



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**Μελέτη της αντιγονοειδικής χυμικής απόκρισης κατά του ανθρώπινου κυτταρομεγαλοϊού σε ασθενείς με ψωρίαση και άλλα νοσήματα**

**Study of antigen-specific humoral immune responses against human cytomegalovirus in patients with psoriasis and other diseases**

Ζάχαρη Σοφία του Νικολάου

Λάρισα, 2023

## **ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

- **Μπόγδανος Δημήτριος (Επιβλέπων)**, Καθηγητής Παθολογίας και Αυτοάνοσων Νοσημάτων, Τμήμα Ιατρικής, ΣΕΥ, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
- **Μαμούρης Ζήσης (Συνεπιβλέπων)**, Καθηγητής Γενετικής Ζωικών Πληθυσμών, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
- **Ζαφειρίου Ευτέρπη**, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Δερματολογίας, Τμήμα Ιατρικής, ΣΕΥ, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο εργαστήριο Ρευματολογίας και Κλινικής Ανοσολογίας του τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας όπου είχα την τύχη να συνεργαστώ με ανθρώπους οι οποίοι συνέβαλλαν σημαντικά στην ολοκλήρωση αυτής.

Πρωτίστως, θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερος τον κ. Μπόγδανο Δημήτριο, καθηγητή Παθολογίας και Αυτοάνοσων νοσημάτων του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και επιβλέπων καθηγητή της πτυχιακής μου εργασίας για την ευκαιρία που μου έδωσε προσφέροντάς μου μία θέση στο εργαστήριό του, την εμπιστοσύνη του στην ανάθεση της παρούσας εργασίας καθώς και για τις γνώσεις που μου μετέδωσε, την καθοδήγηση και τις συμβουλές του κατά τη διάρκεια εκπόνησης αυτής.

Ευχαριστώ επίσης τον κ. Μαμούρη Ζήση, καθηγητή Γενετικής Ζωικών Πληθυσμών του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας καθώς και την κα. Ζαφειρίου Ευτέρπη, αναπληρώτρια καθηγήτρια Δερματολογίας του τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας για τη συμμετοχή τους στην τριμελή επιτροπή μου.

Ένα θερμό ευχαριστώ επιθυμώ να αποδώσω στον κ. Λιάσκο Χρήστο, ιατρό και βιολόγο, για την καθοδήγησή του κατά την εκτέλεση του πειράματος, για τις γνώσεις του και τις συμβουλές του στη συγγραφή της εργασίας αυτής.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω την κα. Πατρικίου Ελένη, υποψήφια διδάκτορα του εργαστηρίου, για τη βοήθεια και την καθοδήγηση στην διεξαγωγή του πειράματος αλλά και για τη συμπαράσταση, την ενθάρρυνση και τη στήριξη που μου προσέφερε καθημερινά στο εργαστήριο. Ευχαριστώ οφείλω και στον κ. Ευθυμίου Γεώργιο, ιατρό και μοριακό βιολόγο για την καθοδήγησή του στη συγγραφή της εργασίας μου, την ενθάρρυνση και υποστήριξή του. Ήταν πάντα πρόθυμος να με βοηθήσει σε οποιαδήποτε απορία μου.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω και στις συνεργάτιδές μου στο εργαστήριο, τη μεταπτυχιακή φοιτήτρια Παπαγιάννη Ευαγγελία και την προπτυχιακή φοιτήτρια Καρυπίδου Αθανασία, για την καθημερινή ενθάρρυνση, την παρέα και την εξαιρετική συνεργασία μας.

Ακόμη, ευχαριστώ την κλινική Ρευματολογίας και την κλινική Δερματολογίας του Πανεπιστημιακού Γενικού νοσοκομείου της Λάρισας για τη συνεργασία και τη βοήθειά τους στη συλλογή του βιολογικού υλικού που χρησιμοποιήθηκε, αλλά και όλους τους συμμετέχοντες στη μελέτη αυτή.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τις συμφοιτήτριές μου και φίλες μου Γεωργούλα Μαρία, Κακαέ Ζωή και Βασιλείου-Νικάκη Μαρία, τόσο για την ψυχολογική υποστήριξη, την ενθάρρυνση και την υπομονή τους κατά τη διάρκεια συγγραφής της παρούσας εργασίας αλλά και για την παρέα τους και τη φιλία τους όλα αυτά τα χρόνια.

Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στην οικογένειά μου, στον πατέρα μου Ζάχαρη Νικόλαο, τη μητέρα μου Κερασιώτου Ελένη και τον αδερφό μου, Ζάχαρη Δημήτριο-Ζήση που μου συμπαραστέκονται και στηρίζουν κάθε μου εγχείρημα, με ενθαρρύνουν και με προτρέπουν να κυνηγήσω τους στόχους μου και είναι πάντα στο πλευρό μου. Ακόμη, ευχαριστώ τη θεία μου, Κερασιώτου Ευσταθία και το θείο μου, Αλιμάρα Βασίλειο για τη στήριξή τους όλα αυτά τα χρόνια και που είναι πάντα δίπλα μου.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η ψωρίαση χαρακτηρίζεται ως μία κοινή, χρόνια, φλεγμονώδης, αυτοάνοση δερματική νόσος με διαφορετικούς κλινικούς φαινοτύπους. Η παθογένειά της οφείλεται σε συνδυασμό γενετικών, ανοσολογικών και περιβαλλοντικών παραγόντων. Μεταξύ των περιβαλλοντικών παραγόντων που έχουν μελετηθεί για την παθογένεια της ψωρίασης ιδιαίτερη έμφαση έχει δοθεί στις ιογενείς λοιμώξεις. Μεταξύ των ιικών παθογόνων, ο ανθρώπινος κυτταρομεγαλοϊός (HCMV) θεωρείται πιθανός παράγοντας πυροδότησης της ασθένειας. Ωστόσο, μέχρι σήμερα, καμία αναλυτική μελέτη χυμικής ανοσίας έναντι των ανοσοεπικρατούντων αντιγόνων του ιού δεν έχει πραγματοποιηθεί. Η παρούσα πτυχιακή εργασία αποτελεί την πρώτη προσπάθεια συστηματικής μελέτης των ανοσιακών αποκρίσεων έναντι των κύριων ανοσοεπικρατούντων αντιγόνων του HCMV σε ασθενείς με ψωρίαση. Η αντίγνωση των αντισωμάτων έναντι των αντιγόνων του HCMV έγινε με τη μέθοδο της ανοσοαποτύπωσης κατά Western (Western blot) σε ορούς ασθενών με ψωρίαση και υγιών μαρτύρων, μετά από απομόνωση του ολικού περιφερικού αίματος. Οι κύριες πρωτεΐνες του HCMV που μελετήθηκαν είναι οι UL57, UL83, UL44, UL55, UL99 και p38, οι οποίες αποτελούν και τα κύρια αντιγόνα του ιού. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι αντισώματα έναντι των αντιγόνων UL57 και UL83 είναι λιγότερο συχνά στους ασθενείς με ψωρίαση σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες, προτείνοντας ένα πιθανό προστατευτικό ρόλο του ιού στην ψωρίαση.

**Λέξεις κλειδιά:** ψωρίαση, HCMV, αντισώματα, αντιγόνα, ανοσοαποτύπωση

## **ABSTRACT**

Psoriasis is a common chronic autoimmune inflammatory skin disease with a spectrum of clinical phenotypes and results from the interplay of genetic, immunological and environmental factors. Amongst the environmental factors that have been studied for psoriasis pathogenesis, several studies have emphasized in viral infections. Amongst various pathogens, human cytomegalovirus (HCMV) has been considered a likely trigger of psoriasis. However, a comprehensive analysis of antibody reactivity against all immunodominant HCMV antigens has not been performed yet. This work is the first attempt to systematically investigate humoral immune responses against the major immunodominant HCMV antigens in patients with psoriasis. Antibodies against HCMV antigens were detected by Western Blot in serum samples of patients with psoriasis and healthy controls. The major HCMV proteins that studied were UL57, UL83, UL44, UL55, UL99 and p38 which are also the major antigens of HCMV. The results of this study showed that antibodies against UL57 and UL83 antigens are less frequent in patients with psoriasis compared to healthy controls, suggesting a potential protective role of HCMV infection in psoriasis.

