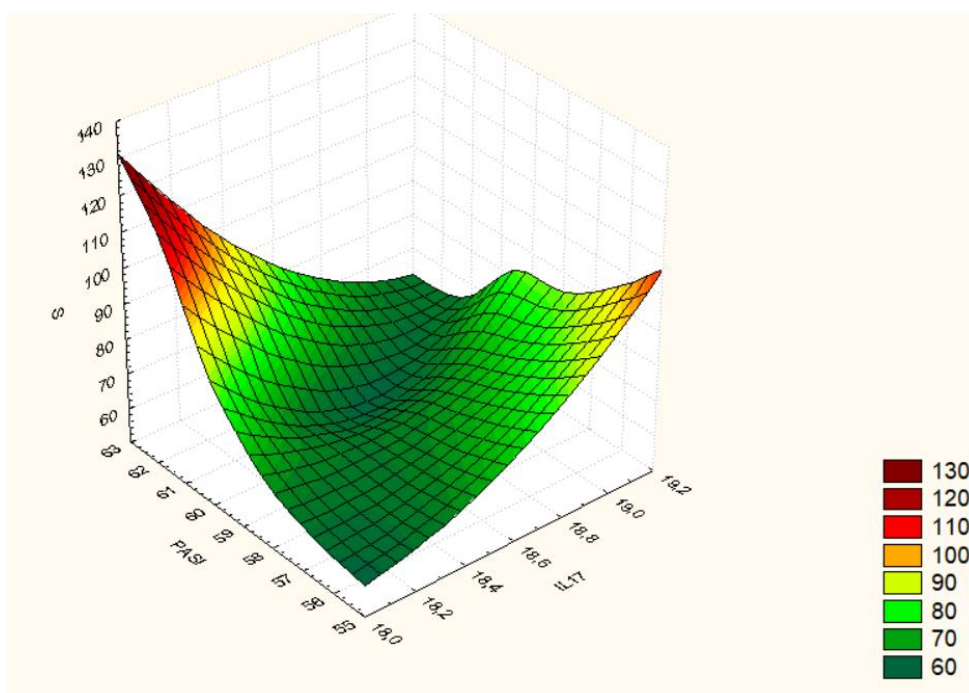


Рисунок 4.23. Взаємозв'язки між IL17, PASI та площею псоріатичного ураження шкіри при PsE.

А також в результаті математичного аналізу виявлені взаємозв'язки між IL17, частотою виникнення рецидивів та площею псоріатичного ураження шкіри при ІрSV (рис.5.24) та між IL17, IL10 та PASI при ІрSV (рис.5.25).

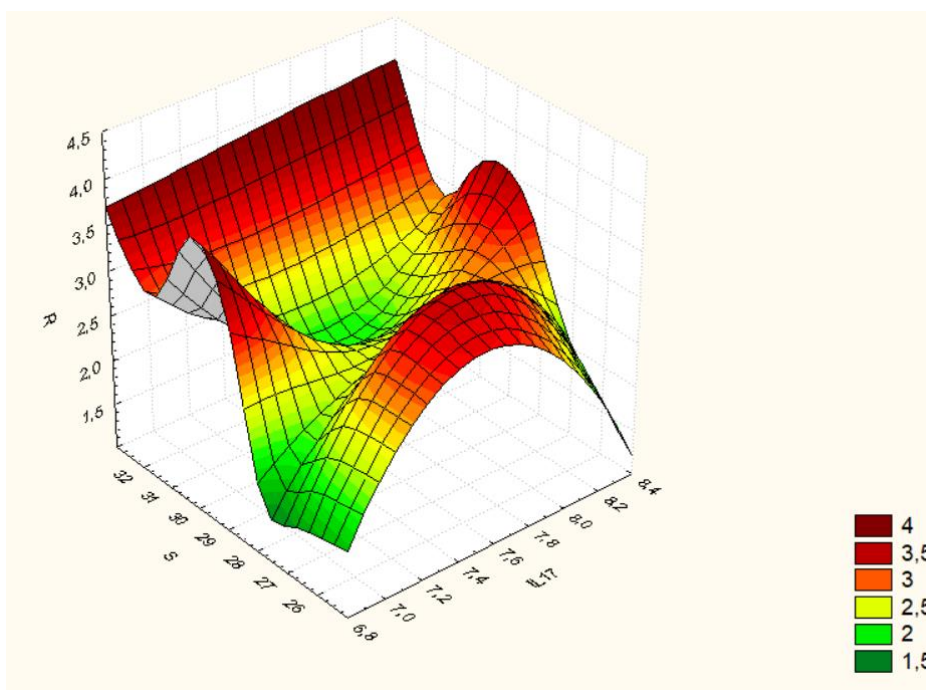


Рисунок 5.24. Взаємозв'язки між IL17, частотою виникнення рецидивів та площею псоріатичного ураження шкіри при ІрSV.

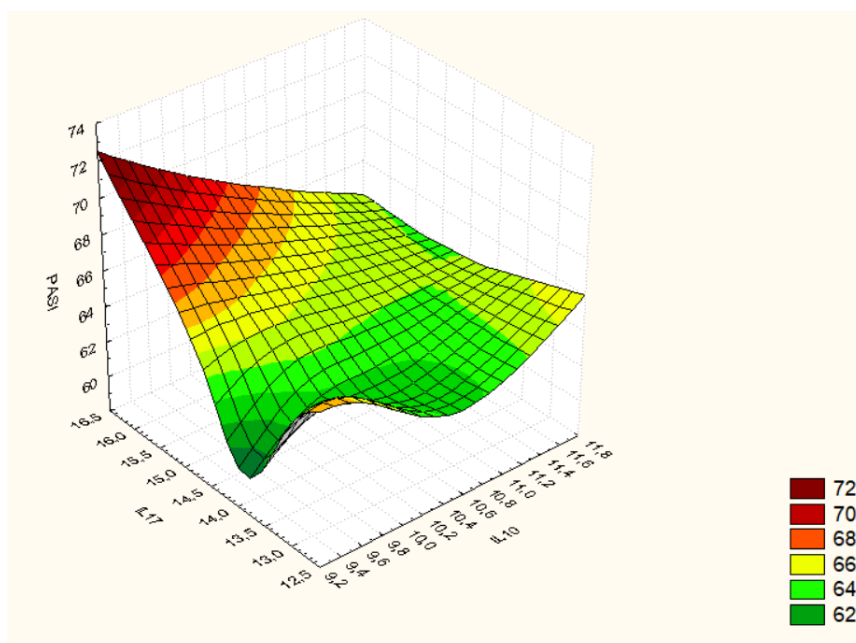


Рисунок 5.25. Взаємозв'язки між IL17, IL10 та PASI при ІрSV.

Виявлені достовірні кореляції між рівнем IL-17 в сироватці крові здатністю до біоплівкоутворення. Виявлена кореляція рівня IL-17 і величини індексу PASI підтверджує ключове значення даного цитокіну в патогенезі псоріазу (рис.5.26).

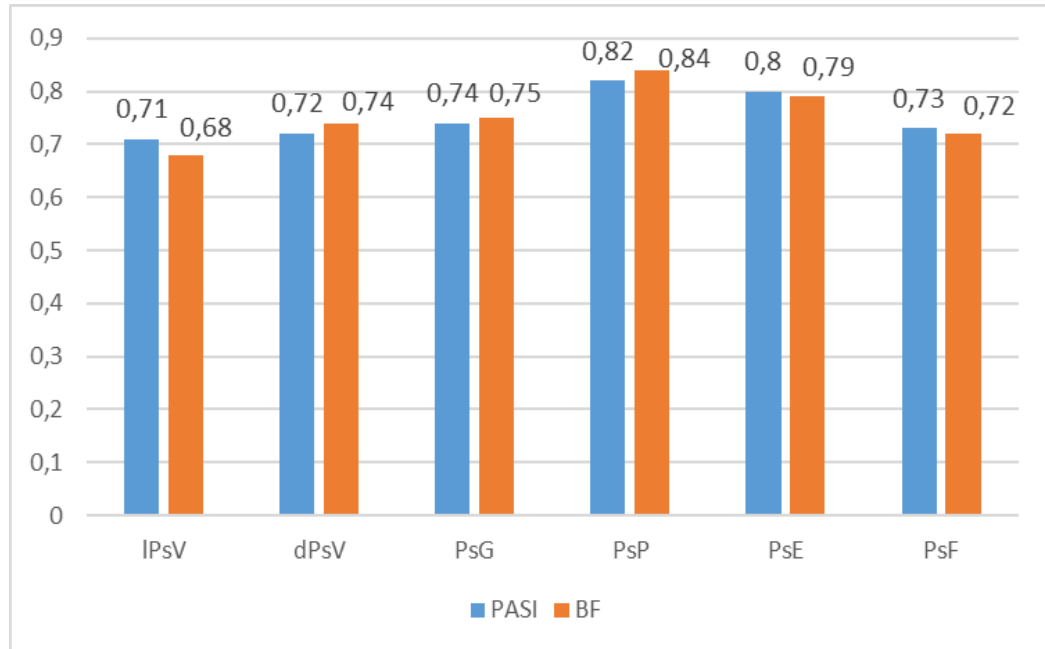


Рисунок 5.26. Показник кореляційного зв'язку вмісту IL-17 у сироватці крові хворих на псоріаз в прогресуючій стадії, величини індексу PASI й здатністю провідних мікроорганізмами формувати щільні біоплівки.

Встановлена кореляція рівня IL-17 й величини індексу PASI ідтверджує гіперекспресію даного цитокіну в сироватці крові хворих на псоріаз в прогресуючій стадії з тяжким перебігом.

Тому, з огляду на те, що IL-17 проявляє виражену прозапальну активність, здатний індукувати синтез різних медіаторів запалення, сприяючи розвиток аутоімунних патологічних реакцій, для уточнення ролі IL-17 в патогенезі псоріазу було встановлено, що IL-17 відіграє роль одного з основних патогенетичних критеріїв у діагностиці захворювання. Таким чином, отримані результати дослідження в цілому підтверджуються даними наукової вітчизняної та зарубіжної літератури.

Тож, виявлена девіація цитокинового балансу зі збільшенням рівня як прозапальних цитокінів, так й протизапального IL-17. Підвищення продукції IL-10 при псоріазі в прогресуючій стадії відображає перемикавання імунної відповіді на Th2-тип, яка характерна для формування аутоімунного процесу. Активність патологічного процесу при псоріазі в прогресуючій стадії підтверджується наявністю високого рівня ключових прозапальних цитокінів TNF- α , IL-1 β , IL-17, які сприяють переключенню імунної відповіді на Th1-тип, що приводить до порушення цитокинової регуляції клітинного циклу.

Результати статистичних досліджень, що описують взаємозв'язок кількісних ознак, свідчать про наявність численних кореляційних міжклітинних цитокинових зв'язків. Це підтверджує тісну взаємодію всіх ланок імунної системи. Так, в результаті кореляційного аналізу встановлено прямий зв'язок між NETs та IL-10 ($r=0.54$) й NETs та IL-1 β ($r=0.44$) при PsP (рис.5.27) та середній прямий кореляційний зв'язок між IL-1 β та CD25 ($r=+0.43$) при lPsV (рис.5.28).

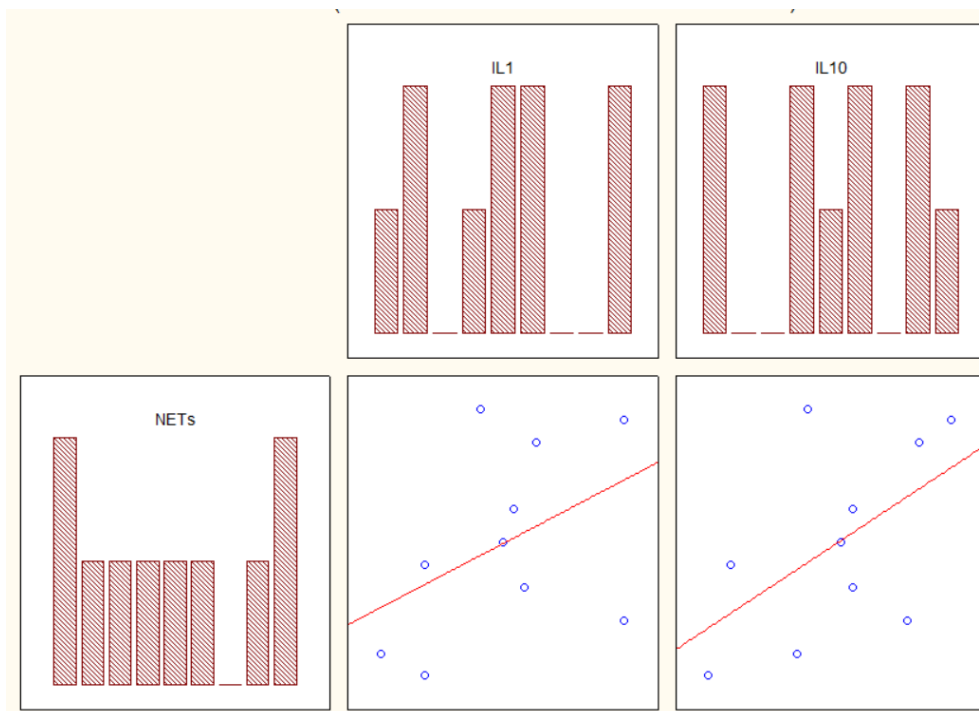


Рисунок 4.27. Кореляційні міжклітинні зв'язки при PsP: NETs та IL-10 ($r=0.54$) й NETs та IL-1 β ($r=0.44$).

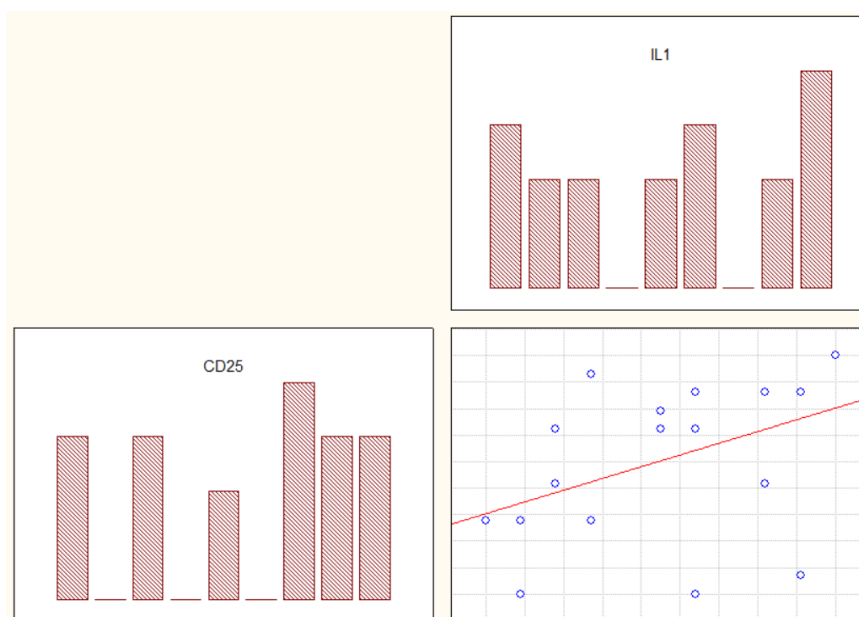


Рисунок 5.28. Середній прямий кореляційний зв'язок між IL-1 β та CD25 ($r=+0.43$) при IPsV.

Вміст Т-лімфоцитів з маркером диференціювання апоптозу CD95⁺, має прямий кореляційний зв'язок з рівнями IL-17 в сироватці, що свідчить про активацію запрограмованої смерті лімфоцитів при неконтрольованому запаленні у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії, особливо при PsP та PsG клінічних формах захворювання ($r=0,89$, $r=0,73$). Отримані результати показують середній ступень кореляційної значності CD95⁺ і рівнями IL17 при IPsV ($r=0,45$) та PsF ($r=0,48$) у сироватці крові (рис. 5.29).

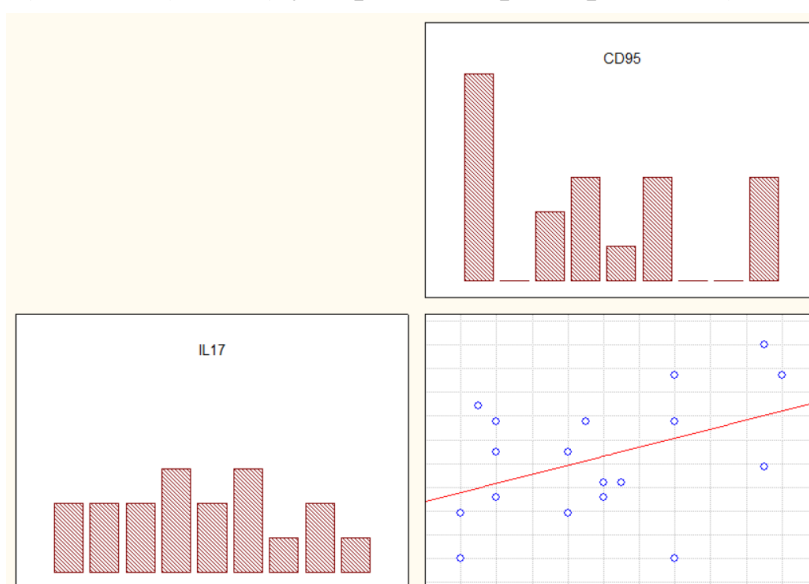


Рисунок 5.29. Прямий кореляційний зв'язок між IL-17 та CD95 при IPsV.

Значення вмісту IL-1 β в сироватці крові знаходяться у прямій кореляції ($r = +0.43$ рис.5.30) з частотою виникнення рецидивів при IPsV, в той же час виявлено сильні взаємозв'язки між концентрацією прозапального IL-1 β та протизапального цитокіну IL-10 при PsP (рис. 5.31).

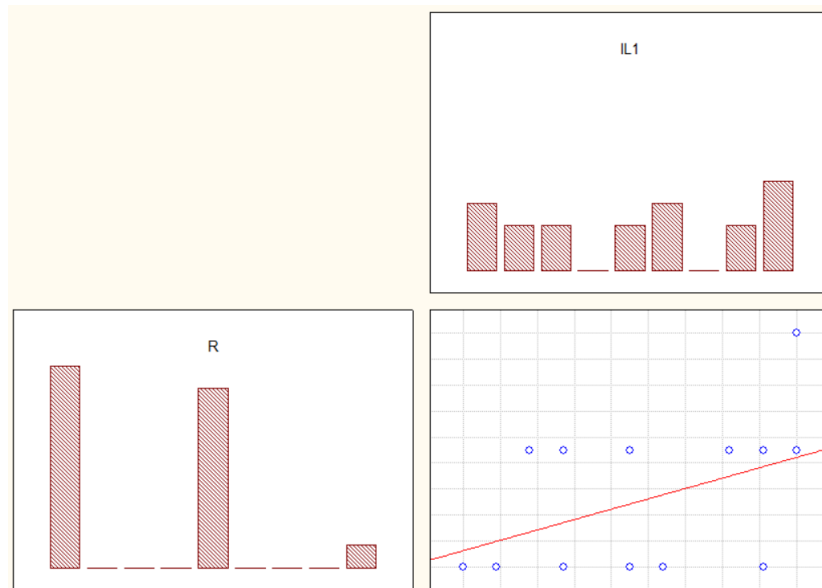


Рисунок 5.30. Середній прямий кореляційний зв'язок між IL-1 β та рецидивуванням псоріазу ($r = +0.43$) при IPsV.

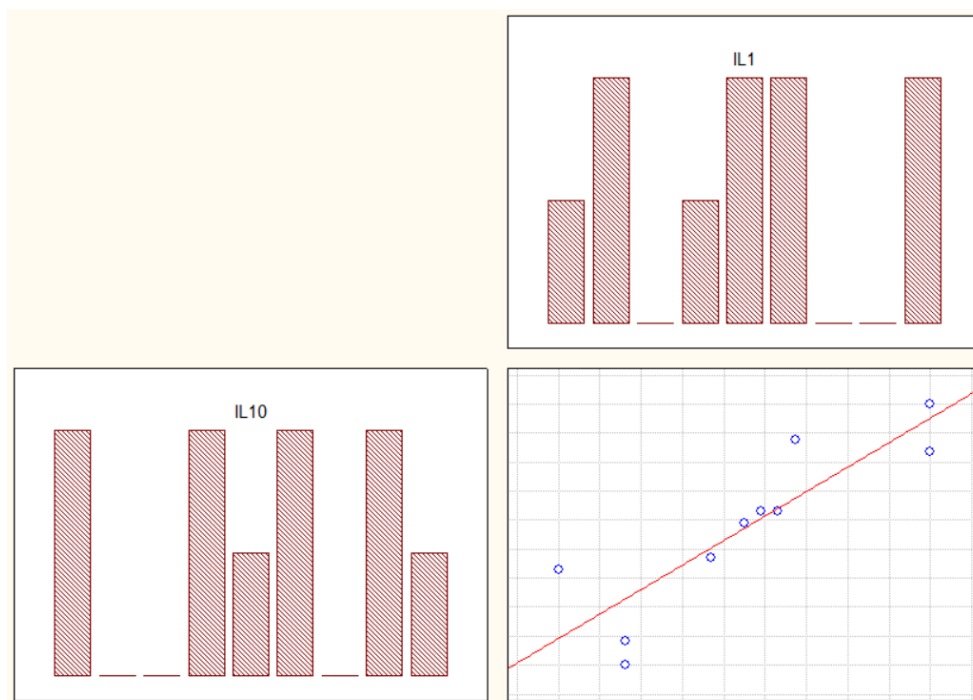


Рисунок 5.31. Кореляційний цитокіновий зв'язок між IL-10 та IL-1 β ($r = +0.87$) при PsP.

Показник інтенсивності фагоцитозу вмісту знаходяться у прямій кореляційній залежності від вмісту IL-17 ($r = +0.38$) при IPsV (рис. 5.32) та встановлено взаємозв'язки між IL17, фагоцитарним числом та біоплівкоутворенням при PsE (рис.5.33).

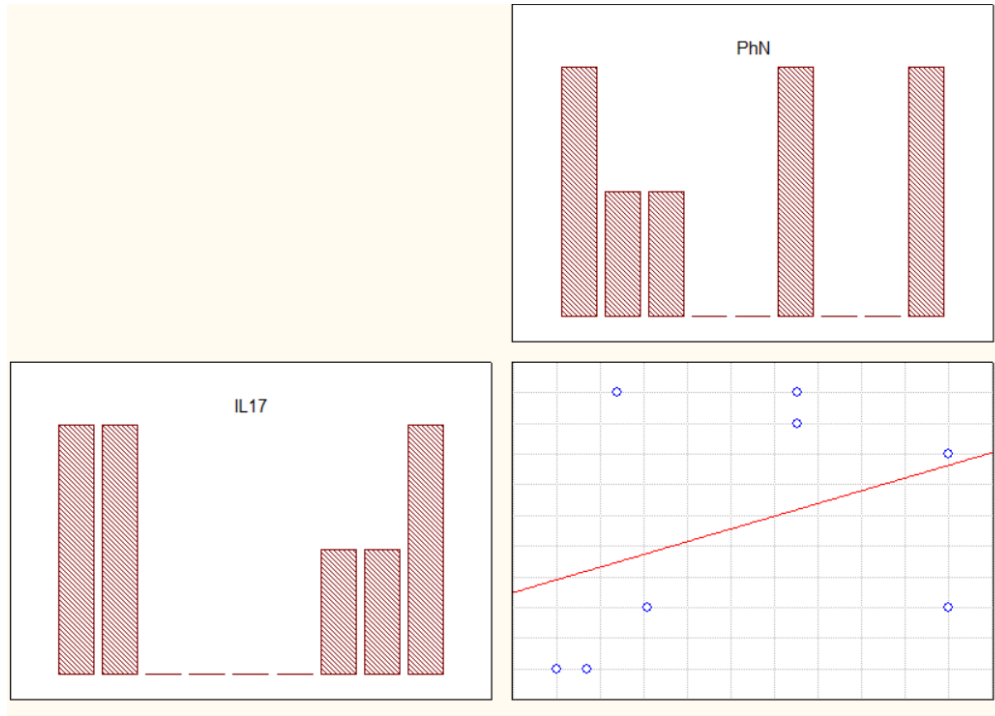


Рисунок 5.32. Середній прямий кореляційний зв'язок між IL-17 та інтенсивністю фагоцитозу ($r = +0.38$) при IPsV.

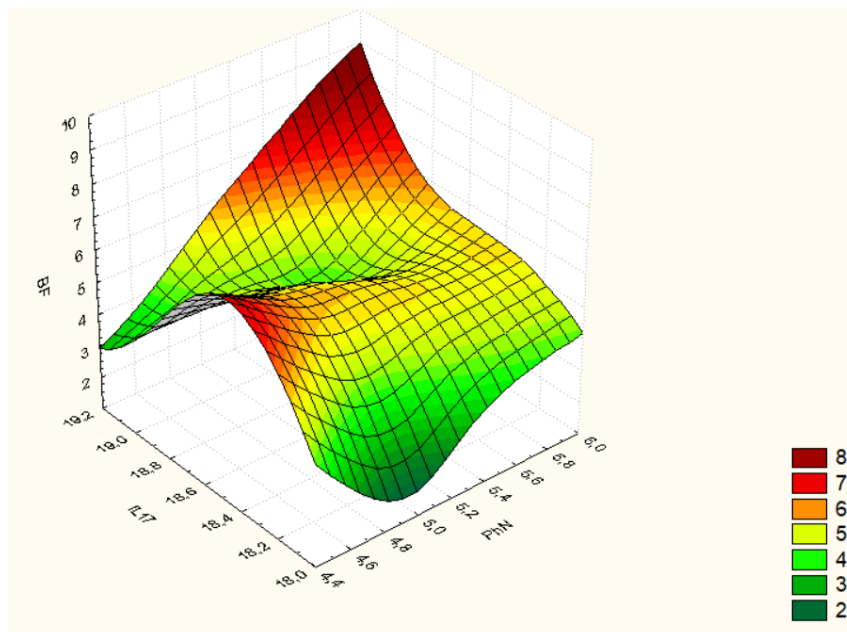


Рисунок 5.33. Взаємозв'язки між IL17, фагоцитарним числом та біоплівкоутворенням при PsE.

Значення імуноглобулінів класів А і G в сироватці знаходяться у зворотній кореляції з показником $CD8^+$, в той же час виявлено прямий помірний кореляційний зв'язок з концентрацією $CD25^+$ ($r=0,45$). Таким чином, оцінка результатів кореляційного аналізу дозволила обґрунтувати з позиції науково-доказової медицини висновки щодо характеру взаємозв'язків патологічних механізмів у ході імунних реакцій, виявлені особливості імунопатогенезу показують, що результатом імунозалежного запалення є виснаження і супресія цитотоксичних лімфоцитів на фоні активації Т-регуляторних клітин $CD4^+$ та $CD25^+$, здатних стримувати процес запалення і розвиток аутоімунного процесу клітинних факторів імунітету, а також характерна активація процесів апоптозу.

Результати дослідження фагоцитозу і нетозу не тільки дозволили оцінити активність процесів вродженої імунної відповіді, але і з'ясувати наявність тісного взаємозв'язку між здатністю формування NETs при псоріазі в прогресуючій стадії та рівнями апоптозу нейтрофілів при різних клінічних формах захворювання. Було встановлено статистично достовірні позитивні кореляції між кількістю антигенів в NETs та $CD95^+$ при PsP та PsG ($r=+0,84$ та $r=+0,78$; $p<0,05$); середні при PsE ($r=0,52$) та dPsV ($r=0,49$) й помірні при lPsV та PsF ($r=+0,39$; $p<0,05$).

Таким чином, показники клітинної ланки імунітету у хворих на псоріаз в періоді загострення хвороби характеризуються істотними відхиленнями від таких у здорових людей і полягають у зменшенні кількості Т-лімфоцитів, Т-супресорів і збільшенні Т-хелперів, показників активації аутоімунних процесів та апоптозу лімфоцитів. Отримані результати досліджень підтверджують існуючу думку, що супресорна Т-клітинна недостатність може розглядатися, як одна з провідних ланок патогенезу псоріатичний хвороби.

Своєчасна діагностика вкрай важлива, оскільки швидке призначення адекватної терапії може запобігти розвитку рецидивів та ускладнень. Тому на підставі проведених досліджень був розроблений діагностичний алгоритм (рис. 5.34).

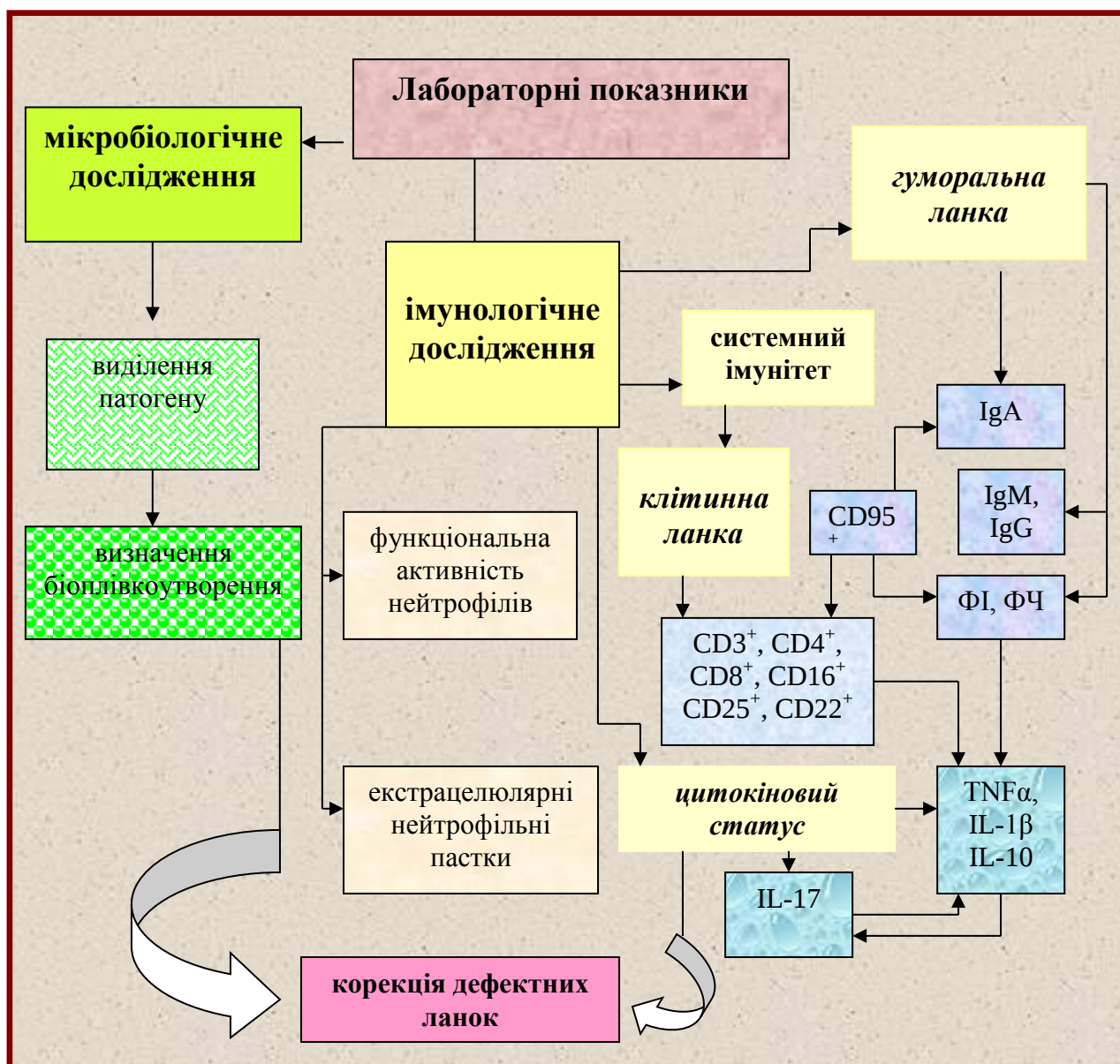


Рисунок 5.34. Алгоритм діагностичної тактики при псоріазі в прогресуючій стадії залежно від клінічної форми захворювання.

Отже, при псоріазі в прогресуючій стадії з метою оптимізації діагностичної тактики доцільним є виділення збудника, встановлення рівня біоплівкоутворення. З метою діагностики і оцінки імунного статусу доцільним є встановлення фагоцитарної активності нейтрофілів й функціональної активності екстрацелюлярних позаклітинних пасток, визначення показників клітинної ($CD3^+$, $CD8^+$, $CD4^+$, $CD22^+$, $CD25^+$, $CD95^+$) й

гуморальної ланок (IgA, IgM та IgG.) імунітету й цитокінового статусу (IL-10, IL-17 та IL-1 β /IL-10).

Висновки до розділу 5:

1. У прогресуючій стадії псоріазу визначаються істотні порушення імунного статусу, які полягають у зменшенні кількості CD3⁺, CD8⁺, збільшення вмісту в крові CD4⁺, CD22⁺, CD25⁺, CD95⁺. Виразність порушень в клітинній ланці імунітету залежить від клінічної форми.

2. Активація патологічного процесу у хворих на псоріаз характеризується змінами в гуморальній ланці імунітету, що виражається в гіперглобулінемії за рахунок, в основному, збільшення в сироватці крові концентрації імуноглобулінів IgA, IgM та IgG. Ступінь вираженості змін в гуморальній ланці імунітету залежить також від клінічної форми захворювання.

3. Супресорна недостатність Т-лімфоцитів і одночасне збільшення кількості CD25⁺ у хворих на псоріаз можуть свідчити про участь аутоімунних механізмів у розвитку і прогресуванні патологічного процесу.

4. Дисбаланс імунного статусу, який полягає в змінах параметрів показників клітинного та гуморального ланок імунітету є провідним патогенетичним механізмом розвитку і прогресування псоріатичної хвороби.

5. У пацієнтів з псоріазом у прогресуючій стадії відзначається достовірне підвищення концентрації прозапальних цитокінів: IL-1 β , IL-17 та TNF- α в сироватці крові при тяжкій формі захворювання в порівнянні з групою контролю, підвищується показник співвідношення про- та протизапальних цитокінів, що дозволяє розглядати показник співвідношення IL-1 β /IL-10 як діагностично значущий критерій тяжкості псоріазу.

6. Рівень протизапального IL-10 в сироватці крові у хворих на псоріаз був достовірно підвищений у пацієнтів з поширеною формою вульгарного псоріазу, з пустульозною, еритродермічною, ексудативною, краплеподібною клінічними формами псоріатичного процесу порівнянно з контрольною.

7. Вміст IL-17 у сироватці крові достовірно корелює з показниками: індексом PASI та показниками фактору патогенності мікроорганізмів – щільністю біоплівок, що підтверджує роль даного цитокіну в патогенезі псоріатичного процесу та свідчить про інформативність використання визначення рівня IL-17 в якості діагностичного критерію псоріатичного процесу.

8. Зростання в сироватці крові як прозапальних цитокінів IL-1 β , IL-17 та TNF- α , так й протизапального цитокіну IL-10 доцільно використовувати для оцінки тяжкості перебігу захворювання, прогнозу його розвитку, а також для патогенетичного обґрунтування призначення профілактичних засобів з метою запобігання рецидивування.

9. Таким чином, при аналізі рівнів сироваткових цитокінів у пацієнтів з псоріазом були отримані характерні дані, що узгоджуються з результатами спостереження інших досліджень, які свідчать про порушення цитокінового балансу, що найбільш відповідає Т-залежному імунзапальному процесу.

10. Комплексне дослідження показників цитокінового профілю у пацієнтів з псоріазом в прогресуючій стадії необхідно для своєчасного і правильного призначення профілактичних препаратів для запобігання рецидивів.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Pochernina V.V. Interleukin 6 and IP-10 in the pathogenesis of psoriasis. 8th International Scientific Interdisciplinary Conference for medical students and young doctors, Kharkiv National Medical University, may 14th – 15th, 2015/ Kharkiv. 2015. P. 234-235.

2. Почерніна В.В. Аналіз змін показників імунітету у хворих на псоріаз. *Медицина третього тисячоліття: матеріали міжвузівської конференції молодих вчених та студенті, Харків 20 січня 2015 р.: збірник тез ХНМУ*, 2015. - С. 339.

РОЗДІЛ 6

ХАРАКТЕРИСТИКА МІЖКЛІТИННИХ ВЗАЄМОЗВ'ЯЗКІВ TOLL-ПОДІБНИХ РЕЦЕПТОРІВ, VEGF, ПОКАЗНИКІВ ІМУННОГО ТА ЦИТОКІНОВОГО СТАТУСУ В ПАТОГЕНЕЗІ ПСОРІАЗА В ПРОГРЕСУЮЧІЙ СТАДІЇ ЗАЛЕЖНО ВІД КЛІНІЧНОЇ ФОРМИ ЗАХВОРЮВАННЯ

Актуальність встановлення міжклітинних зв'язків псоріазу вивченням імунопатогенезу псоріатичного ураження внаслідок колонізації шкіри мікроорганізмами, особливо при важких формах, таких як псоріатична еритродермія та пустульозний псоріаз.

Клініка і результат псоріазу багато в чому залежать від ступеня імунологічних порушень, дисбалансу цитокінової регуляції міжклітинних взаємодій та ступеня мікробного вегетування в організмі хворого. При псоріазі в прогресуючій стадії при всіх клінічних формах, але з різною силою інтенсивності, спостерігається активація клітин імунної системи ($CD3^+$, $CD4^+$, $CD16^+$, $CD22^+$, $CD25^+$, $CD95^+$) одночасно з пригніченням клітин-супресорів $CD8^+$, активована фагоцитарна ланка з підвищенням здатності до утворення NETs нейтрофілами, підвищення секреції цитокінового ряду IL-1 β , IL10, IL-17 та TNF α біологічно активних речовин. При цьому спостерігається висока концентрація імуноглобулінів.

Основу імунологічних порушень при псоріазі в прогресуючій стадії внаслідок колонізації шкіри мікроорганізмами становить активація клітинної імунної відповіді з провідною роллю Т-лімфоцитів. Ключовими міжклітинними зв'язками в каскаді взаємодій між показниками імунного, цитокінового стану, судинного фактору VEGF є експресія Toll-подібних рецепторів внаслідок активації факторами патогенності мікробіоти як ураженої, так й інтактної шкіри хворого на псоріаз в прогресуючій стадії внаслідок інфекційного захворювання. Тож, в результаті нашого дослідження були виявлені прямі міжклітинні взаємозв'язки при всіх клінічних формах

захворювання, але вони мали різну силу. Так, міжклітинні взаємозв'язки були встановлені між VEGF, TLR2 та TLR4, але найбільш сильні між TLR2 та VEGF (рис. 6.1).

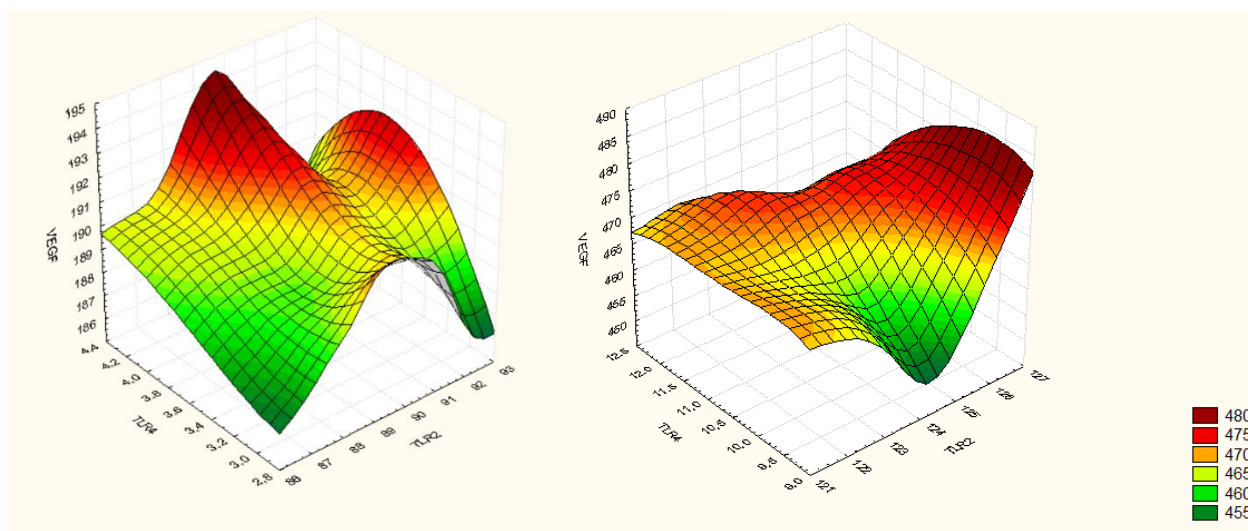


Рисунок 6.1. Взаємозв'язки між TLR2, TLR4 та VEGF при PsP та IPsV.

Також сильні міжклітинні взаємозв'язки були встановлені між TLR2 й TLR4 та кількістю антигенів в NETs, у відмінності від показника фагоцитарного числа, коли міжклітинні взаємозв'язки були середньої сили (рис.6.2).

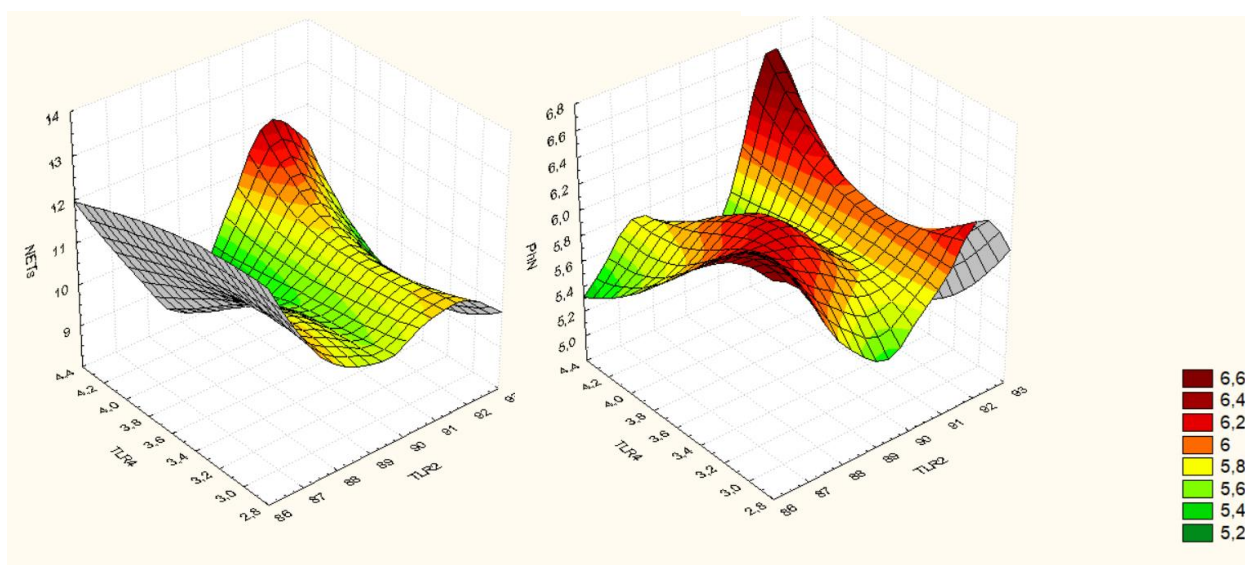


Рисунок 6.2. Взаємозв'язки між TLR2, TLR4 та NETs й PhN при PsP та PsE.