**Keywords:** psoriasis, HCMV, antibodies, antigens, immunoblotting

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ .....	3
ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....	5
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ .....	7
ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ.....	9
1. Εισαγωγή.....	12
1.1 Ανοσοποιητικό σύστημα.....	12
1.1.1 Φυσική ανοσία.....	12
1.1.2 Επίκτητη ανοσία.....	12
1.2 Αυτοανοσία - Αυτοάνοσα νοσήματα .....	13
1.2.1 Ιοί και αυτοάνοσα νοσήματα.....	13
1.3 Ψωρίαση.....	14
1.3.1 Ιστορία της ψωρίασης .....	14
1.3.2 Κλινικές μορφές ψωρίασης .....	16
1.3.3 Επιδημιολογία .....	18
1.3.4 Διάγνωση της ψωρίασης .....	19
1.3.5 Ιστοπαθολογική εικόνα της ψωρίασης.....	22
1.3.6 Συννοσηρότητες στην ψωρίαση .....	23
1.3.7 Αιτιοπαθογένεια της ψωρίασης.....	26
1.3.8 Ανοσολογικό υπόβαθρο .....	32
1.3.9 Θεραπεία της ψωρίασης.....	34
1.4 Ανθρώπινος κυτταρομεγαλοϊός.....	40
1.4.1 Επιδημιολογία .....	40
1.4.2 Δομή του ιού.....	41
1.4.3 Δομή του γονιδιώματος.....	41
1.4.4 Λοίμωξη από HCMV .....	42
1.4.5 Είσοδος του ιού στο κύτταρο .....	42
1.4.6 Κύκλος ζωής του HCMV στο ανθρώπινο κύτταρο – Λυτική κατάσταση .....	43
1.4.7 Λανθάνουσα κατάσταση .....	43
1.4.8 Ανοσολογική απόκριση έναντι του HCMV .....	44
1.4.9 Εκδήλωση συμπτωμάτων .....	46
1.4.10 Θεραπεία της λοίμωξης από HCMV .....	47

1.5 HCMV και αυτοάνοσα νοσήματα.....	47
1.5.1 Μηχανισμοί της HCMV-επαγόμενης αυτοανοσίας .....	48
1.6 HCMV και ψωρίαση .....	49
1.7 Σκοπός της εργασίας .....	51
2. Υλικά και μέθοδοι.....	52
2.1 Υλικά.....	52
2.1.1 Πλαστικά και αναλώσιμα.....	52
2.1.2 Μηχανήματα και εργαλεία .....	52
2.1.3 Εμπορικά διαθέσιμες δοκιμασίες (kit) .....	53
2.1.4 Εμπορικά διαθέσιμα αντιδραστήρια.....	53
2.1.5 Βιολογικό υλικό ασθενών με ψωρίαση και υγιών μαρτύρων .....	53
2.2 Μέθοδοι.....	55
2.2.1 Διαχωρισμός παραγώγων αίματος σε φικόλη και κρυοαποθήκευση μονοπύρηνων κυττάρων του περιφερικού αίματος .....	55
2.2.2 Ανοσοαποτύπωση πρωτεϊνών κατά Western (Western blotting).....	56
2.2.3 Στατιστική ανάλυση .....	60
3. Αποτελέσματα.....	62
3.1 Χαρακτηριστικά των ασθενών .....	62
3.2 IgG αντι-HCMV αντισώματα σε ασθενείς με Ps και HC.....	63
3.3 Συχνότητες IgG αντιγονοειδικών HCMV αντισωμάτων σε ασθενείς με Ps και HC .....	64
3.4 Τίτλοι IgG αντιγονοειδικών αντισωμάτων σε ασθενείς με Ps και HC.....	71
3.5 Συσχετίσεις των αντιγονοειδικών HCMV ανοσολογικών αποκρίσεων.....	73
4. Συζήτηση.....	75
5. Βιβλιογραφία.....	78