Результати статистичних досліджень, що описують взаємозв'язок кількісних ознак, свідчать про наявність численних міжклітинних цитокінових зв'язків з експресією TLR2 та TLR4 (рис.6.3).

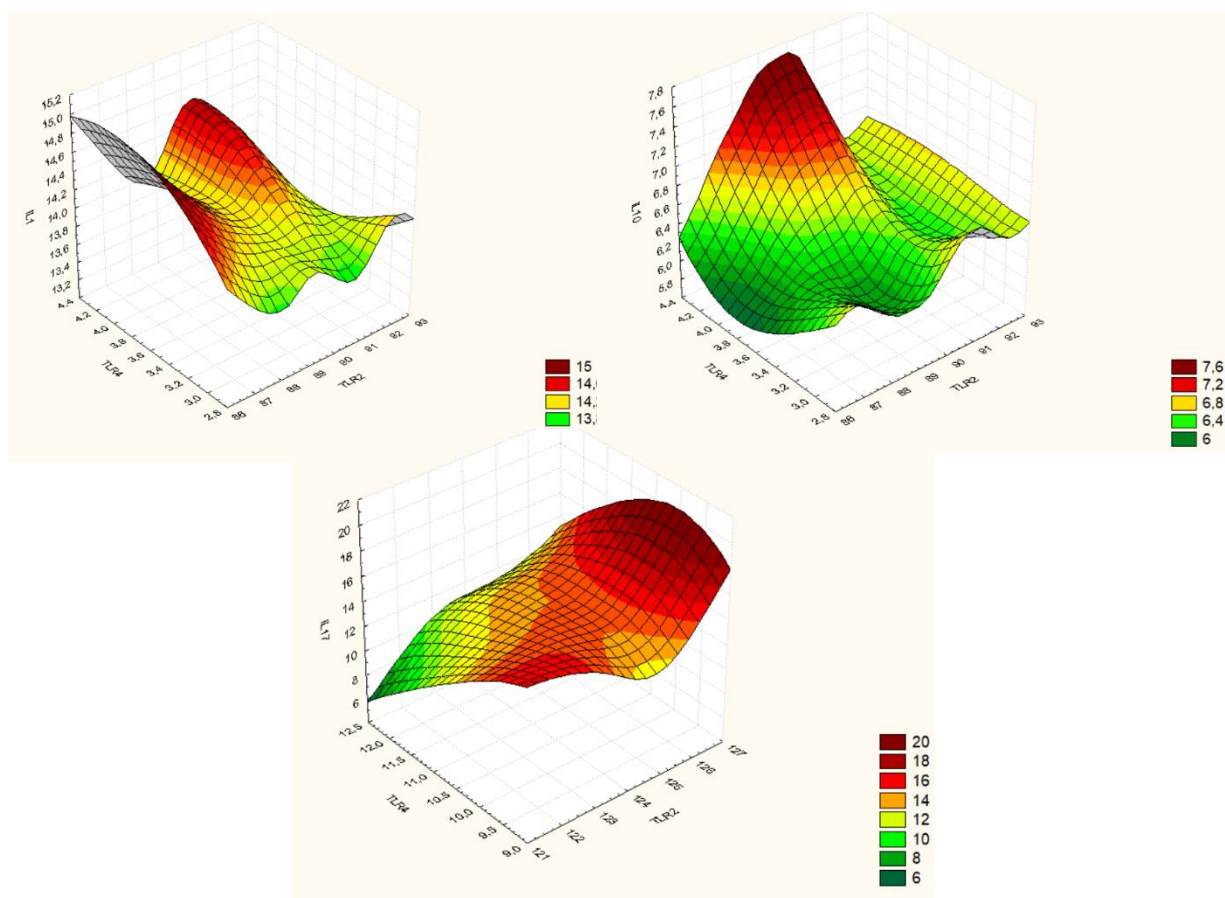


Рисунок 6.3. Взаємозв'язки між TLR2, TLR4 та IL-1 β , IL10, IL-17 при PsP та PsE.

Встановлено сильні міжклітинні взаємозв'язки між Toll-подібними рецепторами TLR2 й TLR4 типів та кількістю основними субпопуляціями Т-лімфоцитів: прямі з CD3⁺, CD4⁺, CD16⁺, CD22⁺, CD25⁺, CD95⁺ та зворотній з CD8⁺ (рис.6.4), що підтверджує тісну взаємодію всіх ланок імунної системи.

Також сильні взаємозв'язки були встановлені між експресією Toll-подібних рецепторів TLR2 й TLR4 типів та щільністю основного фактору патогенності мікробіому, частотою випадків рецидивів (рис.6.5), площею псоріатичного ураження шкіри й у підсумку – з інтегральним індексом PASI (рис.6.6).

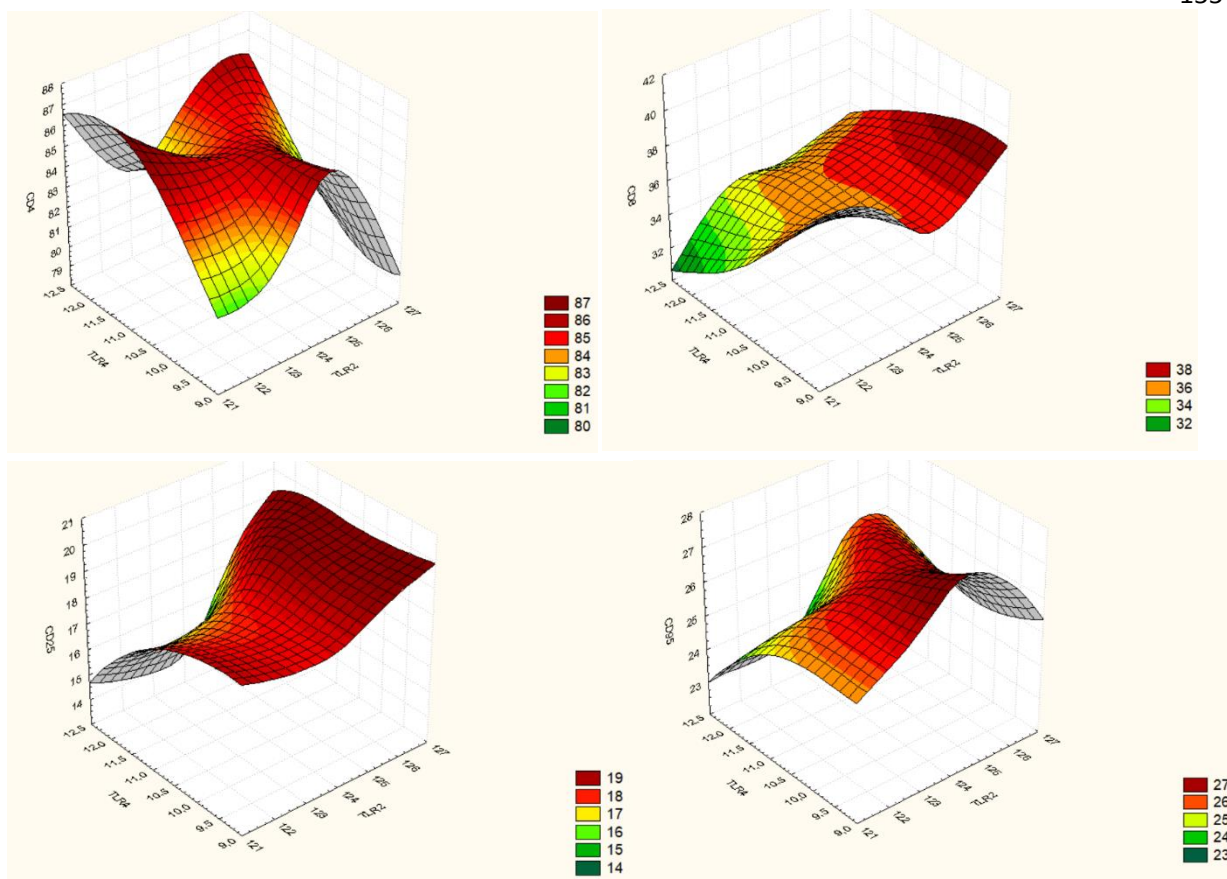


Рисунок 6.4. Взаємозв'язки між TLR2, TLR4 та основними субпопуляціями Т-лімфоцитами при PsP та PsE.

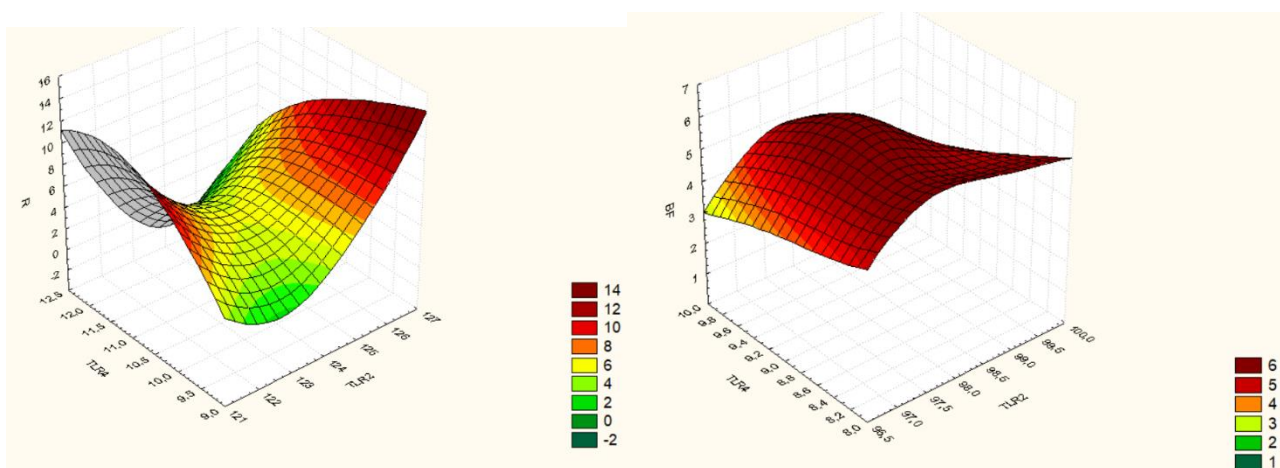


Рисунок 6.5. Взаємозв'язки між TLR2, TLR4 та щільністю основного фактору патогенності мікробіому, частотою випадків рецидивів при PsP та PsE.

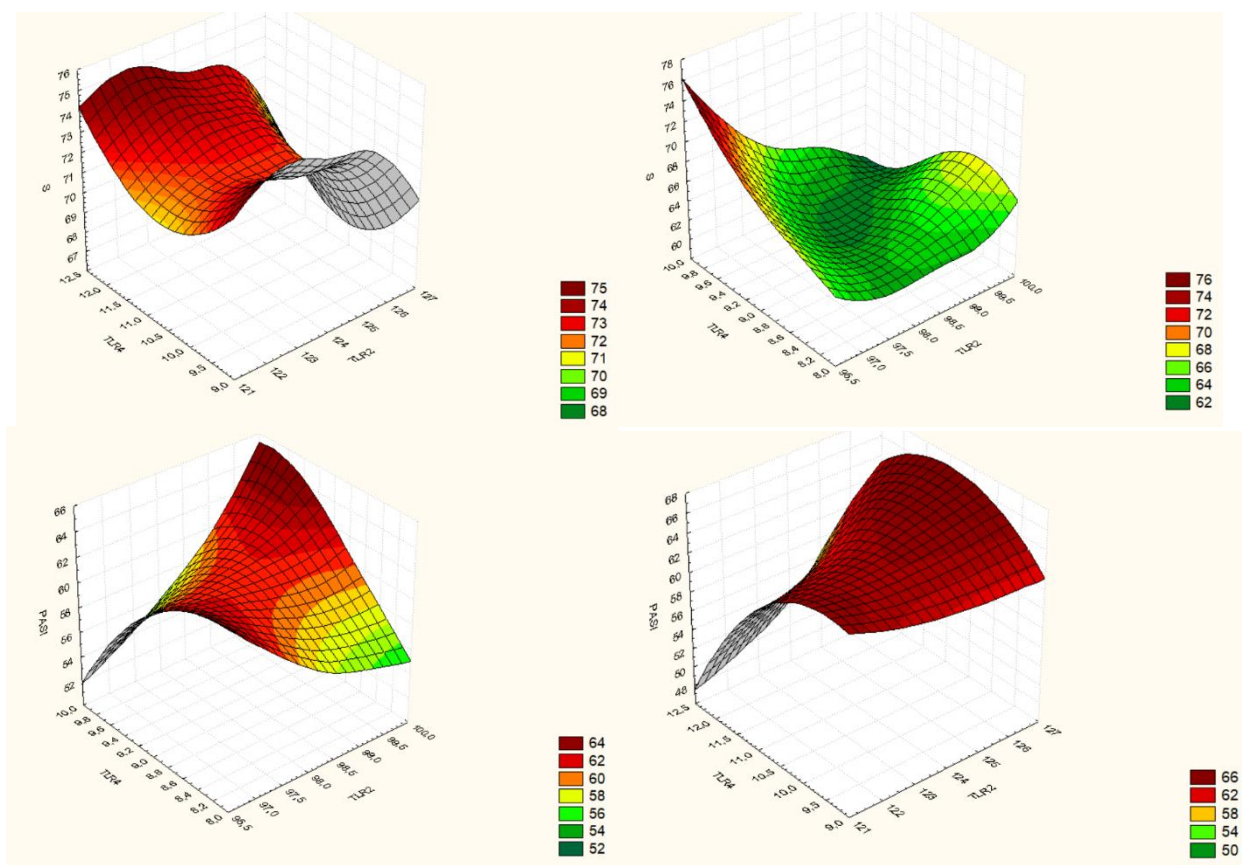


Рисунок 6.6. Взаємозв'язки між TLR2, TLR4 та площею псоріатичного ураження шкіри й індексом PASI при PsP та PsE.

Патогенетичний аналіз з встановленням ролі Toll-подібних рецепторів, VEGF-судинного ендотеліального фактору шляхом визначення кореляційних зв'язків показників імунного, цитокінового та мікробіологічного стану у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії залежно від клінічної форми захворювання дозволив розробити модель міжклітинних зв'язків (рис.6.7) та на підставі проведених досліджень з виявленням патогноманічних показників представлено графічну модель провідних діагностичних критеріїв, що включає комплекс експрес-лабораторних досліджень (рис. 6.8).

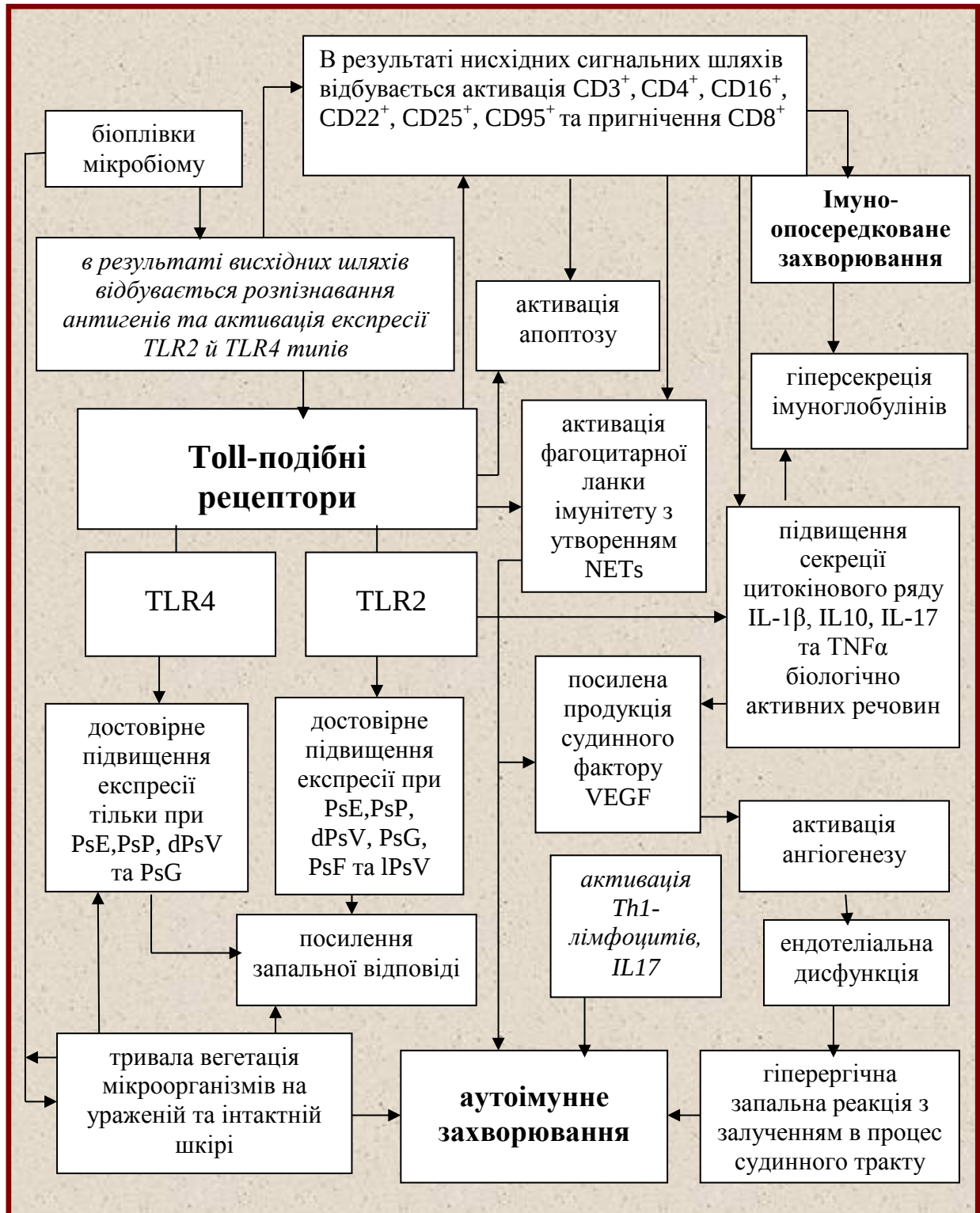


Рисунок 6.7. Модель міжклітинних зв'язків Toll-подібних рецепторів, VEGF судинного ендотеліального фактору показників імунного, цитокінового та мікробіологічного стану у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії залежно від клінічної форми захворювання.

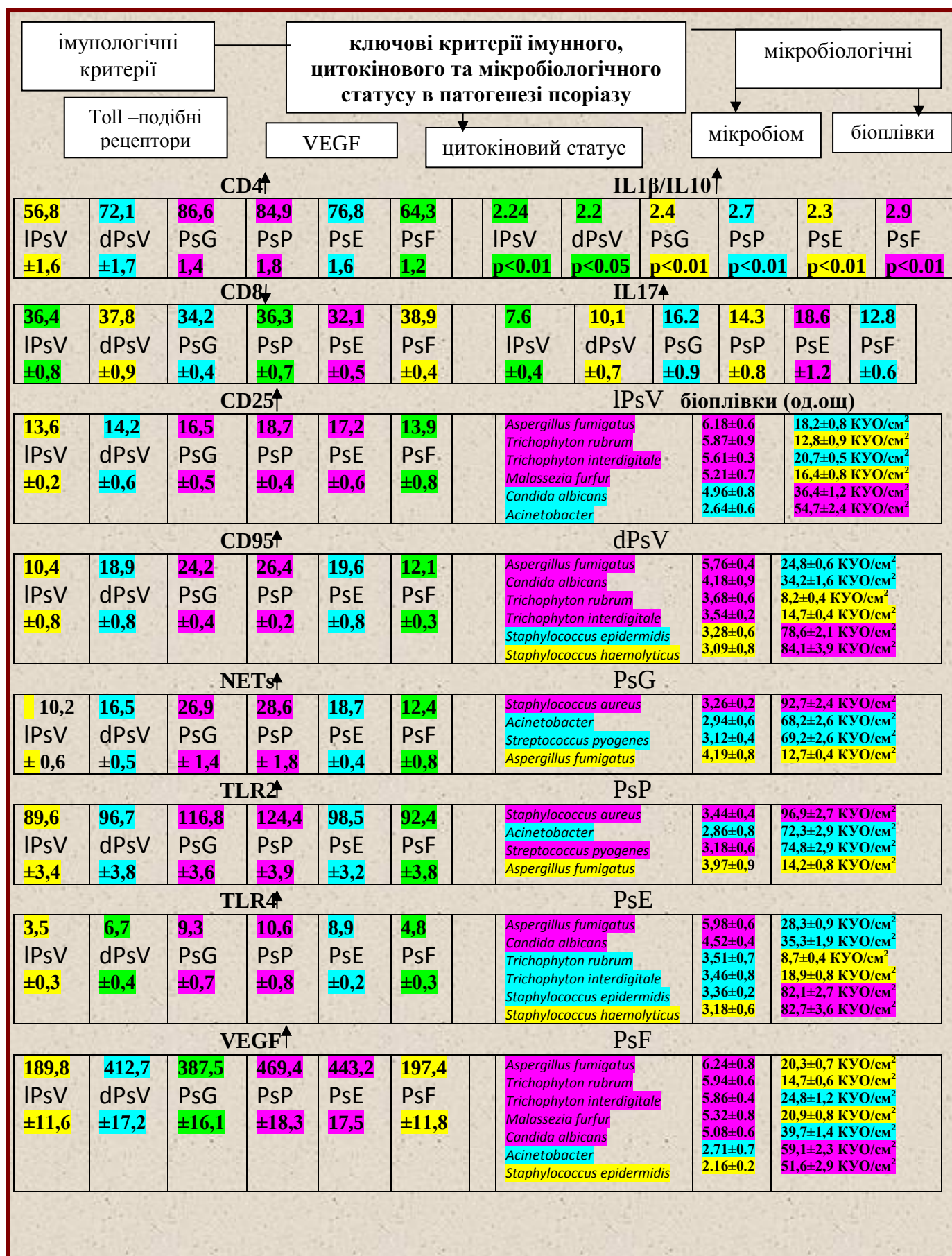


Рисунок 6.8. Графічна модель провідні діагностичних критеріїв.

Таким чином, запропонована модель псоріазу в прогресуючій стадії, в основі якої є активація Т-лімфоцитів-хелперів, провідну роль в процесі активації Т-лімфоцитів грає IL-17. Формування та прогресування псоріатичного запалення пов'язане в основному з гіперпродукцією, як прозапальних TNF α , IL-1 β , IL-17, так й протизапального інтерлейкіну IL10. Тож, істотне місце в патогенезі псоріаза належить дисбалансу прозапальних і протизапальних цитокінів. Т-лімфоцити продукують цитокін TNF α , що викликає клітинно-опосередковану імунну відповідь, що призводить до розвитку гуморальної імунної відповіді, з переважанням продукції імуноглобулінів та активацією клітинної ланки імунітету з підвищенням інтенсивності фагоцитозу та формуванням нейтрофільних позаклітинних пасток, а концептуальну роль в імунопатогенезі псоріазу відводиться Toll-подібним рецепторам та судинному ендотеліальному фактору. Таким чином, не можна пояснити імунопатогенез псоріазу активацією або пригніченням будь-якого одного компонента: імунним, цитокіновим або мікробним дисбалансом. В ході активації експресії Toll-подібних рецепторів відбувається регуляція міжклітинних взаємодій при псоріазі залежно від клінічної форми захворювання.

Висновки до розділу 6:

1. Експресія TLR2 і TLR4-позитивних клітин свідчить, що важливою ланкою в патогенезі псоріазу є стимуляція імунокомпетентних клітин, що призводить до розвитку запального процесу в організмі.
2. На підставі проведених досліджень з виявленням патогномонічних показників представлено модель провідні діагностичних критеріїв, що включає комплекс експрес-лабораторних досліджень.

РОЗДІЛ 7

АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

За останні роки в Україні спостерігається збільшення частоти випадків хронічних дерматозів, зокрема псоріазу, причини виникнення якого найкраще можна зрозуміти при мультифакторному підході, який визнає системні аспекти порушення. До тригерних факторів, що запускають псоріатичний процес, слід віднести і патогенний мікробний компонент, вивчення якого зараз є актуальним. Відсутність однозначної думки про причини і механізми реалізації патологічного процесу, різноманіття даних про мультифакторіальну концепцію розвитку різних клінічних форм псоріазу визначають широту спектру досліджень, які зараз є неоднозначними та, навіть, суперечливими.

Тому дисертація присвячена визначенню ролі ключових критеріїв, зокрема TLR2 і TLR4 типів та VEGF, в патогенезі псоріазу в прогресуючій стадії захворювання на підставі вивчення та оцінки стану адаптивного імунітету, цитокінового балансу та мікробіологічного статусу залежно від клінічної форми захворювання.

Основну групу досліджуваних складала 114 хворих на псоріаз в прогресуючій стадії, з них 76 чоловіків і 38 жінок, у віці 18-60 років, без наявності важкої соматичної або інфекційної патології, контрольну групу склали 10 осіб. У 15,8% хворих псоріатичний процес носив обмежений характер, у 84,2% – поширений. Хворі відзначали, що загострення зазвичай відбувається після інфекційного захворювання. Всі хворі на псоріаз в прогресуючій стадії були розподілені на 6 груп: 1 група – хворі з локалізованою вульгарною формою псоріазу (lPsV), 2 група – хворі з поширеною вульгарною формою псоріазу (dPsV), 3 група – хворі з каплеподібною формою псоріазу (PsG), 4 група – хворі з пустульозною формою псоріазу (PsP), 5 група – хворі з еритродермічною формою псоріазу (PsE) та хворі на інверсну форму псоріазу або псоріаз згинальних поверхонь

(PsF). Тож, основні клінічні форми псоріазу у обстежених пацієнтів - учасників дослідження були представлені у 65,8% випадків вульгарною формою, у 10,5% - краплеподібною, 7,9% - пустульозною, 7,0% - еритродермічною, інверсний був виявлений у 8,8%

Максимальне значення індексу PASI в групі хворих на псоріаз складає 64,1, мінімальне - 14,1. Зв'язок загострення псоріазу з порою року відзначено у 103 хворих. У 86 хворих (75,4%) зареєстровано загострення переважно в осінньо-зимовий період, у 17 хворих (14,9%) - у весняно-літній, від перебування на сонці таким хворим ставало гірше. У 11 хворих (9,7%) протягом останніх 3-5 років не відмічено зв'язку загострення процесу з сезонністю. Стаціонарна стадія виявлена у 18 хворих (15,8%) та у переважної більшості обстежених констатована прогресуюча стадія захворювання - 96 (84,2%). У дослідну групу входили пацієнти в прогресуючій стадії захворювання внаслідок інфекційного процесу без псоріазного артрити (n=96).

Поміж тригерних факторів виникнення або усугублення псоріатичного процесу одне з провідних місць посідає мікробіом шкіри. У зв'язку з недостатньою висвітленістю питання патогенетичної ролі мікробіоценозу шкіри при псоріазі в науковій літературі, було досліджено та виявлено провідні патогени з встановленням здатності формувати біоплівки, які є одним з основних факторів патогенності і вірулентності мікроорганізмів.

Відома роль стрептококової фокальної інфекції для виникнення краплеподібного і еритродермічного псоріазу. В ряді провідних досліджень [107, 111, 121] було показано, що основними β -стрептококовими антигенами, які провокують і підтримують хронічний псоріаз є BSP-антигени (*β -Streptococci Proteins*) – стрептококові оболонкові і мембранні білки. В роботі [108, 137] показано, що має місце посилена шкірна імунна реакція на стрептококові білки. Ці дослідження проводилися у Великобританії [112] і були спрямовані на точне

визначення BSP, що провокують початок і підтримку хронічного псоріатичного процесу, причому сформульовані три варіанти патогенезу псоріазу: перший заснований на присутності в шкірі BSP, другий - на поєднанні присутності BSP і перехресно-реактивної аутоантигенної детермінанти і третій - виключно на присутності аутоантигенної детермінанти.

Результати роботи при тривалому перебігу псоріазу свідчать на користь виникнення аутоантитіл до фібробластів, однак при тривалості захворювання менше 1 року аутоантитіла були виявлені лише у 7%, тож фахівці вважають, що для ініціації і розвитку псоріатичного процесу BSP антигенний варіант найбільш ймовірним.

Однак залишається відкритим питання про причини присутності BSP в шкірі після припинення фокальної бактеріальної інфекції або в тих випадках, коли такої інфекції не було. Тому спробою відповісти хоча і частково на це питання було вивчено склад мікробіому шкіри у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії при різних клінічних формах захворювання, щільність обсіменіння мікроорганізмами, як ураженої псоріатичним процесом шкіри, так й інтактної, визначення фактору патогенності провідних мікроорганізмів для включення результатів дослідження у модель патогенезу псоріазу.

При вивченні мікрофлори з різних біотопів шкіри у пацієнтів з псоріазом в прогресуючій стадії зазначалося більш виражене мікробне забруднення на всіх досліджуваних уражених псоріатичним процесом ділянках порівняно з особами контрольної групи.

Серед виділених мікроорганізмів найбільшу кількість займали коагулазонегативні стафілококи, стрептококи і мікрококи та умовно-патогенні гриби. Було встановлено, що домінуючими видами мікробіоти шкіри хворих на псоріаз в прогресуючій стадії є грампозитивні коки: *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus capitis*, *Streptococcus viridans*,

Streptococcus pyogenes, *Acinetobacter spp.* та гриби: *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Trichophyton interdigitale*, порівняно з контрольною групою, в якій дані мікроорганізми до складу домінуючих видів не відносилися, але показники сталості, що були розраховані на підставі частоти виявлення мікроорганізмів на уражених ділянках шкіри хворих, відрізнялися у групах з різним клінічним перебігом.

Так, показник сталості для *Staphylococcus epidermidis* є досить високим у пацієнтів з IPsV, dPsV, PsE та PsF (84,9%, 98,4%, 92,6% та 86,7% відповідно) порівняно з контролем. Звертає на себе увагу показник сталості *Staphylococcus aureus* – у пацієнтів з PsG він збільшився у 3,2 рази, а при PsP – у 3,3 рази, причому *Staphylococcus aureus* у групі контролю відносився до додаткової категорії мікроорганізмів, що входять у склад мікробіоценозу шкіри. Спостереження виявили значне підвищення показника сталості *Acinetobacter spp.* у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії з PsP у 10 разів, PsG – у 9,8 рази, PsF – у 8,3 рази, IPsV – у 7,7 рази, dPsV та PsE – у 6 разів.

Досить цікавий факт вегетування умовно-патогенних та патогенних грибів на шкірі хворих на псоріаз в прогресуючій стадії: високим показник сталості був для *Aspergillus fumigatus*, *Trichophyton interdigitale*, *Trichophyton rubrum*, *Malassezia furfur*, які найчастіше висівалися при PsV, PsE та PsF та не входили у склад нормофлори шкіри людини. Для *Candida albicans* показник сталості був підвищеним при всіх клінічних формах псоріазу в прогресуючій стадії, але більші значення його були у хворих з PsV, PsF та PsE.

За кількісним і якісним складом мікрофлори шкіри обстежених осіб було проведено аналіз мікрофлори шкіри, як на уражених, так й на інтактних ділянках шкіри та встановлено, що ступінь обсіменіння мікроорганізмами на уражених ділянках шкіри варіюється в широких межах: середня щільність колонізації уражених ділянок шкіри хворих на псоріаз в прогресуючій стадії *Staphylococcus aureus* була найбільша при PsP – $96,9 \pm 2,7$ КУО/см² та при PsG – $92,7 \pm 2,4$ КУО/см². Трохи менша щільність колонізації *Staphylococcus*

aureus була при PsE – $84,8 \pm 2,1$ КУО/см², dPsV – $80,4 \pm 2,6$ КУО/см², PsF – $71,2 \pm 1,8$ КУО/см² та lPsV – $66,9 \pm 1,4$ КУО/см², що перевищувало аналогічні показники інтактних ділянок цих хворих у 4 рази. При цьому в результаті кореляційного аналізу встановлено, що щільність колонізації уражених ділянок шкіри *S. aureus*, знаходилися в прямому взаємозв'язку з щільністю колонізації *Streptococcus pyogenes* (PsP – $74,8 \pm 2,9$ КУО/см² та при PsG – $69,2 \pm 2,6$ КУО/см²) цих ділянок. Так, найбільш частий представник нормофлори *S. epidermidis* висівався в кількості $78,6 \pm 2,1$ КОЕ/см² при dPsV та $82,1 \pm 2,7$ КУО/см² при PsE (на інтактних ділянках – $24,6 \pm 0,4$ КУО/см² та $26,9 \pm 0,8$ КУО/см² відповідно). Одним з провідних мікроорганізмів у складі мікрофлори шкіри хворих на псоріаз в прогресуючій стадії при PsG ($68,2 \pm 2,6$ КУО/см²), PsP ($72,3 \pm 2,9$ КУО/см²), lPsV ($54,7 \pm 2,4$ КУО/см²) та PsF ($59,1 \pm 2,3$ КУО/см²) визначено *Acinetobacter spp.* Особливої уваги заслуговує частота виявлення *Candida albicans* у мікробіоценозі уражених ділянок шкіри при псоріазі в прогресуючій стадії незалежно від клінічної форми захворювання. За отриманими результатами найбільша щільність колонізації *Aspergillus fumigatus* на уражених ділянках шкіри була встановлена при dPsV ($24,8 \pm 0,6$ КУО/см²) та PsE ($28,3 \pm 0,9$ КУО/см²), що значно перевищувала аналогічні показники на інтактних ділянках ($1,9 \pm 0,3$ КУО/см² та $2,6 \pm 0,8$ КУО/см² відповідно, $p < 0,01$).

Слід зазначити високу частоту виділення *Staphylococcus warneri* в найбільшій кількості при dPsV – $56,1 \pm 3,4$ КУО/см² та PsP – $54,6 \pm 3,2$ КУО/см² на уражених ділянках шкіри. На шкірі обстежених осіб виявлялися також умовно-патогенні та патогенні гриби роду *Trichophyton interdigitale*, *Trichophyton rubrum* та *Malassezia furfur*.

На інтактних ділянках шкіри також спостерігаються зміни складу мікробіоценозу в порівнянні з контрольною групою - загальна забрудненість *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus haemolyticus* та *Staphylococcus aureus*. Бактерії роду *Acinetobacter* значно більше колонізували інтактні ділянки шкіри, і їх

щільність на інтактних ділянках склала при PsG ($22,8 \pm 1,9$ КУО/см²), PsP ($26,3 \pm 1,7$ КУО/см²), IPsV ($16,9 \pm 1,2$ КУО/см²) та PsF ($18,6 \pm 1,4$ КУО/см²) $p < 0,01$. На чистих ділянках шкіри не були виявлені дріжджоподібні гриби роду *Candida* та гриби *Aspergillus fumigatus* при PsG та PsP, *Trichophyton interdigitale*, *Trichophyton rubrum* та *Malassezia furfur* при PsG, PsP, PsE та dPsV в прогресуючій стадії.

Тож, склад мікробіоти шкіри при псоріазі в прогресуючій стадії незалежно від клінічної форми захворювання зазнає значних змін і структурні перебудови в бік збільшення числа представників транзиторної мікрофлори. Нормальна мікрофлора шкіри замінюються додатковими видами, переважаючими серед яких є бактерії родини стафілококів. Значна частка при цьому належить золотистому стафілококу. Відзначається зростання обсіменіння не тільки уражених ділянок шкіри, але і видимих здорових ділянок.

У природних умовах представники мікробної флори шкіри знаходяться в вигляді спільнот - біоплівки, які є структурованими спільнотами [78, 103]. При утворенні біоплівки формується специфічний біоплівковий фенотип, в результаті чого у клітин з'являються особливі властивості, відмінні від властивостей клітин того ж штаму в планктонній формі. В результаті біоплівка набуває фактично властивості багатоклітинного організму, що має певний набір антигенів, і є вже доведеним, що здатністю до формування біоплівки володіють виключно мікроорганізми, що здатні викликати патологічний процес, тобто біоплівка є основним фактором патогенності мікроорганізмів [14, 92]. Тож, вивчення біоплівки є одним з необхідних досліджень мікробіома людини, оскільки він багато в чому визначає стан і функціонування ряду систем організму людини, а в разі утворення біоплівки патогенних мікроорганізмів - хронічних інфекцій, зокрема псоріазу, що важко піддається лікуванню. Встановлено, що провідні мікроорганізми, які були ізольовані з ураженої ділянки від хворих на псоріаз в прогресуючій стадії

були здатні формувати щільні біоплівки, які за добу були здатні утворювати отвори, діаметром від 2 мкм до 22 мкм й продукувати планктонні клітини, які дисемінують на інтактну шкіру, що сприяє розповсюдженню та хронізації псоріатичного процесу.

Проведені дані узгоджуються з багатьма роботами, в яких досліджується здатність мікроорганізмів утворювати біоплівки [103, 145], але про вивчення даного фактору патогенності при псоріазі в прогресуючій стадії залежно від клінічної форми захворювання у відкритій літературі не було жодного повідомлення, тож такі дослідження були проведені вперше.

Дані мікробіологічні спостереження не суперечать дослідженням європейських фахівців [74], які вивчали мікрофлору кишечника [224] й стверджували, що первинною по відношенню до шкірних проявів псоріазу є підвищена проникність кишечника для білків мікроорганізмів, наші дослідження є продовженням вивчення продукції основного фактору патогенності мікроорганізмів, але вже при вегетації їх на шкірі хворих на псоріаз.

Імунопатогенезу псоріазу присвячено багато робіт [15, 87, 182]. До недавнього часу псоріаз розглядався виключно як патологія шкіри, а супутні імунологічні порушення вважалися вторинними. Сьогодні точка зору змінилася, псоріаз розглядається як Т-залежне аутоімунне захворювання, а імунологічним порушенням відводиться пріоритетна роль в його патогенезі [240].

В результаті вивчення загального стану імунітету організму у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії встановлено достовірне підвищення кількості лімфоцитів у периферичній крові виявлено зсув лейкоцитарної формули вліво з переважанням паличкоядерних нейтрофілів: загальна кількість лейкоцитів була достовірно вищою за контрольні величини у хворих з PsP, PsE та dPsV ($p < 0,001$). У хворих з lPsV, PsG та PsF кількість лейкоцитів мала тенденцію до збільшення.

При аналізі основних показників клітинної ланки імунітету у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії порівнянно з контрольною групою, незалежно від клінічної форми захворювання, виявлені однотипні статистично значущі зміни: збільшення вмісту субпопуляцій CD3⁺, CD4⁺, CD16⁺, CD25⁺, CD95⁺- лімфоцитів та тенденція до зниження CD8⁺ порівняно з контрольними значеннями, відмічається збільшення кількості В-лімфоцитів CD22⁺, що є ключовими рецепторами, які модулюють проходження сигналу під час антигенної стимуляції.

Вивчення стану лімфоцитів в периферичній крові встановило, що у хворих на псоріаз рівень Т-лімфоцитів, які містять на поверхні своєї мембрани рецептори CD95⁺, значно перевищує контрольне значення, що свідчить про активацію запрограмованої загибелі лімфоцитів. Відповідно, посилення апоптозу призводить до подальших глибоких змін з дисбалансом у всіх ланках імунної системи. У той же час виявлено збільшення рівня імунорегуляторних CD4⁺ й CD25⁺ лімфоцитів в периферичній крові у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії, що може вказувати на розвиток аутоімунного запалення. Таким чином, процеси активації апоптозу при вираженій Т-клітинній активності є важливим патогенетичним аспектом при псоріазі.

У хворих на псоріаз в прогресуючій стадії хвороби при lPsV, PsG та PsF реєструється тенденція до збільшення в крові кількості В-лімфоцитів (CD22⁺), а при PsE, PsP та dPsV - кількість В-лімфоцитів достовірно вище контрольних показників ($p < 0,05$). З огляду на те, що стан гуморальної ланки імунітету є одним з важливих показників імунного статусу, проведено дослідження вмісту в сироватці крові імуноглобулінів у хворих на псоріаз в періоді загострення хвороби. Встановлено клінічні відмінності імуноглобулінів залежно від клінічної форми псоріазу: у хворих на PsP, PsE та dPsV достовірно збільшувався в сироватці крові рівень сироваткового IgA ($p < 0,01$); а у хворих з PsF, PsG та lPsV вміст в сироватці крові IgA мав тенденцію до збільшення, IgM

при PsP був значно підвищеним. У всіх хворих на псоріаз незалежно від клінічної форми рівень IgG достовірно збільшений ($p < 0,001$).

Одним з найважливіших досягнень останнього десятиліття стало відкриття утворення нейтрофільних позаклітинних пасток (NETs), які залучені до імунного захисту та аутоімунітету і тепер пов'язують нейтрофіли з патогенезом різних захворювань, в тому числі й дерматологічного значення [188]. Відомо, що нейтрофіли відіграють вирішальну роль у розвитку псоріазу, але мало відомо про здатність нейтрофілів формувати NETs при псоріазі. Тому необхідні подальші дослідження для кращого з'ясування ролі нейтрофілів та основних механізмів в патогенезі псоріазу.

Порівнюючи фагоцитарну активність незмінених нейтрофілів та ефективність уловлювання антигенів в нейтрофільних позаклітинних пастках було встановлено, що інтенсивність фагоцитозу у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії відрізняється при різних клінічних формах перебігу захворювання.