## **ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ**

Ps: Psoriasis

HCMV: Human Cytomegalovirus

HC: Healthy Controls

TCR: T Cell Receptor

APCs: Antigen Presenting Cells

MHC: Major Histocompatibility Complex

HLA: Human Leukocyte Antigen

PASI: Psoriasis Area and Severity Index

BSA: Body Surface Area

DLQI: Dermatology Life Quality Index

NAFLD: Non Alcoholic Fatty Liver Disease

CCHCR1: Coiled-Coil alpha-Helical Rod protein 1

CDSN: corneodesmosin

CARD14: Caspase Recruitment Domain-containing protein 14

IL: Interleukin

EDC: Epidermal Differentiation Complex

IL36Ra: Interleukin 36 Receptor antagonist

NF- $\kappa$ B: Nuclear Factor – kappa light chain enhancer of activated B cells

DNA: Deoxyribonucleic acid

RNA: Ribonucleic acid

GWAS: Genome- Wide Association Studies

SNRs: Single Nucleotide Polymorphisms

Th: T helper

SFRP4: Secreted Frizzled-Related Protein 4

HATs: Histone Acetyltransferases

HDACs: Histone Deacetylases

miRNA: micro RNA

lncRNA: long non-coding RNA

HIV: Human Immunodeficiency Virus

TNF: Tumor Necrosis Factor

IFN: Interferon

pDCs: plasmacytoid Dendritic Cells

mDCs: myeloid Dendritic Cells

NKT cells: Natural Killer T cells

AMPs: Antimicrobial Peptides

PDE-4: Phosphodiesterase-4

cAMP: cyclic Adenosine Monophosphate

JAK: Janus Kinases

STAT: Signal Transducers and Activators of Transcription

NB-UVB: Narrow Band – Ultraviolet B

UVB: Ultraviolet B

PUVA: Psoralen and Ultraviolet A

IgG: Immunoglobulin G

HHV5: Human Herpesvirus 5

g: glycoprotein

UL: unique long

UL: unique short

Nrp2: Neuropilin 2

PDGFRa: Platelet-Derived Growth Factor Receptor a

IE: Immediate Early

E: Early

L: Late

TLR: Toll Like Receptor

NK cells: Natural Killer cells

SSc: Systemic sclerosis

SLE: Systemic Lupus Erythematosus

RA: Rheumatoid Arthritis

MS: Multiple Sclerosis

## **1. Εισαγωγή**

### **1.1 Ανοσοποιητικό σύστημα**

Το ανοσοποιητικό σύστημα αποτελεί ένα υψηλής προσαρμοστικότητας αμυντικό σύστημα υπεύθυνο για την προστασία έναντι παθογόνων οργανισμών ή τοξικών ουσιών, το οποίο αναπτύχθηκε από τα είδη προκειμένου να επιβιώσουν και να διαιωνιστούν. [1] Το αμυντικό αυτό σύστημα αποτελείται από μία τεράστια ποικιλία κυττάρων και μορίων τα οποία είναι υπεύθυνα για την ανάπτυξη ανοσίας έναντι των εισβολέων και η οργανωμένη αυτή απόκρισή τους είναι γνωστή ως ανοσιακή απόκριση. Η αναγνώριση των ξένων μορίων καθώς και η απόκριση και εξουδετέρωσή τους αποτελούν τις κύριες δραστηριότητες του ανοσοποιητικού συστήματος. [1,2] Το ανοσοποιητικό σύστημα αποτελείται από δύο τμήματα: την έμφυτη ή φυσική ανοσία και την επίκτητη ή προσαρμοστική ανοσία τα οποία συνεργάζονται μεταξύ τους.[1,3]

#### **1.1.1 Φυσική ανοσία**

Η φυσική ανοσία αποτελεί την πρώτη γραμμή άμυνας έναντι των εισβολέων. Πρόκειται για ένα εξελικτικά παλαιότερο αμυντικό σύστημα που βρίσκεται σε όλα τα ζώα και τα φυτά. Παρέχει μία αρκετά γρήγορη αντίδραση, δεν επιτρέπει όμως την απόκτηση μνήμης του οργανισμού ως προς συγκεκριμένο παθογόνο. [2] Περιλαμβάνει ενδογενείς μοριακούς και κυτταρικούς μηχανισμούς, φυσικούς και χημικούς φραγμούς έναντι μολύνσεων καθώς και υποδοχείς που κωδικοποιούνται από το DNA και μπορούν να αναγνωρίζουν δομικά πρότυπα κοινά μεταξύ των παθογόνων. Αυτοί κληρονομούνται από τους γονείς και αποτελούν μία άμεση και μη εξειδικευμένη απόκριση. [1,3] Κύτταρα της έμφυτης ανοσίας αποτελούν τα φαγοκύτταρα, τα ουδετερόφιλα, τα μακροφάγα, τα φυσικά φονικά κύτταρα, τα δενδριτικά κύτταρα κ.α. [2]

#### **1.1.2 Επίκτητη ανοσία**

Η επίκτητη ανοσία ενεργοποιείται από την έμφυτη και έχει ικανότητα διάκρισης ακόμη και ελάχιστων μοριακών διαφορών. Καθυστερεί να ενεργοποιηθεί αλλά χαρακτηρίζεται από μεγαλύτερη ειδικότητα και ισχυρότερες δευτερογενείς αποκρίσεις.[1,2] Παρέχει επίσης τη δυνατότητα ανοσολογικής μνήμης έναντι συγκεκριμένου παθογόνου. Αποτελεί αμυντικό σύστημα των εξελικτικά ανώτερων ζώων. [3] Η επίκτητη ανοσία διακρίνεται σε χυμική και κυτταρική [2,4]. Η χυμική ανοσία μεσολαβείται από μακρομόρια που βρίσκονται στα υγρά (χυμούς) του σώματος όπως τα αντισώματα. Η κυτταρική ανοσία ενεργοποιεί φαγοκύτταρα και αντιγονοειδικά T λεμφοκύτταρα και απελευθερώνει ποικίλες κυτταροκίνες ως απόκριση

στα αντιγόνα. [2] Τα κύτταρα της επίκτητης ανοσίας περιλαμβάνουν τα κύτταρα τελεστές των κυτταρικών ανοσιακών αποκρίσεων, δηλαδή τα T λεμφοκύτταρα, τα οποία ωριμάζουν στο θύμο αδένα και τα B λεμφοκύτταρα τα οποία, αφού διαφοροποιηθούν σε πλασματοκύτταρα, παράγουν αντισώματα και ωριμάζουν στο μυελό των οστών. [4] Τα T λεμφοκύτταρα φέρουν κατάλληλους υποδοχείς στην επιφάνειά τους, τους TCRs (T cell receptors) ώστε να αναγνωρίζουν τα αντιγόνα που βρίσκονται σε σύμπλοκο με τα μόρια MHC και παρουσιάζονται από τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (APCs). [2,4]