Так, зафіксовано, що при низькій ефективності фагоцитозу показник кількості антигенів в NETs є максимальним: при PsP ефективність уловлювання антигенів в NETs збільшується у 7,3 рази, а при PsG – у 6,4 рази порівняно з аналогічними показниками при інших клінічних формах псоріазу: при 1 PsV – кількість антигенів в NETs підвищується у 1,7 рази; dPsV – у 2,7 рази; PsE – у 3,6 рази, PsF – у 2,2 рази

Аналізуючи отримані результати встановлено, що інтенсивність фагоцитозу й вміст антигенів в NETs був підвищений порівняно з контрольними значеннями, але зафіксовано, що при досить низьких значеннях ФЧ відбувається підвищення ефективності роботи NETs – вони затримують більшу кількість антигенів. Феномен утворення NETs при запальних захворюваннях було досліджено групою вчених під керівництвом Долгушина І.І. [31]. Ними було виявлено механізм утворення нейтрофільних позаклітинних пасток та фактори, що стимулюють вихід ДНК нейтрофілів в позаклітинне середовище, а також їх роль в захисних реакціях. Авторами

було розроблено та представлено оригінальні експрес-методи оцінки вмісту і антимікробної активності екстрацелюлярних пасток, утворених нейтрофілами в периферичній крові і мукозальних секретах. Ними представлені методи оцінки функціонального статусу нейтрофілів, нормативні показники стану нейтрофільної ланки периферичної крові і мукозальних секретів. Але ж вони не вивчали здатність утворення NETs при псоріатичному процесі та формування NETs за дії мікробіому шкіри, що відображено в наших дослідженнях. Таким чином, мікробні та немікробні агенти стимулюють утворення екстрацелюлярних пасток, які здатні до формування після реалізації біологічної програми нейтрофілів, тобто після їх загибелі шляхом некрозу або апоптозу, а дисрегульоване формування NETs може спричинити аутоімунні захворювання, зокрема псоріаз.

Отримані результати дослідження в цілому підтверджуються даними наукової вітчизняної та зарубіжної літератури, в яких висвітлюються питання імуногенезу псоріазу, зокрема закордонними дослідниками було встановлено, що у хворих на псоріаз NETs стимулюють епідерміс до вивільнення запальних цитокінів [223], а різні екзогенні та ендогенні фактори ініціюють імунну реакцію, що включає дисбаланс Т-клітин, проліферацію кератиноцитів та утворення аутоантигенів.

Секреторний інгібітор протеази лейкоцитів, компонент NET з інгібуючою функцією щодо формування NET може зв'язуватися до ДНК та при псоріатичних ураженнях шкіри активують інтерферони, які регулюють аутоімунітет при псоріазі [191, 247]. Наші результати узгоджуються з цими дослідженнями та доповнюють їх інформативність за визначенням кількості антигенів в NETs порівняно з інтенсивністю фагоцитозу. Таким чином, NETs відводиться важлива роль у патофізіології псоріазу через їх зв'язок між вродженою та адаптивною імунною системою.

За останні роки пріоритетним напрямком стало вивчення цитокінового профілю у хворих на псоріаз, тому що саме цитокінам відводиться одна з ключових ролей у розвитку даного захворювання [177]. Результати сучасних

досліджень, що стосуються продукції і ролі ключових про- і протизапальних цитокінів (TNF- α , IL-1 β , IL-10, IL-17 та ін.) при псоріазі суперечливі. Якщо в псоріатичній ділянці встановлено підвищений вміст прозапальних цитокінів, то дані про вміст та баланс про- і протизапальних цитокінів в периферичній крові залишаються досить неоднозначними [184]. Ряд робіт вказує на переважання рівня прозапальних цитокінів і щодо низької експресії протизапальних цитокінів [57, 58], що передбачає недостатню протирегулюючу здатність імунної системи [44, 87]. Інші автори висловлюють думку про відносну антизапальну поляризацію цитокінового спектра з переважанням IL-10 при цьому захворюванні [67, 99, 144].

Для оцінки стану цитокінового профілю було визначено рівні прозапальних цитокінів IL-1 β , IL-17 та TNF- α і протизапального IL-10, виявлено статистично достовірне підвищення їх вмісту в крові хворих на псоріаз ($p < 0,01$) при всіх клінічних формах.

Однак, слід зазначити, що найбільш високі показники прозапальних цитокінів були виявлені в крові хворих з тяжким перебігом псоріазу: при PsE рівні IL-1 β та IL-17 підвищувалися у 7 разів, TNF- α – у 2,1 рази; при PsP рівень IL-1 β був підвищений у 6,1 рази, IL-17 - у 5,4 рази, а TNF- α – у 2 рази; при PsG - вміст IL-1 β був підвищений у 6,4 рази, IL-17 - у 6,2 рази, TNF- α – у 2,1 рази; при PsF рівень IL-1 β підвищувався у 5,7 рази, IL-17 - у 4,9 рази, TNF- α – у 1,7 рази; при d PsV рівні IL-1 β підвищувалися у 3,9 рази, IL-17 - у 3,8 рази, TNF- α – у 1,7 рази, а при l PsV рівні IL-1 β були підвищені у 3,1 рази, IL-17 - у 2,9 рази, а TNF- α мав тенденцію до підвищення – у 1,4 рази, тож вміст прозапальних цитокінів при всіх клінічних формах псоріазу в прогресуючій стадії був підвищеним, однак найбільші показники значення цитокінів визначено при PsE, PsP та PsG клінічних формах захворювання порівняно з аналогічними показниками групи контролю ($p < 0,01$). Причому показники цитокінового профілю зростали зі збільшенням площі і вираженості запальних змін. Слід зазначити, що у хворих з важкими формами псоріазу (PsE, PsP, PsG, PsF, dPsV) вміст IL-1 β , IL-17 та TNF- α в

сироватці крові достовірно вище ($p < 0,01$), ніж у хворих на локалізовану форму вульгарного псоріазу (IPsV), що може свідчити про більш виражений прозапальний зсув імунорегуляторних процесів і активацію запалення при важких клінічних формах псоріазу. Отримані дані підтримують думку ряду дослідників, які вказують на переважання при псоріазі рівня прозапальних цитокінів в периферичній крові і порушення імунорегуляторних процесів із зсувом в сторону Th-1 ланки імунного відповіді.

При дослідженні протизапального цитокіну IL-10, що володіє доведеною антипсоріатичною дією [177], встановлено його достовірне підвищення у хворих з тяжким перебігом псоріатичного процесу (PsE, PsP, PsG, PsF, dPsV). У пацієнтів IPsV групи вміст IL-10 мав лише тенденцію до підвищення в порівнянні з контрольною групою, що також свідчить про порушення імунорегуляторних процесів із зсувом у бік Th-1 ланки імунної відповіді з активацією запалення при важких формах псоріазу, розвитку порушення регуляторної здатності імунної системи.

Характерною особливістю імунологічних змін у хворих на псоріаз стало порушення співвідношень вмісту IL-1 β до IL-10: так у хворих PsE показник співвідношення IL-1 β /IL-10 підвищився у 2,1 рази, PsG - у 2,2 рази, PsV (IPsV та dPsV) – у 2 рази, але найбільше збільшення цього показника спостерігалось у хворих на PsP (у 2,7 рази) та PsF (у 2,6 рази) в порівнянні з показником контрольної групи.

Натепер встановлено, що в патогенезі псоріазу ключову роль відіграє IL-17. У роботах деяких дослідників встановлено достовірне збільшення даного цитокіну в сироватці крові у хворих на псоріаз.

При цьому виявлена здатність IL-17 активувати експресію IL-1 β , який в свою чергу володіє деструктивним потенціалом в запальному процесі [113, 183], що призводить до тканинного ремоделювання та стимуляції гранулопоезу [35]. IL-17 запускає тканинні реакції, що призводять до міграції нейтрофілів в зону запалення. Аналізуючи результати дослідження, встановлено достовірно більш високий вміст IL-17 в сироватці крові всіх

хворих на псоріаз в прогресуючій стадії порівняно з контролем ($p < 0,01$).

Встановлена кореляція рівня IL-17 й величини PASI підтверджує значення даного цитокіну в сироватці крові хворих на псоріаз в прогресуючій стадії з тяжким перебігом. Враховуючи виражену прозапальну активність IL-17, здатність індукувати синтез різних медіаторів запалення і сприяти розвитку аутоімунних патологічних реакцій, з метою визначення показників ранньої діагностики було встановлено, що IL-17 може бути додатковим критерієм діагностики захворювання.

Незважаючи на безперечний факт, що активовані Т-клітини мають вирішальне значення для розвитку і персистенції псоріатичного ураження, патофізіологія захворювання не може бути пояснена виключно роллю Т-лімфоцитів. Точна послідовність подій, які призводять до ініціації каскаду механізмів виникнення та перебігу псоріазу, залишається невідомою, але ідентифікація ранніх діагностичних критеріїв і ролі, яку відіграють медіатори запалення та фактори росту, може надати нові дані щодо визначення підходів для профілактики і контролю псоріазу.

Дослідження останніх років, які присвячені динаміці прогресування псоріазу, показали, що одним з найважливіших факторів патогенезу є несбалансована васкуляризація [104]. Найменш вивченою функцією ендотелію при псоріазі є регуляція росту судин, що здійснюється за допомогою ростових факторів, синтез яких різко посилюється при активації ендотелію.

Одним із потужних промоторів ангіогенезу є васкулоендотеліальний фактор росту (VEGF) [202]. Marina ME, Roman II, Constantin AM, et al. вважають, що псоріаз є ангіогенезо-залежним захворюванням, так як активність Т-лімфоцитів призводить до вираженого розширення капілярів ушкодженої шкіри [192]. Припускають, що пошкоджена шкіра при псоріазі містить кілька механізмів виникнення ангіогенезу, які можуть діяти синергічно, автори показали, що епідерміс є головним джерелом

проангіогенних факторів - цитокінів, в тому числі й трансформуючого фактору росту й [104].

Важлива роль ангіогенезу в розвитку псоріазу вказує на перспективність подальшого вивчення цього процесу і ролі VEGF в патогенезі псоріазу. В результаті проведеного дослідження було встановлено, що рівень VEGF в сироватці крові хворих на вульгарний псоріаз складав $189,8 \pm 11,6$ (l PsV) та $412,6 \pm 17,2$ пг/мл (d PsV), найбільш високі показники VEGF були визначені при PsP – $469,4 \pm 18,3$ пг/мл та PsE - $443,2 \pm 17,5$ пг/мл, ($p < 0,01$ порівняно з групою контролю). Проведені дослідження виявили суттєве підвищення рівня VEGF у крові хворих на PsG, dPsV, PsE та PsP в прогресуючій стадії відповідно у 2 рази, 2,4 рази, у 2,5 рази та у 2,7 рази порівняно з контрольними значеннями. Тенденцію до підвищення мали показники VEGF при PsF та lPsV. Звертає на себе увагу той факт, що різке підвищення вмісту VEGF спостерігається у крові пацієнтів з тяжким псоріазом.

Аналіз вмісту VEGF залежно від частоти рецидивів псоріазу виявив істотне підвищення рівня VEGF у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії, рецидивування захворювання у яких відбувалося частіше двох разів на рік відносно аналогічного при рецидивах 1-2 рази за рік ($p < 0,01$), що можна пояснити тим, що синтезований в ушкодженій шкірі VEGF поступає у системний кровотік і впливає на проникність мікросудин усього організму [163], тому рівень VEGF у пацієнтів з тяжким псоріазом і частими рецидивами може бути одним з прогностичних критеріїв несприятливого перебігу захворювання.

Визначено позитивний кореляційний зв'язок у хворих на псоріаз в прогресуючій стадії рівня VEGF при PsP, PsE, PsG та d PsV з частотою рецидивів та площею ураження псоріатичним процесом шкіри ($r = +0,78$ та $r = +0,82$ відповідно).

Наші результати дослідження узгоджуються з роботами іноземних фахівців [166, 202, 221] та доповнюють наукові дані щодо значення впливу

VEGF в крові хворих на псоріаз в прогресуючій стадії на активацію клітинної ланки імунітету та цитокінового каскаду при тяжких формах псоріазу, а саме: PsE, PsP, dPsV та PsG. Тож, підвищення вмісту VEGF в крові хворих на псоріаз в прогресуючій стадії достовірно при PsE, PsP, dPsV та PsG свідчить про активний патологічний ангиогенез та ендотеліальну дисфункцію, що можна оцінити як відповідь на неадекватне утворення в ендотелії біологічно активних речовин.

При визначенні ролі Toll-подібних рецепторів (TLR), які характеризуються як рецептори розпізнавання пускових екзогенних факторів виникнення псоріазу, які здатні активувати різні типи імунних клітин, було встановлено, що рівень експресії TLR2 та TLR4 при різних клінічних формах псоріазу в прогресуючій стадії відрізнявся, а саме: мала місце тенденція до підвищення експресії TLR4 на лімфоцитах при PsF ($4,8 \pm 0,31$ mfi) та майже не відрізнялася від контрольних значень ($3,3 \pm 0,26$ mfi) при lPsV ($3,5 \pm 0,29$ mfi).

Встановлено достовірне підвищення експресії TLR4 при інших клінічних формах перебігу псоріазу в прогресуючій стадії: при PsP рівень експресії TLR4 був збільшений у 3,2 рази, при PsG – у 2,8 рази, при PsE – у 2,7 рази, при dPsV – у 2 рази порівняно з контролем. При визначенні експресії TLR2 на лімфоцитах було встановлено, що рівень її достовірно перевищив аналогічні показники контрольної групи: при PsP та PsG - у 2 рази, PsE – у 1,6 рази, dPsV – у 2 рази, PsF та lPsV – у 1,5 рази.

Результати дослідження можна пояснити тим, що TLR2 та TLR4 активуються факторами патогенності мікроорганізмів, які вегетують, як на уражених, так й на інтактних ділянках шкіри хворих на псоріаз в прогресуючій стадії захворювання, їх експресія підвищується за дії прозапальних цитокінів.

Незначне збільшення експресії TLR4 при lPsV та PsF можливо пов'язано з надмірною стимуляцією Toll-рецепторів екзогенними лігандами до початку або в дебюті захворювання і розвитком стану рефрактерності TLR в подальшому розвитку захворювання і в ряді випадків є захисною

реакцією від гіперергічного запалення, за даними літератури [133, 219, 241] носить транзиторний характер. У випадках PsP, PsE, PsG, dPsV спостерігалось достовірне посилення експресії TLR2 та TLR4 на лімфоцитах, що свідчить про гіперергічну запальну реакцію з залученням в процес судинного ендотелію. Тож, зростання експресії 2 та 4 типів Toll-рецепторів на лімфоцитах свідчить про активність аутоімунного процесу. У зарубіжній літературі наводяться численні відомості про наявність різних TLRs на кератиноцитах різних шарів епідермісу здорових осіб: на думку E. James кератиноцити шкіри здорових осіб експресують TLR1, TLR2, TLR4 і TLR5 [170]. A. Pivarsci було встановлено наявність TLR2 і TLR4 у всіх шарах епідермісу шкіри здорових осіб [210]. У дослідженнях M. Mempel і співавт. показано, що культура первинних кератиноцитів здорової людини виробляє TLR1, TLR2, TLR3, TLR5 і TLR9. У той же час TLR4, TLR6, TLR7 і TLR8 в цій же культурі не були виявлені [196]. J. Cury та співавт. виявили зменшення експресії TLR5 на кератиноцитах базального шару епідермісу ураженої шкіри хворих на псоріаз в порівнянні з шкірою здорових осіб [135]. Тож, існує багато досліджень, які ілюструють роботу Toll-подібних рецепторів саме в шкірі хворих на псоріаз і дуже мало робіт, де висвітлено роль TLR системно. Наші дослідження доповнюють дослідження закордонних вчених, які вивчали зміну експресії TLR2 на лімфоцитах та у шкірі при псоріазі, асоційованому з стрептококовою інфекцією [248], в нашому дослідженні вивчався рівень експресії TLR2 та TLR4 при різних клінічних формах псоріазу з вегетуванням змішаної мікрофлори, як на ушкодженій, так й на інтактній шкірі хворих на псоріаз в прогресуючій стадії.

Отримані нами результати щодо визначення провідних патогенетичних критеріїв у виникненні псоріазу внаслідок інфекційного процесу та зміни мікробіоценозу тіла людини узгоджуються з даними колективу авторів, які спостерігали динаміку показників вродженого та адаптивного імунітету при порушенні мікробіоценозу кишечника [45, 69].

На підставі проведених нами досліджень, аналітичного огляду результатів новітніх досліджень патогенезу псоріазу провідними фахівцями світу, систематизованих даних про взаємозв'язок мікробіому і загальної імунної реакції при псоріазі, ролі TLR та VEGF в патогенезі псоріазу прогресуючої стадії було обґрунтовано модель патогенезу псоріазу в прогресуючій стадії внаслідок інфекційного захворювання, яка заснована на припущенні про вирішальну роль 5 факторів - підвищеної вегетації мікроорганізмів на шкірі, як ураженої, так й інтактної ділянок шкіри; утворення щільних біоплівки провідними мікроорганізмами, які здатні продукувати планктонні клітини й поширювати та ускладнювати перебіг псоріазу; активація системної імунної відповіді з продукцією прозапальних цитокінів; формування NETs з активацією апоптичних лімфоцитів разом з патологічним ангиогенезом та ендотеліальною дисфункцією. Ключова роль відводиться TLR2 та TLR4, які залучені в патогенез псоріазу шляхом детекції патогенів з подальшою ініціацією каскаду реакцій імунної системи: активація цитокінового каскаду (через IL-1 β , IL-10, IL17, TNF- α), адаптивного імунітету (через фагоцитоз й формування NETs), апоптозу клітин (CD95+), VEGF.

Саме ці фактори відіграють головну роль в розробленій нами моделі патогенезу псоріазу, де пусковим фактором є мікробний (рис. 7.1).

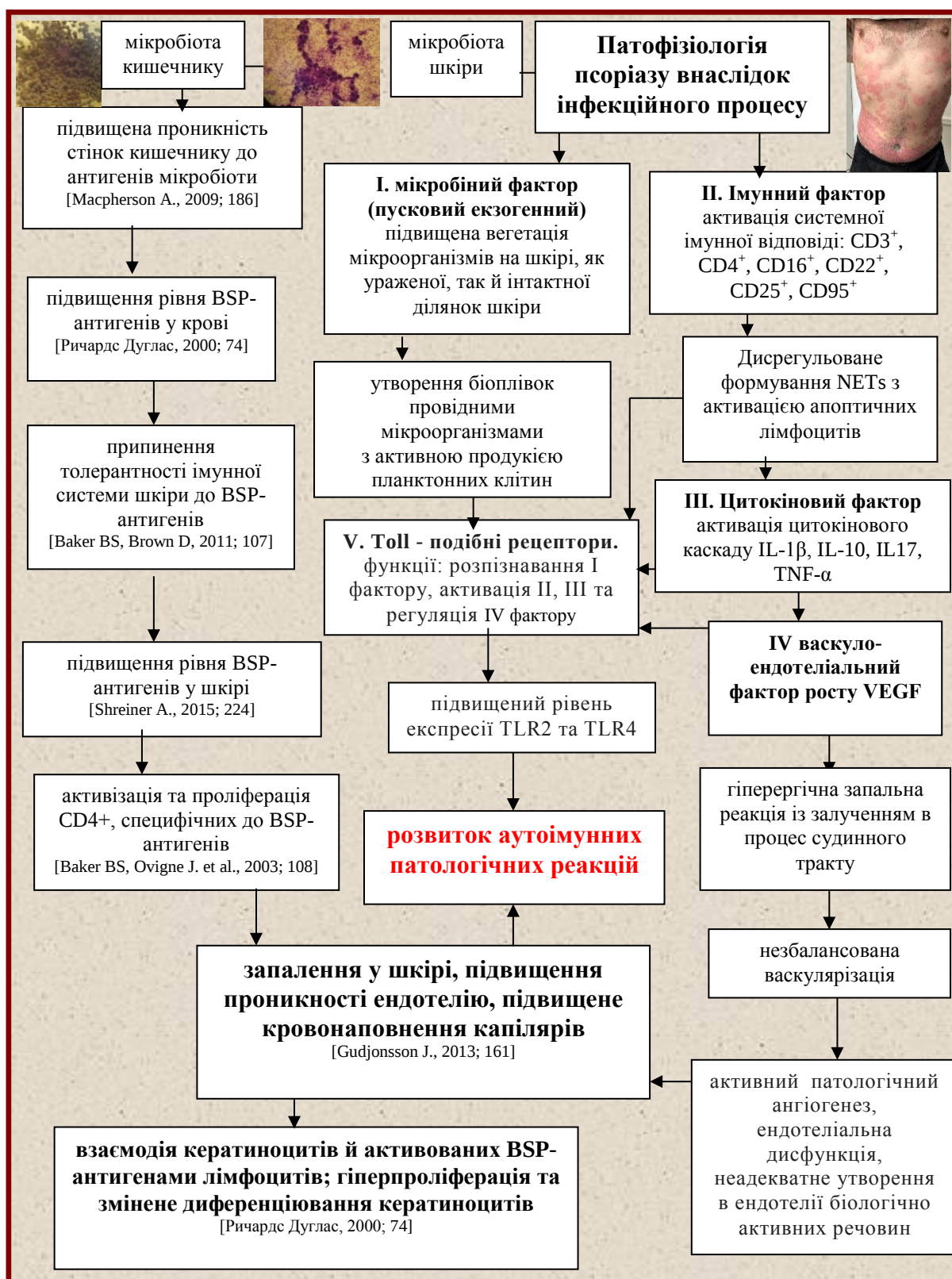


Рисунок 7.1. Взаємодія ключових факторів в моделі патогенезу псоріазу в прогресуючій стадії внаслідок інфекційного захворювання.

Комплексне дослідження показників імунного стану, цитокінового профілю, васкулоендотеліального фактору (VEGF), мікробіоценозу шкіри, з визначенням провідних критеріїв, що беруть участь у регуляції патологічних процесів - Toll-подібних рецепторів (TLR2 та TLR4) у пацієнтів з псоріазом в прогресуючій стадії необхідно для своєчасного і правильного визначення пускового фактору виникнення захворювання та призначення профілактичних препаратів для запобігання рецидивів.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та вирішення актуального науково-практичного завдання, що полягає в визначенні патогенетичної ролі Toll-подібних рецепторів 2 та 4 типів та VEGF-судинного ендотеліального фактора росту при псоріазі в прогресуючій стадії захворювання на підставі вивчення та оцінки стану імунної резистентності організму, цитокінового балансу та мікробіологічного статусу залежно від клінічної форми дерматозу.

1. Визначено структуру мікробіоценозу шкіри хворих на псоріаз в прогресуючій стадії залежно від клінічної форми захворювання. Показано, що домінуючими видами при PsF та lPsV є гриби роду *Aspergillus*, *Trichophyton interdigitale*, *Malassezia furfur*, *Candida albicans* та бактерії *Staphylococcus epidermidis*, *Acinetobacter spp.*; при PsE та dPsV – грампозитивні коки *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus* та гриби *Aspergillus fumigatus* й *Candida albicans*, при PsP та PsG переважають бактерії - *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter* та *Streptococcus pyogenes*. Доведено здатність до біоплівкоутворення у провідних мікроорганізмів при псоріазі в прогресуючій стадії залежно від клінічної форми захворювання: при PsE та dPsV – щільні переважно бактеріально-грибкові, при PsP та PsG – переважно бактеріальні, при PsF та lPsV – переважно грибково-бактеріальні.

2. При псоріазі в прогресуючій стадії виявлено достовірне збільшення експресії TLR4 на лімфоцитах периферичної крові при PsE, PsP, dPsV, PsG, а при PsF та lPsV рівень експресії TLR4 на лімфоцитах майже не відрізнявся від аналогічного показника контрольної групи. Рівень TLR2 був достовірно вищим за показник контрольної групи при всіх клінічних формах псоріазу в прогресуючій стадії ($p < 0,01$).

3. Встановлено збільшення вмісту VEGF у сироватці крові хворих на псоріаз в прогресуючій стадії при PsE, PsP, d PsV та PsG від 2 до 2,7 разів. Виявлено корелятивні зв'язки між VEGF та частотою рецидивів й площею уражених ділянок, що свідчить про діагностичне значення вмісту VEGF при псоріазі.

4. Встановлено дисбаланс імунного статусу, що полягає в змінах клітинної (зменшення кількості $CD8^+$ й збільшення $CD3^+$, $CD4^+$, $CD16^+$, $CD22^+$, $CD25^+$, $CD95^+$) та гуморальної ланок імунітету (гіперімуноглобілінемія), що є провідними патогенетичними механізмами розвитку і прогресування псоріазу. Вираженість порушень імунітету залежить від клінічної форми захворювання. Показано, що за дії мікробних чинників активність формування NETs підвищується від 1,7 (при IPsV) до 7,3 (при PsP) рази, що запобігає дисемінації антигену на здорові ділянці шкіри. Встановлено, що дисрегуляція утворення NETs є однією з причин виникнення аутоімунного патологічного процесу при псоріазі в прогресуючій стадії. Виявлено супресорну недостатність Т-лімфоцитів ($CD8^+$), активацію регуляторних $CD25^+$, апоптичних лімфоцитів ($CD95^+$) і одночасне збільшення NETs у хворих на псоріаз.

5. У пацієнтів з псоріазом у прогресуючій стадії відзначено достовірне збільшення в сироватці крові рфвня прозапальних цитокінів: IL-1 β , IL-17 та TNF- α та протизапального IL-10 з підвищенням показника співвідношення IL-1 β /IL-10, що дозволяє розглядати як діагностично значущий критерій тяжкості перебігу псоріазу. Вміст IL-17 у сироватці крові достовірно корелює з показниками: індексом PASI та показниками фактору патогенності мікроорганізмів – щільністю біоплівки, що підтверджує роль даного цитокіну в патогенезі псоріатичного процесу та свідчить про інформативність використання визначення рівня IL-17 в якості діагностичного критерію псоріатичного процесу.

6. Розроблено модель патогенезу псоріазу в прогресуючій стадії внаслідок інфекційного захворювання, яка заснована на припущенні про вирішальну роль 5 факторів: I - мікробного фактору, що є екзогенним

пусковим, II - імунного фактору з інтегральними показниками CD4+, CD8+, CD25+, CD95+ та NETs, III - цитокінового фактора з ключовим IL17 та співвідношенням IL-1 β /IL-10, IV - VEGF та V - Toll-подібних рецепторів з провідними TLR2 та TLR4) та основними функціями: розпізнавання I фактору, активація II, III та регуляція IV фактору.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

З метою контролю клініко-лабораторної ефективності профілактики виникнення рецидивів та можливого розвитку побічних явищ з ускладненнями рекомендується:

1. Визначення мікробіоценозу уражених та інтактних ділянок шкіри пацієнтів з псоріазом;
2. Встановлення здатності провідних мікроорганізмів до біоплівкоутворення з визначенням продукції планктонних клітин;
3. Проведення моніторингу показників імунної системи за співвідношення основних популяцій та субпопуляцій лімфоцитів периферичної крові ($CD4^+$, $CD8^+$, $CD25^+$, $CD95^+$), рівнем цитокінів ($IL-1\beta/IL-10$ та $IL17$);
4. Визначення рівнів васкуло-ендотеліального фактору росту VEGF та TLR2 та TLR4 типів Toll - подібних рецепторів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Аймен Аббуд. Гендерные различия состояния иммунного статуса у больных псориазом. Сучасні медичні технології. 2016; 1:19-23.
2. Алкаммаз А.М., Степаненко Р.Л. Показники ліпідного обміну у хворих на псориаз з осінньо-зимовим, весняно-літнім і позасезонним (змішаним) типами перебігу та їхнє значення для патогенезу дерматозу. Український журнал дерматології венерології косметології. 2018; 2: 25-37.
3. Алкаммаз А.М., Степаненко Р.Л. Ліпідний обмін у шкірі хворих на псориаз та перспективи вивчення значення його порушень у патогенезі дерматозу. Український журнал дерматології венерології косметології. 2019; 2: 93-98.
4. Александрова Ю. Н. О системе цитокинов. Педиатрия. 2007; 86 (3): 124-127.
5. Алиева Л.Т., Борисенко А.В., Курченко А.И. Изучение функциональной активности моноклеаров периферической крови по продукции цитокинов (IL-10, TNF-альфа и IFN-гамма) под воздействием стафилококкового токсина (SEB) в условиях *in vitro* у больных псориазом с генерализованным пародонтитом. Імунологія та алергологія. 2010; 3(4): 76–80.
6. Асцатуров Г.Є. Клініко-імунологічне обґрунтування диференційованого підходу до комплексного лікування хворих на псориаз: авторферат дис. ... канд. мед. наук: 14.01.20, Львів. нац. мед. ун-т ім. Д. Галицького МОЗ України, Нац. мед. ун-т ім. О. О. Богмольця. 2013, 19 с.
7. Бабич Є.М., Калініченко С.В., Скляр М.І., Мироненко Л.Г., Перетятко О.Г., Рижкова Т.А. Приготування суспензій мікроорганізмів із визначеною концентрацією мікробних клітин. Лабораторна діагностика. 2007; 3 (41): 58-61.

8. Бакулев А.Л. Псориаз: клинико-эпидемиологические особенности и вопросы терапии. Вестник дерматологии и венерологии. 2018; 94 (3): 67 – 76.
9. Белозоров А. П. Аутовоспалительные механизмы, связанные с кератиноцитами, и их роль в патогенезе пустулезных поражений кожи. Аутовоспалительные болезни кератинизации (обзор литературы). Дерматологія та венерологія. 2018; 3: 8-11.
10. Береговая А.А. Комплексный подход медикаментозной коррекции нарушений состояния эрго-и трофотропной систем при псориазе. Дерматологія та венерологія. 2016; 2: 48-55.
11. Білько І.П. Вимоги до взяття та доставки матеріалу для мікробіологічних досліджень. Сучасні інфекції. 2001; 3: 106–109.
12. Біловол А.М., Галузінська Л.В., Ніколаєва В.Б. Стан деяких показників енергетичного та іонного обміну у хворих на поширений псориаз. Український журнал дерматології венерології косметології. 2016; 2: 37-40.
13. Біловол А.М., Ніколаєва В.Б., Галузінська Л.В. Стан реактивності сполучної тканини у хворих на поширений псориаз. Український журнал дерматології венерології косметології. 2017; 1: 14-17.
14. Болотна Л.А. Псориаз: вибір оптимального топічного кортикостероїдного препарату. Український журнал дерматології венерології косметології. 2019; 1: 55-62.
15. Болотная Л. А. Современные возможности наружной терапии псориаза. Український журнал дерматології венерології косметології. 2014; 1:115-120.
16. Возняк І.Я., Сизон О.О. Аналіз особливостей низки цитокінових та імуноморфологічних змін у хворих на псориаз. Український журнал дерматології, венерології, косметології. 2016; 3(62): 9–15.
17. Веретельник А.В. Резниченко Н.Ю. Современные подходы к лечению различных форм псориаза (обзор литературных данных). Клінічна імунологія, алергологія, інфектологія. 2017; 6: 26-34.

18. Веретельник К. О. Імунний статус у хворих на псоріаз із супутньою маласезійною інфекцією. Запорожский медицинский журнал. 2017; 3: 363-368.
19. Вірстюк Н.Г. Никифорок М.М. Вплив метаболічного синдрому на перебіг псоріазу. Український журнал дерматології венерології косметології. 2016; 4: 105.
20. Галкін М.Б., Іваниця Б.М., Галкін Б.М., Філіпова Т.О. Матрикс біоплівки – хімічний склад, структура, властивості. Мікробіологія і біотехнологія. 2016; 4: 6-27.
21. Гаєвська М.Ю., Новлюк О.Г., Ткачук О.І. Ефективність застосування пробіотики в комплексному лікуванні псоріазу. Клінічна та експериментальна патологія. 2018; 18 (1): 27-30.
22. Герасименко Ю. О. Дослідження білків Р16, Р19 , Р21, Р53 у шкірі хворих на псоріаз в динаміці комплексного лікування з використанням імуномодуючого препарату. Дерматологія та венерологія. 2016; 4: 55-63.
23. Гончаров С.В., Черпасова А.С. Некоторые аспекты современного подхода к лечению и профилактике рецидивов псориаза. Современная фармация. 2015; 4: 33-36.
24. Гринюк С. М. Клініко-патогенетичні аспекти лікування псоріазу з урахуванням динаміки деяких ланок імунітету: автореферат дис... канд. мед. наук: 14.01.20. Івано-Франків. нац. мед. ун-т МОЗ України, Нац. мед. ун-т ім. О. О. Богомольця МОЗ України, 2010. 19с.
25. Гринюк С.М. Зміни мікроциркуляторного русла у хворих на псоріаз. Практична медицина. 2008; 14 (2): 265-266.
26. Гаврилюк І.М. Особливості фармакологічної дії комбінованого препарату пропіленгліколю, сечовини та молочної кислоти при оніхомікозі. Укр. журн. дерматол., венерол., косметол. 2019; 3 (74): 93-99.
27. Дащук А. М., Добржанская Е.И., Пустовая Н.А. Определение нарушений некоторых функций эндокринной системы у больных псориазом. Український журнал дерматології венерології косметології. 2018; 1: 23-26.

28. Дашук А.М. Кожные болезни. Монография, Изд-во «Водный спектр», 2017. – 204 с.
29. Дашук А.М., Пустовая Н.О., Добржанська Є.І. Нейроендокринна система та імунний статус у хворих на псоріаз. Дерматологія та венерологія. 2011; 2: 93-94.
30. Добржанська Є.І. Аналіз змін показників імунітету у хворих на псоріаз. Експериментальна і клінічна медицина. 2013; 4: 120-123.
31. Долгушин И.И., Андреева Ю.С., Савочкина А.Ю. Нейтрофильные внеклеточные ловушки и методы оценки функционального статуса нейтрофилов. Монография: Издательство: РАМН, 2009. 208с.
32. Загайко А.Л., Галузінська Л.В. Дослідження деяких показників клітинного імунітету у хворих на розповсюджений псоріаз. Медична хімія. 2017; 19 (2): 30-33.
33. Запольський М.Е., Лебедюк М.М., Нерубашенко С.В. Поєднана патологія при псоріазі. Огляд сучасних методів лікування дерматозів. Український журнал дерматології венерології косметології. 2017; 3: 79-84.
34. Іваниця В.О., Галкін М.Б. Сучасні уявлення щодо механізмів формування біоплівки. Мікробіологія і біотехнологія. 2011; 2: 822.
35. Ємченко Я.О. Роль локального запалення в імунопатогенезі псоріазу. Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. 2019; 19(1): 109-114. <https://doi.org/10.31718/2077-1096.19.1.109>.
36. Каганова Н.Л. Генетические аспекты псориаза. Вестник дерматологии и венерологии. 2009; 4: 20-26.
37. Каленська О.В., Каленська Л.В., Курик О.Г. Псоріаз: етіологія, патогенез, клініко-морфологічна картина, принципи лікування. Укр. журн. дерматол., венерол., косметол. 2009; 3: 5-8.
38. Катуніна О.Р., Резайкіна А.В. Провоспалительные цитокины ИЛ-1 и ФНО-α в очагах пораженной кожи больных псориазом. Вестник дерматологии и венерологии. 2011; 4: 25-31.

39. Касавин М.Ю., Гуреев М.А., Гарабаджиу А.В., Пашкин А.Ю., Жуков А.С., Хайрутдинов В.Р. и др. Ингибирование нейтрофильной эластазы и катепсина G как новый подход к лечению псориаза: от фундаментальной биологии к разработке мишень-специфичных препаратов. Доклады Академии наук. 2019;487(4):455–459.

40. Кауд Дія. Патогенез і лікування псоріазу у хворих з метаболічним синдромом: автореферат дис... канд. мед. наук: 14.01.20. Крим. держ. мед. ун-т ім. С. І. Георгієвського МОЗ України, ДУ «Ін-т дерматології та венерології АМН України», 2009. 20с.

41. Караулов А.В., Кхедри Ф., Курников Г.Ю., Шумилова С.В., Касатова Е.С., Казацкая Ж.А., Копылова Г.Е., Кравченко Г.А., Ев-сегнеева И.В., Новиков В.В. Сывороточный уровень растворимых молекул адгезии и молекул гистосовместимости при псориазе. Иммунология. 2016; 37 (2): 84-9.

42. Ковальова О.С., Федотов В.П. Особливості патогенезу, клінічних виявів та перебігу псоріазу у курців. Український журнал дерматології венерології косметології. 2017; 1: 18-24.

43. Коноваленко Л. В. На перехресті дерматології та венерології: у фокусі хворі на псоріаз. Український журнал дерматології венерології косметології. 2016; 2: 69-71.

44. Короленко В.В., Степаненко Р.Л. Медико-соціальні аспекти псоріазу. Український журнал дерматології венерології косметології. 2017; 1: 46-51.

45. Короткий Н.Г., Песляк М.Ю. Псориаз как следствие включения β -стрептококков в микробиоценоз кишечника с повышенной проницаемостью (концепция патогенеза). Вестник дерматологии, венерологии. 2005; 1: 9-18.

46. Корсун В.Ф., Станевич А.В., Яговдик Н.З., Левин М.М. О вирусной этиологии псориаза. Вести дерматологии. 2019; 4: 9-11.

47. Кутасевич Я.Ф., Олійник І.О., Солошенко Е.М., Гаврилюк О.А. Клініко-патогенетична роль епідермального фактора росту при псоріазі. Український журнал дерматології венерології косметології. 2016; 2: 27-30.
48. Кунгуров Н.В., Герасимова Н.М., Кохан М.М. и др. Проблемы иммунопатологии в дерматовенерологии. Вестник уральской медицинской академической науки. 2014; 2: 5-10.
49. Кунгуров Н.В., Филимонкова Н.Н., Топычанова Е.П. Системная воспалительная реакция и явления дислипидемии при псориазе. Фундаментальные исследования. 2013; 9: 188-194.
50. Кунгуров Н.В., Филимонкова Н.Н., Голубцов В.И., Корхмазова С.А. Генетические факторы этиологии и патогенеза псориаза. Вестн. дерматологии и венерологии. 2011; 1: 23-27.
51. Кубанова А.А., Кубанов А.А., Николас Дж.Ф. и др. Иммунные механизмы псориаза. Новые стратегии биологической терапии. Вестник дерматол., венерол. 2010; 1: 35-47.
52. Кубанов, А.А., Зырянов С.К., Белоусов Д.Ю. Клинико-экономический анализ эффективности применения биологических препаратов для лечения псориаза. Качественная клиническая практика. 2015; 3: 34 – 42.
53. Лабінський Р.В., Дашко М.О. Гастроентерологічна патологія у хворих на псоріаз. Практична медицина. 2008; 14 (2): 288-291.
54. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel К.: Морион, 2001. 408 с.
55. Лефковитс И., Пернис П. Иммунологические методы исследований. Швейцария. Базельский ин-т иммунологии: пер. с англ. М.: Мир, 1988. 527с.
56. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. М.: Мир, 1960. 648 с.

57. Литинська Т.О., Коржова Т.П. Роль порушення мікробіоти товстої кишки в патогенезі псоріазу та інфекційної екземи. Лікарська справа. 2018; 7-8: 92-97.
58. Литинська Т.О., Степаненко В.І. Дослідження спектра супутньої гастроентерологічної патології у хворих на псоріаз із залученням сучасних методів діагностики. Український журнал дерматології венерології косметології. 2017; 1: 7-13.
59. Лиходед В.Г., Ющук Н.Д., Яковлев М.Ю. Роль эндотоксина грамотрицательных бактерий в инфекционной и неинфекционной патологии. Архив патологии. 2016; 2: 8-13.
60. Лопандина А. А. Показатели мелатонина и сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) у больных псориазом с нарушениями сна. Международный медицинский журнал. 2018; 24(4):81-84.
61. Лопандина А.А., Болотная Л.А. Клиническое значение провоспалительных иммунных медиаторов при псориазе. Дерматологія та венерологія. 2018; 3: 13-16.
62. Методические указания по применению унифицированных микробиологических (бактериологических) методов исследования в клинико-диагностических лабораториях. Приложение I к Приказу Министерства здравоохранения № 535 от 22 апреля 1985г. -123с.
63. Макурина Г.И. Изучение механизмов активации васкулярного эндотелия у больных псориазом и артериальной гипертензией. Запорожский медицинский журнал. 2016; 1: 9-24.
64. Макурина Г.И. Апоптоз-опосредованные механизмы и цитокиновый баланс у больных псориазом на фоне артериальной гипертензии. Сучасні медичні технології . 2016; 1: 24-28.
65. Меркушова Е.Д., Хасанова Е.М., Ганковская Л.В. Механизмы врожденного иммунитета в патогенезе псориаза: подходы к таргетной терапии. Медицинская иммунология. 2020; 22 (3): 449-58. DOI: <https://doi.org/10.15789/1563-0625-MOI-1949>

66. Осипов В.П., Лукьянова Е.М., Антипкин Ю.Г. и др. Методика статистической обработки медицинской информации в научных исследованиях. К.: планета людей, 2002. 200с.
67. Олейник И.А., Солошенко Э.Н., Гаврилюк А.А. Особенности нарушений в системе цитокинов у больных псориазом. Дерматологія та венерологія. 2015; 4: 58-66.
68. Охлопков В.А., Медведчиков Е.К., Долгих Т.И., Правдина О.В., Городилов Р.В., Зараева И.Ф. Оценка состояния цитокинового профиля у больных псориазом на фоне иммуномодулирующей терапии. Вестник дерматологии и венерологии. 2010; 4: 33-39.
69. Песляк М. Ю. Модель патогенеза псориаза. Часть 1. Системный псориазический процесс. Издание r4.0 (испр. и доп.), М.: МУРЕ. 2012. 94 с.
70. Пинегин Б.В., Иванов О.Л., Пинегин В.Б. Роль клеток иммунной системы и цитокинов в развитии псориаза. Иммунология. 2012; 33(4): 13-219.
71. Пономарев И.А. Распределение полиморфных генов апоптоза семейства каспаз у больных псориазом: автореферат дис... канд. мед. наук: 14.01.10. ФГО УВПО «Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова» МО, 2010. 18с.
72. Попова І.Б., Кайдашев І.П. Окремі аспекти епігенетичного контролю процесів запалення у хворих на псоріаз. Український журнал дерматології венерології косметології. 2016; 1: 80-86.
73. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. Москва. «МедиаСфера». 2000. 312 с.
74. Редькін Р., Орловецька Н., Данькевич О. Сучасні погляди на лікування псоріазу. Фармацевт Практик. 2018; 12: 24-26.
75. Сариян Е.И. Биомаркеры псориаза и коморбидных состояний. Дерматологія та венерологія. 2018; 2: 43-47.