## **1.2 Αυτοανοσία - Αυτοάνοσα νοσήματα**

Ορισμένες φορές το ανοσοποιητικό σύστημα απορυθμίζεται και αδυνατεί να διακρίνει το εαυτό από το μη εαυτό. [1,2,5] Αποτέλεσμα αυτού είναι η διαταραχή των μηχανισμών της ανοσοανοχής και ανοσορύθμισης και η επίθεση του ανοσοποιητικού συστήματος σε ιστούς του ξενιστή, μία κατάσταση που ονομάζεται αυτοανοσία και μπορεί να οδηγήσει σε πληθώρα χρόνιων ασθενειών. [1] Το αμυντικό σύστημα στα αυτοάνοσα νοσήματα δεν είναι δυσλειτουργικό αλλά υπερδραστήριο και στρέφεται εναντίων ιστών και οργάνων. [3] Τα αυτοάνοσα νοσήματα συνιστούν μία οικογένεια που περιλαμβάνει πάνω από 80 χρόνιες νόσους.[6] Κάποια χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 1, ο συστηματικός ερυθματώδης λύκος, η πολλαπλή σκλήρυνση, η συστηματική σκλήρυνση, η ψωρίαση, η ρευματοειδής αρθρίτιδα και η αυτοάνοση ηπατίτιδα. [5] Χωρίζονται σε οργανοειδικά και μη οργανοειδικά. Τα αυτοάνοσα νοσήματα εμφανίζουν πολυπαραγοντική παθογένεια η οποία χαρακτηρίζεται από μία αλληλεπίδραση μεταξύ της απορύθμισης του ανοσοποιητικού συστήματος, γενετικής προδιάθεσης αλλά και περιβαλλοντικών παραγόντων. [1,5]

### **1.2.1 Ιοί και αυτοάνοσα νοσήματα**

Οι ιοί θεωρείται ότι είναι από τους σημαντικότερους περιβαλλοντικούς παράγοντες που μπορούν να πυροδοτήσουν την επαγωγή αυτοάνοσων φαινομένων σε άτομα με γενετική προδιάθεση. [6] Οι ιοί μετά από την προσβολή του ξενιστή αλληλεπιδρούν με το ανοσοποιητικό του σύστημα μέσω διαφορετικών μηχανισμών οι οποίοι οδηγούν στην απώλεια της ανοχής, στην παραγωγή αυτοαντισωμάτων και αντιγονοειδικής T λεμφοκυτταρικής απόκρισης και σταδιακά στην εμφάνιση της αυτοάνοσης ασθένειας. [7] Οι μηχανισμοί οι οποίοι μπορούν να ενεργοποιήσουν την επαγόμενη από ιική λοίμωξη αυτοανοσία περιλαμβάνουν μεταξύ άλλων, τη μοριακή μίμηση (molecular mimicry), την επέκταση επιτόπων (epitope spreading) και την ενεργοποίηση παρακείμενων κυττάρων (bystander activation). Πιο αναλυτικά, κάθε μηχανισμός λειτουργεί ως εξής: [6]

Μοριακή μίμηση: Οι ιοί φέρουν αντιγόνα που εμφανίζουν δομική και αντιγονική ομοιότητα με αυτοαντιγονικούς επίτοπους είτε σε Β είτε σε Τ λεμφοκυτταρικό επίπεδο. Η παρουσίαση αυτών από τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (APCs) ενεργοποιεί τα αυτοδραστικά Τ και Β λεμφοκύτταρα οδηγώντας σε μία διασταυρούμενη αντιδραστικότητα μεταξύ εαυτών και μη αντιγόνων με αποτέλεσμα να ακολουθεί καταστροφή του ιστού.

Ενεργοποίηση παρακείμενων κυττάρων: Η μη ειδική και υπερδραστική αντι-ικκή ανοσιακή απόκριση δημιουργεί ένα τοπικό φλεγμονώδες περιβάλλον με την απελευθέρωση κυτταροκινών μαζί με την απελευθέρωση αυτό-αντιγόνων από τον κατεστραμμένο ιστό. Τα αυτό-αντιγόνα αυτά παρουσιάζονται από τα APCs και ενεργοποιούν τα αυτοδραστικά Τ λεμφοκύτταρα στη γύρω περιοχή, επάγοντας αυτοανοσία.