76. Свирид С.Г. Руденко І.Б. Суперантигени при псоріазі: установлені та можливі. Дерматовенерол., косметол., сексопатол. 2015; 3-4 (8): 144-148.
77. Сідашенко О.І. Воронкова О.С., Шевченко Т.М., Вінніков А.І. Вплив факторів середовища на формування біоплівки *Staphylococcus epidermidis*. Вісник проблем біології медицини. 2014; 4(2-114): 213-216.
78. Сідашенко О.І., Воронкова О.С., Сірокваша А.І., Вінніков А.І. Біоплівка як особлива форма організації бактерій та її роль в інфекційних. Вісник проблем біології і медицини. 2013; 3(2): 36-41.
79. Сизон О.О. Артропатичний псоріаз: особливості патогенезу та клінічного перебігу. Український журнал дерматології венерології косметології. 2017; 3: 38-44.
80. Смирнова С.В., Смольникова М.В., Райкова В.Ю. Клинико-иммунологические особенности псориаза. Цитокины и воспаление. 2010; 4: 121-122.
81. Солошенко Э.Н., Жукова Н.В., Ярмак Т.П., Шевченко З.М. Фактор некроза опухоли, интерлейкины и липидный обмен в разных стадиях течения псориаза. Клін. імунол. алергол. інфектол. 2012; 1(2): 62-64.
82. Степаненко Р.Л. Зміни імуногістохімічної експресії Toll-подібного рецептора 9 (TLR9) у шкірі при псоріазі. Український журнал дерматології венерології косметології. 2015; 3: 25-32.
83. Степаненко Р.Л. Дослідження показників цитокінового профілю імунного статусу організму (ФНП, ІЛ-17, ІЛ-23) хворих на псоріаз та визначення їхньої ролі у патогенезі цього дерматозу. Український журнал дерматології венерології косметології. 2016; 1: 26-30.
84. Степаненко Р. Л. Роль ТОЛЛ-подібного рецептора 4 (TLR4) в розвитку запального процесу у шкірі при псоріазі. Архів клінічної медицини . 2016; 1: 75-79.
85. Степаненко Р. Л. Дослідження мікрофлори шкіри хворих на псоріаз та оцінка можливого значення бактеріального компонента в

патогенезі дерматозу. Український журнал дерматології венерології косметології. 2016; 3: 27-32.

86. Степаненко Р. Л. Стан показників імунної системи організму у хворих на псоріаз у динаміці лікування. Український журнал дерматології венерології косметології. 2017; 2: 15-23.

87. Степаненко Р. Л., Т. С. Коновалова, В. І. Степаненко, В. М. Іванцок Оцінка прогностичних критеріїв перебігу псоріазу для подальшої корекції лікування пацієнтів у післяопераційному періоді. Клінічна хірургія. 2019; 3: 65-70.

88. Степаненко Р.Л., Коновалова Т.С. Вплив імунобіологічної терапії на мікрооточення псоріатичного процесу. Український журнал дерматології венерології косметології. 2018; 1:7-16.

89. Ткач В.Є., Волошинович М.С., Никифрук Р.Ф., Король І.В. Бородавчастий псоріаз: випадок із клінічної практики. Український журнал дерматології венерології косметології. 2018; 3: 133-135.

90. Ткаченко Т. Рекомендації пацієнтам з псоріазом щодо способу життя та харчування. Фармацевт Практик. 2018; 3:36-37.

91. Федорова У.В., Сизон О.О. Імунопатогенез псоріазу, поєданого з герпесвірусною інфекцією I та II типу. Український журнал дерматології венерології косметології. 2017; 4: 56-63.

92. Хайрутдинов В.Р., Белоусова, А.В., Самцов И.Э. Иммуный патогенез псориаза. Вестник дерматологии и венерологии. 2016; 4: 20 – 26.

93. Хайрутдинов В.Р., Самцов А.В. Особенности терапии больных псориазом с метаболическим синдромом. Вестник дерматологии и венерологии. 2018; 94 (4): 68 – 72.

94. Цідило І.Г., Вірстюк Н.Г. Псоріаз і серцево-судинний ризик. Український журнал дерматології венерології косметології. 2016; 1: 99-100.

95. Циганенко А.Я. Мішина М.М., Курбанов Р.А., Дубовик О.С. Удосконалення способу відтворення біоплівки мікроорганізмів in vitro. Інформаційний лист про нововведення в системі охорони здоров'я

Український центр наукової медичної інформації та патентно-ліцензійної роботи. Випуск 1 з проблеми «Вірусологія та мікробіологія»; № 241, 2010. 4с.

96. Черкашина Л. В. Оцінювання якості медичної допомоги на первинному етапі її надання: обсяги використання діагностичних заходів у хворих на псоріаз. Сімейна медицина. 2018; 4:100-104.

97. Чернишов П.В., Водяник М.А., Коляденко К.В. Поліпептидний цитокін - фактор некрозу пухлин - α (TNF- α) та його розчинні рецептори (TNF-R55, TNF-R75) при псоріазі. Український журнал дерматології, венерології, косметології. 2002; 2: 19-21.

98. Чинов Г.П. Псориаз - как дерматоз мультифакториальной природы. Особенности течения. Современные методы реабилитации пациентов. Тавр. мед.-биол. вестн. 2009; 4: 258-260.

99. Шегай М.М., Кишелева З.Б., Акышбаева Г.А. Роль некоторых цитокинов в развитии псориаза. Вестник дерматологии и венерологии. 2018; 5: 7-13.

100. Ященко Н.Б., Кулешов И.В., Яручик И.Н. Лечение больных псориазом с учетом сопутствующей патологии печени. Практикующий лікар. 2019; 3: 61-64.

101. Akmstrong April W, Puig L, Joshi A. Comparison of Biologics and Oral Treatments for Plaque Psoriasis: A Meta-analysis. JAMA Dermatol. 2020;156(3): 258-269. doi: 10.1001/jamadermatol.2019.4029

102. Alekseyenko, A.V.; Perez-Perez, G.I.; De Souza, A.; Strober, B.; Gao, Z.; Bihan, M.; Li, K.; Methé, B.A.; Blaser, M.J. Community differentiation of the cutaneous microbiota in psoriasis. Microbiome. 2013; 1: 31-37.

103. Allen HB. Allawh R. Touati A. et al. Alzheimer's [sic] disease: The novel finding of intracellular biofilms. J Neuroinfect Dis. 2017; 8(2): 247-251.

104. Armstrong AW, Read C. Pathophysiology, clinical presentation, and treatment of psoriasis: a review. JAMA. 2020; 323(19):1945–1960. doi:10.1001/jama.2020.4006.

105. Assarsson M., Duvetorp A., Dinus O., Söderman J., Seifert O. Significant Changes in the Skin Microbiome in Patients with Chronic Plaque Psoriasis. *Dermato Venereol.* 2018; 98: 428-436.
106. Ayala-Fontánez N., Soler D.C., McCormick T.S. Current knowledge on psoriasis and autoimmune diseases. *Psoriasis.* **2016**; 6: 7-32.
107. Baker BS, Brown DW, Ovigne JM, Fischetti VA et al. Non-M protein(s) on the cell wall and membrane of group A streptococci induce(s) IFN-gamma production by dermal CD4⁺ T - cells in psoriasis. *Arch Dermatol Res.* 2011; 293(4): 165-170.
108. Baker B.S, Ovigne J.M, Fischetti V.A, Powles A, Fry L. Selective Response of Dermal Th-1 Cells to 20-50 kDa Streptococcal Cell-Wall Proteins in Chronic Plaque Psoriasis. *Scand J Immunol.* 2003; 58(3): 335-341.
109. Baker B.S., Ovigne J.M., Powles A.V. et al. Normal keratinocytes express Toll-like receptors (TLRs) 1, 2 and 5: Modulation of TLR expression in chronic plaque psoriasis. *Br J Dermatol.* 2013; 48: 670-679.
110. Baker B.S. Recent Advances in psoriasis: The Role of the Immune System. ICPImperial College Press. 2010; 180. www.psora.df.
111. Baker B.S, Brown D, Fischetti V.A, Ovigne J.M Stronger proliferative response to membrane versus cell-wall Streptococcal proteins by peripheral blood T cells in chronic plaque psoriasis. *Scand J Immunol.* 2001; 54(6): 619-625.
112. Baker B.S., Powles A., Fry L., Peptidoglycan: A major aetiological factor for psoriasis? *Trends Immunol.* 2006; 27: 545-551.
113. Baliwag J., Barnes D.H, Johnston A. Cytokines in psoriasis. *Cytokine.* 2015; 73: 342-350.
114. Belkaid Y., Hand T.W. Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell.* 2014; 157: 121–141.
115. Benhadou F., Mintoff D., Schnebert B., Bing H. Psoriasis and Microbiota: A Systematic Review. *Diseases.* 2018; 6(2): 47-49.

116. Blauvelt A, Papp KA, Griffiths CE, Randazzo B, Wasfi YS, Shen YK. Efficacy and safety of guselkumab, an anti-interleukin-23 monoclonal antibody, compared with adalimumab for the continuous treatment of patients with moderate to severe psoriasis: Results from the phase III, double-blinded, placebo- and active comparator. *J. Am. Acad. Dermatol.* Elsevier Inc. 2017; 76(3): 405–417.
117. Bos J.D., de Rie M.A., Teunissen M.B., Piskin G. Psoriasis: dysregulation of innate immunity. *Br. J. Dermatol.* 2015; 152 (6): 1098-1107.
118. Bowcock A.M., Shannon W., Du F., Duncan J., Cao K. Insights into psoriasis and other inflammatory diseases from large-scale gene expression studies. *Hum Mol Genet.* 2001; 10 (17): 1785-1793.
119. Boyman O., Conrad C., Tonel G., Gilliet M., Nestle F.O. The pathogenic role of tissue-resident immune cells in psoriasis. *Trends Immunol.* 2007; 28: 51-57.
120. Bugone E., Michel L., Flageul B. et al Expression, subcellular localization and cytokinic modulation of Toll-like receptors (TLRs) in normal human keratinocytes: TLR2 up-regulation in psoriatic skin. *Europ J Derm.* 2007; 17(6): 497-506.
121. Bukhova V.P., Basanova E.A., Borodiyk N.A. Identification of determinant common for polysaccharids of group A streptococcus, staphylococcus, and epidermal antigen of thymiv epitelium. *J Dermatol Venerol.* 2016; 4: 19-21.
122. Burfield L., Burden A.D. Psoriasis. *Coll J.R. Physicians Edinb.* 2013; 43(4): 334-339.
123. Cameron C, Druchok C, Hutton B, McElligott S, Nair S, Schubert A, Situ A, Varu A, Villacorta R. Guselkumab for the Treatment of Moderate-to-Severe Plaque Psoriasis During Induction Phase: A Systematic Review and Network Meta-Analysis. *Journal of Psoriasis and Psoriatic Arthritis.* 2019;4:81–92.
124. Campanati A., Orciani M., Consales V. et al. Characterization and profiling of immunomodulatory genes in resident mesenchymal stem cells reflect

the Th1-Th17/Th2 imbalance of psoriasis. *Arch Dermatol Res.* 2014; 306 (10): 915-920.

125. Carretero G. Redefining the therapeutic objective in psoriatic patients candidates for biological therapy *J Dermatolog Treat.* 2018; 29 (4): 334 – 346.

126. Capon F. The Genetic Basis of Psoriasis. *Int. J. Mol. Sci.* **2017**; 18: 25-29.

127. Casató M., Dobozy A. A study on the candida-killing activity of polymorphonuclear leukocytes in patients with psoriasis vulgaris. *Archives of Dermatological Research.* 2018; 271(2):229-2231. ISSN 0340-3696.

128. Cataldi C., Mari N.L., Lozovoy M.B, Martins L.M, Reiche E.V, Maes M. et al. Proinflammatory and anti-inflammatory cytokine profiles in psoriasis: use as laboratory biomarkers and disease predictors. *Inflamm Res.* 2019; 68: 557-567.

129. Chen K., Kolls J.K. Interleukin-17A (IL17A). *Gene.* 2017; 614: 8-14.

130. Chiricozzi A., Romanelli P., Volpe E., Borsellino G., Romanelli M. Scanning the Immunopathogenesis of Psoriasis. *Int J Mol Sci.* 2018; 19: 173-179.

131. Chu H., Mazmanian S.K. Innate immune recognition of the microbiota promotes host-microbial symbiosis. *Nat. Immunol.* 2013; 14: 668–675.

132. Chan TC, Hawkes JE, Krueger JG. Interleukin 23 in the skin: role in psoriasis pathogenesis and selective interleukin 23 blockade as treatment. *Ther Adv Chronic Dis.* 2018;9(5):111–119.

133. Chiricozzi A. Crosstalk between skin inflammation and adipose tissue-derived products: pathogenic evidence linking psoriasis to increased adiposity *Expert Rev Clin Immunol.* 2016; 12 (12):1299 – 1308.

134. Campanati A, Paolinelli M, Diotallevi F, Martina E, Molinelli E, Offidani A. Pharmacodynamics OF TNF α inhibitors for the treatment of psoriasis. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2019;15(11):913–925. doi:10.1080/17425255.2019.1681969.

135. Chau N.G. Metabolic parameters in psoriatic patients treated with interleukin-12/23 blockade (ustekinumab) *Journal of Dermatology.* 2018; 45 (3): 309 – 313.

136. Company ELA. A study to evaluate the efficacy and safety of mirikizumab (LY3074828) in participants with moderate-to-severe plaque psoriasis (OASIS-1); 2020. Available from: <https://www.clinicaltrials.gov>.
137. Darlenski R., Hristakieva E., Aydin U., Gancheva D., Gancheva T., Zheleva A., Gadjeva V., Fluhr J.W. Epidermal barrier and oxidative stress parameters improve during in 311 nm narrow band UVB phototherapy of plaque type psoriasis. *J. Dermatol. Sci.* 2018; 8: 3-6.
138. DeCid R., Riveira-Munoz E., Zeeuwen P. L., Robarge J., Liao W. et al. Deletion of the late cornified envelope LCE3B and LCE3C genes as a susceptibility factor for psoriasis. *Nat Genet.* 2009; 41 (2): 5-11.
139. DeGruttola A.K., Low D., Mizoguchi A., Mizoguchi E. Current understanding of dysbiosis in disease in human and animal models. *Inflamm. Bowel Dis.* 2016; 22: 1137-1150.
140. Delgado-Rizo V., Martínez-Guzmán M.A., Iñiguez-Gutierrez L., García- Orozco A., Alvarado-Navarro A., Fafutis-Morris M. Neutrophil extracellular traps and its implications in inflammation: an overview. *Front Immunol.* 2017; 8: 81-88.
141. Di Domizio J., Gilliet M. Psoriasis caught in the NET. *J Invest Dermatol.* 2019; 139:1426-1429.
142. Di Meglio P., Perera G.K., Nestle F.O. The multitasking organ: recent insights into skin immune function. *Immunity.* 2011; 35 (6): 857-869.
143. Donlan R.M., Costerton J.W. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin. Microbiol. Rev.* 2002; 15 (2): 167-193.
144. Enerbäck C. Soluble biomarkers in psoriasis. *Eur J Dermatol.* 2011; 21(6): 844-850.
145. Fahlén A., Engstrand L., Baker B.S, Powles A., Fry L. Comparison of bacterial microbiota in skin biopsies from normal and psoriatic skin. *Arch Dermatol Res.* 2012; 304: 15-22.
146. Farber E.M., Nicoloff B.J., Recht B. Stress, symmetry and psoriasis, possible role of neuropeptides. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2016; 290: 154-157.

147. Farkas A., Kemeny L. Monocyte-derived interferon-alpha primed dendritic cells in the pathogenesis of psoriasis: new pieces in the puzzle. *Int Immunopharmacol.* 2012; 13 (2): 215-218.
148. Fouser L.A., Wright J.F., Dunussi-Joannopoulos K., Collins M. Th17 cytokines and their emerging roles in inflammation and autoimmunity. *Immunol Rev.* 2008; 226: 87-102.
149. Fry L., Baker B.S., Powles A.V., Engstrand L. Psoriasis is not an autoimmune disease? *Exp Dermatol.* 2015; 24 (4): 241-244.
150. Gordon KB, Foley P, Krueger JG, et al. Bimekizumab efficacy and safety in moderate to severe plaque psoriasis (BE READY): a multicentre, double-blind, placebo-controlled, randomised withdrawal phase 3 trial. *Lancet.* 2021; 397 (10273): 475–486. doi:10.1016/S0140-6736(21).
151. Gisondi P. Psoriasis and the metabolic syndrome *Clin Dermatol.* 2018; 36 (1): 21 – 28.
152. Georgescu S.R., Tampa M., Caruntu C., Sarbu M.I., Mitran C.I., Mitran M.I. Advances in understanding the immunological pathways in psoriasis. *Int JMol Sci.* 2019; 20: 729-739.
153. Gordon KB, Armstrong AW, Foley P, et al. Guselkumab Efficacy after Withdrawal Is Associated with Suppression of Serum IL-23-Regulated IL-17 and IL-22 in Psoriasis: VOYAGE 2 Study. *J Invest Dermatol.* 2019;139(12):2437–2446.e1. doi: 10.1016/j.jid.2019.05.016.
154. Greb J.E, Goldminz A.M, Elder J.T, Lebwohl M.G, Gladman D.D, Wu J.J et al. Psoriasis. *Nat Rev Dis Primers.* 2016; 2: 16082-16089.
155. Ghoreschi K, Balato A, Enerbäck C, Sabat R. Therapeutics targeting the IL-23 and IL-17 pathway in psoriasis. *Lancet.* 2021;397(10275):754–766. doi:10.1016/S0140-6736(21)00184-7.
156. Grice E.A. The skin microbiome: Potential for novel diagnostic and therapeutic approaches to cutaneous disease. *Semin. Cutan. Med. Surg.* 2014; 33: 98-103.

157. Griffiths CEM, et al. Continuous treatment with guselkumab maintains clinical responses through 4 years in patients with moderate-to-severe psoriasis: results from VOYAGE. *J Dermatolog Treat.* 2020;13: 1.
158. Grozdev I., Korman N., Tsankov N. Psoriasis as a systemic disease. *Clin Dermatol.* 2014; 32 (3): 343-350.
159. Gudjonsson J.E., Elder J.T. Psoriasis: epidemiology. *Clin Dermatol.* 2007; .25 (6): 535-546.
160. Gudjonsson J. E., Karason A., Runarsdottir E. H., Antonsdottir A. A., Hauksson V. B. et al. Distinct clinical differences between HLA-Cw0602 positive and negative psoriasis patients an analysis of 1019 HLA-C- and HLA-B-typed patients. *J Invest Dermatol.* 2006; 126(4): 735-740.
161. Gudjonsson J., Thorarinsson A., Sigurgeirsson B., Kristinsson K. Streptococcal throat infections and exacerbation of chronic plaque psoriasis: a prospective study. *British Journal of Dermatology.* 2013; (149): 530-534.
162. Hakim Ben Abdallah, Claus Johansen, Lars Iversen Key Signaling Pathways in Psoriasis: Recent Insights from Antipsoriatic Therapeutics Psoriasis (Auckl). 2021; 11: 83–97. Published online 2021 Jun 29. doi: 10.2147/PTT.S294173 PMCID: PMC8254604 PMID: 34235053
163. Heidenreich R., Rocken M., Ghoreschi K. Angiogenesis: the new potential target for the therapy of psoriasis? *Drug News Perspect.* 2018; 21(2): 97-105.
164. Hawkes JE, Yan BY, Chan TC, Krueger JG. Discovery of the IL-23/IL-17 signaling pathway and the treatment of psoriasis. *J Immunol.* 2018;201(6):1605–1613. doi:10.4049/jimmunol.1800013.
165. Hoff S., Oyoshi M.K., Macpherson A., Geha R.S. The microbiota is important for IL-17A expression and neutrophil infiltration in lesional skin of flg (ft/ft) mice. *Clin Immunol.* 2015; 156: 128-130.
166. Huang H. Increased serum resistin levels correlate with psoriasis: a meta-analysis *Lipids Health Dis.* 2015; 14: 44.

167. Hu S.C, Yu H.S, Yen F.L, Lin C.L, Chen G.S, Lan C.C. Neutrophil extracellular trap formation is increased in psoriasis and induces human b-defensin-2 production in epidermal keratinocytes. *Sci Rep.* 2016; 6: 311-319.
168. Hu Z., Murakami T., Tamura H., Reich J., Kuwahara-Arai K., Iba T. et al. Neutrophil extracellular traps induce IL-1b production by macrophages in combination with lipopolysaccharide. *Int J Mol Med.* 2017; 39: 549-458.
169. Hugon P., Dufour J.C., Colson P., Fournier P.E., Sallah K., Raoult D.A. Comprehensive repertoire of prokaryotic species identified in human beings. *Lancet Infect. Dis.* 2015; 15: 1211-1219.
170. James E., McInturff R., Modlin J. K. The role of toll-like receptors in the pathogenesis and treatment of dermatological disease. *J Invest Dermatol.* 2005; 1: 1-8.
171. Jiang M.L., Zhang J. Vascular endothelial growth factor driving aberrant keratin expression pattern contributes to the pathogenesis of psoriasis. *Exp Cell Res.* 2017; 360(2): 310-319.
172. Katayama H. Development of psoriasis by continuous neutrophil infiltration into the epidermis. *Exp Dermatol.* 2018; 27: 1084-1091.
173. Kamiya K., Kishimoto M., Sugai J., Komine M., Ohtsuki M. Risk factors for the development of psoriasis. *Int J Mol Sci.* 2019; 20(18): 4347. doi:10.3390/ijms20184347.
174. Kaushik S.B., Lebwohl M.G. CME Part I Psoriasis: which therapy for which patient psoriasis comorbidities and preferred systemic agents. *J Am Acad Dermatol.* 2019; 80: 27-40.
175. Kim W.B. Diagnosis and management of psoriasis *Can Fam Physician.* 2017; 63 (4): 278 – 285.
176. Kuang Y.H., Lu Y., Liu Y.K. Topical Sunitinib ointment alleviates Psoriasis-like inflammation by inhibiting the proliferation and apoptosis of keratinocytes. *Eur J Pharmacol.* 2018; 824: 57-63.