Επέκταση επιτόπων: Η επίμονη ιική λοίμωξη προκαλεί παρατεταμένη ιστική βλάβη και απελευθέρωση νέων αυτό-αντιγόνων. Η παρουσίασή τους ενεργοποιεί τα αυτοδραστικά Τ λεμφοκύτταρα. Ωστόσο, εδώ παρατηρείται μη ειδική ενεργοποίηση και άλλων αυτοδραστικών Τ κυττάρων, τα οποία εξαπλώνονται στοχεύοντας επιπλέον εαυτούς επίτοπους οδηγώντας τελικά σε αυτοανοσία. [6]

### **1.3 Ψωρίαση**

Η ψωρίαση είναι μία κοινή, χρόνια, φλεγμονώδης δερματική νόσος η οποία οφείλεται τόσο σε γενετικούς όσο και σε περιβαλλοντικούς και ανοσολογικούς παράγοντες. [8,9] Μπορεί να εμφανιστεί σε οποιαδήποτε ηλικία και προσβάλλει εξίσου και τα δύο φύλα. [8,11] Η νόσος χαρακτηρίζεται από την εμφάνιση ψωριασικών πλακών στο δέρμα ως αποτέλεσμα εκτεταμένου πολλαπλασιασμού και ανώμαλης διαφοροποίησης των κερατινοκυττάρων. [13,14] Πρόκειται για σαφώς περιγεγραμμένες, αυστηρά καθορισμένες από το υγιές δέρμα, ερυθριματώδεις πλάκες οι οποίες καλύπτονται με αργυρόχροα, ξηρά λέπια. [12-14] Κατανέμονται συνήθως συμμετρικά στο κρανίο, στα γόνατα και στους αγκώνες αλλά μπορούν να καλύψουν και μεγαλύτερη έκταση του σώματος. [10,12,14] Μπορούν να ποικίλουν σε μορφολογία, κατανομή και σοβαρότητα προκαλώντας συχνά στους ασθενείς έντονο κνησμό και αίσθημα καύσους.[12]

#### **1.3.1 Ιστορία της ψωρίασης**

Η ψωρίαση είναι μία ασθένεια που υπάρχει εδώ και χιλιάδες χρόνια. Η ιστορία της ξεκινά κατά τους αρχαίους χρόνους όταν η ψωρίαση, η λέπρα και άλλες φλεγμονώδεις δερματοπάθειες συγχέονταν, δεν υπήρχε διάκριση μεταξύ τους και θεωρείτο ότι πρόκειται για μία κοινή ασθένεια. Στην Αρχαία Ελλάδα, ο Ιπποκράτης (460-377 π.Χ.) ήταν ο πρώτος που

περιέγραψε της δερματικές διαταραχές, αναφερόμενος σε ξηρές, απολεπιστικές δερματοπάθειες. [15-17] Αξίζει να αναφερθεί ότι ο όρος ψωρίαση προέρχεται από την αρχαία ελληνική λέξη «ψώρας», που σημαίνει λέπι. [15] Παρομοίως, και στην Παλαιά Διαθήκη υπάρχουν αναφορές για δερματοπάθειες συμπεριλαμβανόμενων και των λέπρα και ψωρίαση. Οι ασθενείς εξοστρακίζονταν από την κοινωνία καθώς η πάθησή τους θεωρούνταν θεική τιμωρία και αντιμετωπίζονταν με σκληρότητα εξαιτίας του φόβου, της άγνοιας και της προκατάληψης. [15-17]

Ο Ρωμαίος Cornelius Celsus (25 π.Χ.-45 μ.Χ.) έδωσε την πρώτη κλινική περιγραφή της ασθένειας. Ο Celsus περιέγραψε μία δερματική κατάσταση η οποία χαρακτηριζόταν από κόκκινο δέρμα καλυμμένο με λέπια, εμφανιζόταν στο δέρμα των άκρων και επηρέαζε και τα νύχια. Δεν χρησιμοποίησε όμως τον όρο ψωρίαση αλλά την ονόμασε κηρίο (*impetigo*). [16-18]

Ο Γαληνός της Περγάμου (133-200 μ.Χ.) ήταν ο πρώτος που χρησιμοποίησε τον όρο ψωρίαση, όμως δεν αναφερόταν στην ψωρίαση της κλινικής εικόνας την οποία ξέρουμε σήμερα αλλά πιθανότατα στη σημηματοροϊκή δερματίτιδα. [16,18]

Την περίοδο της Αναγέννησης ο Hieronimus Mercurialis (1530-1606 μ.Χ.) έγραψε ένα βιβλίο καταγράφοντας ασθένειες του δέρματος στο οποίο περιέγραψε και την ψωρίαση με τον όρο «*lepra grecorum*». [18]

Στις αρχές του 19<sup>ου</sup> αιώνα και συγκεκριμένα το 1809, ένας Άγγλος γιατρός, ο Robert Willan, περιέγραψε την ψωρίαση όπως τη γνωρίζουμε σήμερα. Περιέγραψε μεγάλες, αυστηρά καθορισμένες, ερυθρηματώδεις πλάκες με αργυρόχροα λέπια που εμφανίζονταν συχνότερα στα γόνατα και σχετίζονταν και με τρύπες στα νύχια, δίνοντας έτσι μία καθαρή περιγραφή των κλινικών χαρακτηριστικών των διαφόρων τύπων της ψωρίασης. Χρησιμοποιώντας όμως τον όρο «*lepra vulgaris*», διατήρησε τη σύγχυση μεταξύ ψωρίασης και λέπρας. [15-18] Ωστόσο, το 1841, ο Ferdinand von Hebra (1816-1880 μ.Χ.), καθιέρωσε τον όρο ψωρίαση για την ασθένεια και τη διαχώρισε κλινικά από τη λέπρα. [15-18] Επιπλέον, αρκετοί ερευνητές περιέγραψαν σημάδια τα οποία θα μπορούσαν να είναι χρήσιμα για τη διάγνωση της ασθένειας. Αναλυτικότερα, ο Heinrich Auspitz (1835-1886 μ.Χ.) παρατήρησε μικρά σημεία αιμορραγίας όταν αφαιρούσε τα λέπια από τις πλάκες των ασθενών. Σήμερα, αναφερόμαστε σε αυτά σαν σημάδια του Auspitz. Το 1876, ο Heinrich Köbner (1838-1904) περιέγραψε την τάση των ψωριασικών κακώσεων να εμφανίζονται σε περιοχές που είχαν προηγουμένως τραυματιστεί. Το φαινόμενο Köbner αποτελεί χαρακτηριστικό φαινόμενο της

ψωρίασης. Δύο δεκαετίες αργότερα, ο William J. Munro, περιέγραψε μικροαποστήματα στην ψωρίαση, γνωστά σήμερα ως μικροαποστήματα Munro. Και τα τρία αυτά φαινόμενα, αποτελούν σήμερα χαρακτηριστικά για τη διάγνωση της ψωρίασης. [16-18]

Στις αρχές του 20<sup>ου</sup> αιώνα, ακολούθησαν περισσότερες περιγραφές των ψωριασικών κακώσεων ρίχνοντας φως στους διάφορους τύπους ψωρίασης. Το 1910, ο Leo von Zumbusch περιέγραψε τη γενικευμένη φλυκταινώδη ψωρίαση, ενώ το 1926 ο Woronoff περιέγραψε μία υπόλευκη άλω γύρω από την ψωριασική πλάκα, γνωστή σήμερα ως άλως του Woronoff. [16-18]

Σήμερα η ψωρίαση αποτελεί μία καλά καθορισμένη δερματοπάθεια στην αιτιοπαθογένεια της οποίας συμμετέχουν γενετικοί, περιβαλλοντικοί και ανοσολογικοί παράγοντες. [18]

### **1.3.2 Κλινικές μορφές ψωρίασης**

Οι κλινικές εκδηλώσεις της νόσου ποικίλλουν και διαφέρουν από ασθενή σε ασθενή. Υπάρχουν έξι καλά χαρακτηρισμένες μορφές ψωρίασης οι οποίες είναι οι εξής:

Ψωρίαση κατά πλάκας (ψωρίαση vulgaris): Αποτελεί την πιο συχνή μορφή της νόσου και συναντάται στο 90% των περιπτώσεων.[8-12,19,20] Χαρακτηρίζεται από σαφώς περιγεγραμμένες, αυστηρά καθορισμένες από το υγιές δέρμα, ερυθριματώδεις πλάκες οι οποίες καλύπτονται από ξηρά, αργυρόχρωα λέπια. Οι ψωριασικές πλάκες μπορούν να ποικίλουν σε σχήμα, πάχος και μέγεθος. Κατανέμονται συνήθως συμμετρικά στους αγκώνες, στα γόνατα και στο τριχωτό της κεφαλής αλλά μπορούν να καλύψουν και μεγαλύτερη επιφάνεια του σώματος.[8-11,19,20] Η αφαίρεση λεπιών από την επιφάνεια της ψωριασικής πλάκας αποκαλύπτει σημεία στικτής αιμορραγίας, γνωστά και ως σημεία του Auspitz. [19,20] Ψωριασικές πλάκες μπορούν να αναπτυχθούν και σε σημεία προηγούμενου τραυματισμού. Το φαινόμενο αυτό είναι γνωστό ως φαινόμενο Koebner. [19,20] Επιπλέον, σε κάποιες περιπτώσεις, γύρω από τις πλάκες μπορεί να παρατηρηθεί η υπόλευκη άλως του Woronoff. [12]