177. Lacras S., Nicod L., Chicheportiche R. IL-10 inhibits metalloproteinase and stimulates TIMP-1 production in human mononuclear phagocytes. *J Clin Invest.* 2015; 96: 2304-2308.
178. Lacy P. Mechanisms of degranulation in neutrophils. *Clin Immunol.* 2006; 2: 98-108.
179. Lambert S., Hambro C.A., Johnston A., Stuart P.E., Tsoi L.C., Nair R.P. Neutrophil extracellular traps induce human Th17 cells: effect of psoriasis-associated TRAF3IP2 genotype. *J Invest Dermatol.* 2019; 139: 1245-1253.
180. Lee K.H., Kronbichler A., Park D.D., Park Y., Moon H., Kim H. Neutrophil extracellular traps (NETs) in autoimmune diseases: a comprehensive review. *Autoimmun Rev.* 2017; 16: 1160-1173.
181. Liang Y.S., Wen H.Q., Xiao R. Serum levels of antibodies for IgG, IgA, and IgM against the fungi antigen in psoriasis vulgaris. *Bull. Hunan Med. Univ.* 2003; 28: 638-640.
182. Lima E.A. Reviewing concept in the immunopathogenesis of psoriasis. *An. Bras. Dermatol.* 2011; 86(6): 1151-1158.
183. Lin X., Huang T. Oxidative stress in psoriasis and potential therapeutic use of antioxidants. *Free Radic Res.* 2016; 50: 585-595.
184. Lowes M. A. Pathogenesis and therapy of psoriasis. *Nature.* 2007; 445 (22): 866-872.
185. Lowes M.A., Russell C.B., Martin D.A., Towne J.E., Krueger J.G. The IL-23/T17 pathogenic axis in psoriasis is amplified by keratinocyte responses. *Trends Immunol.* 2013; 34: 174-181.
186. Lunder T, Puig L, Tsai TF, Bhutani T, Ramachandran P, Uy J, Song M, You Y, Gooderham M, Lebwohl M. Drug survival of biological therapy is showing class effect: updated results from Slovenian National Registry of psoriasis. *Int. J. Dermatol.* 2019; 4429.

187. Maddocks O.D., Scanlon K.M., Sonnenberg M.S. An *Escherichia coli* effector protein promotes host mutation via depletion of DNA mismatch repair proteins. *MBio*. 2013; 4: 152-153.
188. Majewski P., Majchrzak-Gorecka M., Grygier B., Skrzeczynska-Moncznik J., Osiecka O., Cichy J. Inhibitors of serine proteases in regulating the production and function of neutrophil extracellular traps. *Front Immunol*. 2016; 7: 26-29. doi: 10.3389/fimmu.2016.00261.
189. Machado-Pinto J. Psoriasis: new comorbidities. *An Bras Dermatol*. 2016; 91 (1): 8 – 14.
190. Mak R. K., Hundhausen C., Nestle F. O. Progress in understanding the immunopathogenesis of psoriasis. *Actas Dermosifiliogr*. 2009; 10 (2): 2-13.
191. Majanski A.N. Streptococci: Microbiology and pathology. *Wopr Dyagnos Ped* 2010; 2 (1): 9-20.
192. Marina M.E., Roman I.I., Constantin A.M. VEGF involvement in psoriasis. *Clujul Med*. 2015; 88(3): 247-252.
193. Masallat D., Moemen D. Gut bacterial microbiota in psoriasis: A case control study. *J. Microbiol. Res*. 2016; 10: 1337-1343.
194. Mattozzi C., Richetta A. G., Cantisani C., Macaluso L., Calvieri S. Psoriasis: new insight about pathogenesis, role of barrier organ integrity, family genes and microbial flora. *J. Dermatol*. 2012; 39 (9): 752-760.
195. Medzhitov R. Toll-like receptors and innate immunity. *Macmillan Magazine Ltd*. 2001; 23: 135-145.
196. Mempel M., Voelcker V., Kollisch G. et al: Toll-like receptor expression in human keratinocytes: Nuclear factor kappaB controlled gene activation by *Staphylococcus aureus* is toll-like receptor 2 but not toll-like receptor 4 or platelet activating factor receptor dependent. *J Invest Dermatol*. 2003; 121: 1389-1396.
197. Mease P.J. Inhibition of interleukin-17, interleukin-23 and the TH17 cell pathway in the treatment of psoriatic arthritis and psoriasis. *Curr Opin Rheumatol* 2015; 27(2): 127-133.

198. Moehlecke M. Determinants of body weight regulation in humans *Arch Endocrinol Metab.* 2016; 60: 152 – 162.
199. Nair R.P., Duffin K.C., Helms C., Ding J., Stuart P.E. et al. Genomewidescan reveals association of psoriasis with IL-23 and NF-kappaB pathways. *Nat Genet.* 2009; 41 (2): 199-204.
200. Nestle F.O., Kaplan D.H., Barker J. Psoriasis. *N Engl J Med.* 2009; 361 (5): 496-509.
201. Nestle F.O. Psoriasis. *Curr. Dir. Autoimmun.* 2008; 10: 65-75.
202. Ni X., Lai Y. Keratinocyte: A trigger or an executor of psoriasis? *J LeukocBiol.* 2020;108(2):485–491. doi: 10.1002/JLB.5MR0120-439R.
203. Noah P.W. The role of microorganisms in psoriasis. *Seminars In Dermatology.* 2019; 9 (4): 269-276. PMID 2285571.
204. Nogueira M., Warren R.B., Torres T. Risk of tuberculosis reactivation with interleukin (IL)-17 and IL-23 inhibitors in psoriasis - time for a paradigm change. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2021;35(4):824–834. doi:10.1111/jdv.16866.
205. Nunes A., Marto J., Goncalves L.M., Simoes S., Felix R., Ascenso A. Novel and modified neutrophil elastase inhibitor loaded in topical formulations for psoriasis management. *pharmaceutics.* 2020;12(4):358. doi: 10.3390/pharmaceutics12040358.
206. O'Toole G.A., Kaplan H.B., Kolter R. Biofilm formation as microbial development. *Ann Rev Microbiol.* 2000; 54: 49-79.
207. Ogawa K. A trans-ethnic Mendelian randomization study identifies causality of obesity on risk of psoriasis *J Invest Dermatol.* 2019; 139 (6): 1397 – 1400.
208. Parisi R, Iskandar IYK, Kontopantelis E, Augustin M, Griffiths CEM, Ashcroft DM. National, regional, and worldwide epidemiology of psoriasis: systematic analysis and modelling study. *BMJ.* 2020;369:m1590. doi:10.1136/bmj.m1590.

209. Pashkin A.Yu., Vorobyeva E.I., Khairutdinov V.R., Belousova I.E., Samtsov A.V., Garabagiou A.V. The role of cytokines of interleukin 36 family in immunopathogenesis of psoriasis. *Medical Immunology*. 2018;20(2):163-170.<https://doi.org/10.15789/1563-0625-2018-2-163-170>.
210. Pinegin B., Vorobjeva N., Pinegin V. Neutrophil extracellular traps and their role in the development of chronic inflammation and autoimmunity. *Autoimmun Rev*. 2015; 14: 633-640.
211. Piruig L., Tsai T.F., Bhutani T., Ramachandran P., Uy J., Song M., You Y., Gooderham M., Lebwohl M.. Safety in moderate-to-severe plaque psoriasis patients with latent tuberculosis treated with guselkumab and antituberculosis treatments concomitantly: results from pooled phase 3 voyage 1 & voyage 2 trials *Eur Acad Dermatol Venereol*. 2020; 14: doi: 10.1111/jdv.16460.
212. Prinz J.C. Autoimmune aspects of psoriasis: heritability and autoantigens. *Autoimmun Rev*. 2017; 16: 970-979.
213. Puig L. Guselkumab for the treatment of adults with moderate to severe plaque psoriasis. *Expert Rev Clin Immunol*. 2019;15(6):589–597. doi: 10.1080/1744666X.2019.1601014.
214. Reich K, Armstrong April W, Langley Richard G, Flavin S, Randazzo B, Li S, Hsu Ming-Chun, Branigan P, Blauvelt A. Guselkumab versus secukinumab for the treatment of moderate-to-severe psoriasis (ECLIPSE): results from a phase 3, randomised controlled trial *Lancet* 2019;394:831–39.
215. Reich K, Papp KA, Blauvelt A, et al. Bimekizumab versus ustekinumab for the treatment of moderate to severe plaque psoriasis (BE VIVID): efficacy and safety from a 52-week, multicentre, double-blind, active comparator and placebo controlled phase 3 trial. *Lancet*. 2021;397(10273):487–498. doi:10.1016/S0140-6736(21)00125-2.
216. Rosenberg E.W., Patricia W.N., Skinner R.B. Microorganisms and psoriasis. *J National Medical Ass*. 2009; 86 (4):305-310.

217. Ryan C., Korman N.J., Gelfand J.M., Lim H.W., Elmetts C.A., Feldman S.R. et al. Research gaps in psoriasis: Opportunities for future studies. *J. Am Acad Dermatol.* 2014; 70 (1): 146-167.
218. Sánchez-Regaña M.I, Videla S., Villoria J., Domingo H., Macaya A., et al. Prevalence of fungal involvement in a series of patients with nail psoriasis. *Clinical and Experimental Dermatology.* 2008; 33 (2): 194-195. ISSN 0307-6938.
219. Sawyer LM, Malottki K, Sabry-Grant C, et al. Assessing the relative efficacy of interleukin-17 and interleukin-23 targeted treatments for moderate-to-severe plaque psoriasis: a systematic review and network meta-analysis of PASI response. *PLoS One.* 2019;14(8):e0220868. doi:10.1371/journal.pone.0220868.
220. Sanford J.A. Gallo R.L. Functions of the skin microbiota in health and disease. *Semin. Immunol.* **2013**; 25:370-377.
221. Sankar L., Arumugam D., Boj S. Expression of angiogenic factors in psoriasis vulgaris. *J Clin Diagn Res.* 2017; 11(3): 23-27.
222. Schadler E. D. Biologics for the primary care physician: Review and treatment of psoriasis *Dis Mon.* 2019; 65 (3): 51 – 90.
223. Shao S., Fang H., Dang E., Xue K., Zhang J., Li B. Neutrophil extracellular traps promote inflammatory responses in psoriasis via activating epidermal TLR4/IL-36R crosstalk. *Front Immunol.* 2019; 10: 741-746.
224. Shreiner A.B., Kao J.Y., Young V.B. The gut microbiome in health and in disease. *Curr. Opin. Gastroenterol.* 2015; 31: 69-75.
225. Strange A., Capon F., Spencer C. C., Knight J., Weale M. E. A genome-wide association study identifies new psoriasis susceptibility loci and an interaction between HLA-C and ERAP1. *Nat Genet.* 2018; 42(11): 985-990.
226. Shapiro J. Cohen A.D., David M. The association between psoriasis, diabetes mellitus, and atherosclerosis in Israel: a case-control study. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2007; 56: 629-634.

227. Snekvik I. Obesity, waist circumference, weight change, and risk of incident psoriasis: prospective data from the HUNT study *J Invest Dermatol.* 2017; 137(12): 2484 – 2490.
228. Silva-Dias A, Miranda I.M, Branco J., Monteiro-Soares M., Pina-Vaz C., Rodrigues A.G. Adhesion, biofilm formation, cell surface hydrophobicity, and antifungal planktonic susceptibility: relationship among *Candida* spp. *Front Microbiol.* 2015;12:196-205.
229. Sticherling M. Psoriasis and autoimmunity. *Autoimmun Rev.* 2016; 15:1167-1170.
230. Su J.P., Kyoung H., Joo P. Influence of bacterial presence on biofilm formation. *J.Yonsei Med.* 2014; 55: 449-458.
231. Sudhesan A., Rajappa M., Chandrashekar L. Vascular endothelial growth factor (VEGF) gene polymorphisms (rs699947, rs833061, and rs2010963) and psoriatic risk in South Indian Tamils. *Hum Immunol.* 2017; 78(10):657-663.
232. Takemoto A., Cho O., Morohoshi Y., Sugita T., Muto M. Molecular characterization of the skin fungal microbiome in patients with psoriasis. *J. Dermatol.* 2015; 42: 166-170.
233. Tecchio C., Cassatella M.A. Neutrophil-derived chemokines on the road to immunity. *Semin Immunol.* 2016; 28:119-128.
234. Tian T., Wang Z., Zhang J. Pathomechanisms of oxidative stress in inflammatory bowel disease and potential antioxidant therapies. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2017;45:351-394.
235. Ten Bergen LL, Petrovic A, Aarebrot AK, Appel S. Current knowledge on autoantigens and autoantibodies in psoriasis. *Scand J Immunol.* 2020;92(4):e12945. doi:10.1111/sji.12945.
236. Thorleifsdottir R.H., Sigurdardottir S.L., Sigurgeirsson B. Improvement of psoriasis after tonsillectomy is associated with a decrease in the frequency of circulating T-cells that recognize streptococcal determinants and homologous skin determinants. *J Immunol.* 2012;188: 5160-5165.

237. Thursby E., Juge N. Introduction to the human gut microbiota. *J Biochem.* 2017;474: 1823-1836.
238. Trakeshita J.B. Psoriasis and comorbid diseases: Epidemiology *J Am Acad Dermatol.* 2017; 76(3):337 – 390.
239. Trivedi B. Microbiome: The surface brigade. *Nature.* 2012;492:601-612.
240. Valdimarsson H. Thorleifsdottir RH. Sigurdardottir SL. Psoriasis as an autoimmune disease caused by molecular mimicry. *Trends Immunol.* 2009;30(10):494-501.
241. Valins W., Amini S., Berman B. The Expression of Toll-like Receptors in Dermatological Diseases and the Therapeutic Effect of Current and Newer Topical Toll-like Receptor Modulators. *J Clin Aesthet Dermatol.* 2010;3(9): 20-29.
242. Waldman A., Gilhar A., Duek L., Berdicevsky I. Incidence of Candida in psoriasis - a study on the fungal flora of psoriatic patients. *Mycoses.* 2018; 44 (3-4):77-81.
243. Wang K, Oak AS, Elewski BE. Use of IL-23 inhibitors for the treatment of plaque psoriasis and psoriatic arthritis: a comprehensive review. *Am J Clin Dermatol.* 2021;22(2):173–192. doi:10.1007/s40257-020-00578-0
244. Wolkenstein P., Revuz J., Roujeau J.C. Psoriasis in France and associated risk factors: results of a case control study based on a large community survey. *Dermatology.* 2009; 218:103-109.
245. Xu Y., Ji Y., Lan X. et al. miR-203 contributes to IL-17-induced VEGF secretion by targeting SOCS3 in keratinocytes. *Mol Med Rep.* 2017;16(6): 8989-8996.
246. Yamanaka K., Yamagiwa A., Akeda T., Kondo M., Kakeda M., Habe K. Neutrophils are not the dominant interleukin-17 producer in psoriasis. *J. Dermatol.* 2017;44(7):e170-e171. <https://doi.org/10.1111/134>
247. Zhang J., Shaver C., Neidig L. et al. Toll-like receptor 2 and its relationship with Streptococcus in psoriasis. *Skinmed.* 2017;15(1):27-30.

248. Zhou L., Wang Y., Wan Q. 394 IL-23 antibodies in psoriasis – a non-clinical perspective. *J Invest Dermatol.* 2019; 139 (9, Supplement):S282. doi:10.1016/j.jid.2019.07.396.

ДОДАТОК А

Видання, у яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Дащук А. М. TOLL-подобные рецепторы и их роль в этиопатогенезе псориаза / Монографія // А. М. Дащук, В. В. Почернина. – [Saarbrücken] : Lap Lambert Academic Publishing, 2015. – 47 с. *(особистий внесок здобувача: збір лабораторних аналізів, статистичний аналіз, формування висновків, підготовка рукопису).*

2. Daschuk A.M., Pochernina V.V. TLR expression on peripheral blood monocytes in patients with psoriasis. Wiadomości Lekarskie, tom LXXIII, nr 2. Polska: Wydawnictwo Aluna. 2020. P.401-404. Scopus *(особистий внесок здобувача: обґрунтовано методологію дослідження, зроблено та математично оброблено результати, підготовлено статтю до друку).*

3. Почерніна В.В. Роль ендотеліального фактору росту судин у розвитку різних форм псоріазу. Медицина сьогодні і завтра. 2020. Том 89 № 4. С. 42–46.

4. Почерніна В.В. Роль Toll-подібних рецепторів 2 та 4 типів в патогенезі прогресуючої стадії різних клінічних типів псоріазу. Експериментальна і клінічна медицина. 2020. Том 89 № 4.

5. Дащук А.М., Почерніна В.В. Спосіб діагностики псоріатичної еритродермії / Патент України на винахід // UA 118802, номер заявки а 2017 01630, дата пріоритету 11.03.2019 Публікація відомостей про видачу патенту 11.03.2019, Бюл. № 5.

Видання, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

6. Дащук А.М., Почерніна В.В. Toll-подібні рецептори та їх експресія при псоріазі. Медичний форум. 2015. №6(06). С48-50.

7. Почерніна В.В., Дащук А.А. Toll-подібні рецептори та їх роль у патогенезі псоріазу. Дерматологія та венерологія. 2017. №3(77). С.100-101.

8. Pochernina V.V TOLL-подобные рецепторы 4 и 9 типа в этиопатогенезе псориаза. Матеріали XXI міжнародного медичного конгресу

студентів та молодих вчених присвяченого 60-річчю Тернопільського державного медичного університету ім. І.Я.Горбачеського МОЗ України 24-26 квітня 2017 р / Укрмедкнига. – Тернопіль. – 2017. – С.185.

9. Pochernina V.V., Daschuk A.A. Toll-like receptors 4 and 9 types and their role in the pathogenesis of psoriasis. Український журнал дерматології, венерології, косметології. 2017 № 4 (67) С 65..

10. Daschuk A.M, PocherninaV.V. Toll-like receptors 4 and 9 types and their role in the pathogenesis of psoriasis. Relevant issues of modern medicine: the experience of Poland and Ukraine: International research and practice conference, Lublin, October 20-21, 2017/ Lublin, Republic of Poland. 2017. №1 P.79-82.

11. Почерніна В.В. TOLL-подібні рецептори 4 та 9, їх роль в етіопатогенезі псоріазу. Медицина третього тисячоліття: матеріали міжвузівської конференції молодих вчених та студентів, Харків 16-17 січня 2017 р.: збірник тез/ Х., ХНМУ, 2017. – С. 318-319.

12. Почерніна В.В., Дащук А.А. Toll-подібні рецептори та їх роль у патогенезі шкірних захворювань на прикладі псоріазу. Актуальні проблеми дерматології, венерології та ВІЛ/СНІД-інфекції: матеріали наук.-прак. конф (з між нар. участю), присвяч. 170-річчю з дня народження приват-доцента В.Г.Порай-Кошица., Харків 15 листопада 2017 р./ «Водний спектр». 2017. С.118-123.

13. PocherninaV.V.,Daschuk A.A. Psoriasis. Toll-like receptors in it pathogenesis. Advances of science: Proceedings of articles the international scientific conference. Czech Republic, Karlovy Vary – Ukraine, Kyiv, 6 April 2018 [Electronic resource] / Editors prof. L.N. Katjuhin, I.A. Salov, I.S. Danilova, N.S. Burina. – Electron. txt. d. (1 файл 3 MB). – Czech Republic, Karlovy Vary: Skleněný Můstek – Ukraine, Kyiv: MCNIP. 2018. P. 211-215.

14. Дащук А.А, Почерніна В.В. Дослідження TOLL-подібних рецепторів у патогенезі псоріазу. Світова медицина: сучасні тенденції та фактори розвитку : матеріали науково-практичної конференції, Львів, 26-27 січня: ГО «Львівська медична спільнота». 2018. С.50-54.

15. Дашук А.А., Почерніна В.В. The role of TOLL-like receptors in the pathogenesis of psoriasis. Актуальні проблеми дерматології, венерології та ВІЛ/СНІД-інфекції: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю), присвячена 145-річчю з дня народження професора Соболева Л.А., Харків 16 листопада 2018 р./ «Водний спектр Джі-Ем-Пі». 2018. С. 46-50.

16. Почерніна В.В., Дашук А.А. Дослідження Toll-подібних рецепторів щодо патогенезу псоріазу. Забезпечення здоров'я нації та здоров'я особистості як пріоритетна функція держави: матеріали науково-практичної конференції, Одеса, 19-20 січня: ГО «Південна фундація медицини». 2018. С.60-65.