Σταγονοειδής ψωρίαση: Χαρακτηρίζεται από την εμφάνιση πολυάριθμων, μικρών (διαμέτρου 2-10 mm), ερυθριματωδών βλατιδών με λέπια, διάσπαρτων στον κορμό και στα άκρα του ασθενούς.[21,22] Προσβάλλει κυρίως παιδιά, εφήβους και νεαρούς ενήλικες και εκδηλώνεται συνήθως λίγες εβδομάδες μετά από στρεπτοκοκκική μόλυνση. [21,22] Η μορφή αυτή της ψωρίασης συνήθως υποχωρεί μετά από μερικές εβδομάδες ή μήνες ωστόσο σε ένα ποσοστό ασθενών εξελίσσεται σε χρόνια ψωρίαση κατά πλάκας.[21]



Ανάστροφη ψωρίαση (ψωρίαση των πτυχών): Εμφανίζεται κυρίως στις πτυχώσεις του σώματος. [23] Συγκεκριμένα, οι κακώσεις μπορούν να εντοπιστούν στις μασχάλες, κάτω από τους μαστούς, στην κοιλιακή περιοχή, στις βουβωνικές πτυχώσεις, τις ιγνυακές περιοχές και τις καμπτικές επιφάνειες των άκρων. [23] Οι βλάβες είναι κόκκινου χρώματος και η επιφάνειά τους είναι υγρή, λεία και λαμπερή ενώ δεν περιέχει λέπια. [19,23]

Ερυθροδερμική ψωρίαση: Αποτελεί μία σοβαρή, απειλητική για τη ζωή του ασθενούς μορφή ψωρίασης που χρήζει άμεσης αντιμετώπισης. [8,24] Χαρακτηρίζεται από ερυθρηματώδες εξάνθημα και απολέπιση που καταλαμβάνει το 75-90% της επιφάνειας του σώματος.[8,11,24] Το άτομο εμφανίζει επίσης πυρετό, ρίγη, κνησμό, αφυδάτωση, κόπωση και δυσφορία, υπολευκωματιναιμία, ανισορροπία ηλεκτρολυτών.[8,10,11,24] Επιπλέον, επηρεάζεται η θερμορυθμιστική ικανότητα του δέρματος και το άτομο μπορεί να εκδηλώσει υποθερμία ενώ επιβαρύνεται σημαντικά το καρδιαγγειακό σύστημα. [10-12]

Φλυκταινώδης ψωρίαση: Αποτελεί μία σπάνια και μορφολογικά διακριτή μορφή ψωρίασης. [8] Χαρακτηρίζεται από την διήθηση ουδετερόφιλων στην επιδερμίδα με αποτέλεσμα τον σχηματισμό πολλαπλών, στείρων φλυκταινών σε ερυθρηματώδες δέρμα. [25-27] Διακρίνεται σε γενικευμένη φλυκταινώδη ψωρίαση και εντοπισμένη φλυκταινώδη ψωρίαση.[9, 25-27] Η γενικευμένη φλυκταινώδης ψωρίαση (Νόσος του von Zumbusch) είναι μία σπάνια μορφή και αποτελεί μια νόσο σε έξαρση. Ο ασθενής εμφανίζει εκτεταμένο δερματικό εξάνθημα το οποίο καλύπτεται από ασηπτικές φλύκταινες και συνοδεύεται από συστηματικά συμπτώματα όπως πυρετό, αδυναμία, κόπωση, μυαλγία, αρθραλγία. Πρόκειται για μία σοβαρή, απειλητική για τη ζωή του ασθενούς κατάσταση με αποτέλεσμα να απαιτείται ιατρική περίθαλψη και στενή παρακολούθηση. [19,25,27] Η εντοπισμένη μορφή της νόσου διακρίνεται περαιτέρω σε: παλαμοπελματιαία φλυκταινώδη ψωρίαση και συνεχής ακροδερματίτιδα του Hallopeau. [19,27] Και οι δύο επηρεάζουν τα χέρια και τα πόδια. Η παλαμοπελματιαία φλυκταινώδης ψωρίαση περιορίζεται στις παλάμες και στα πέλματα ενώ η συνεχής ακροδερματίτιδα του Hallopeau εντοπίζεται πιο περιφερειακά στα άκρα των δακτύλων, και επηρεάζει τα νύχια. [9,19] Η παλαμοπελματιαία φλυκταινώδης ψωρίαση χαρακτηρίζεται από την εμφάνιση καφεκίτρινων, στείρων φλυκταινών σε ερυθρό και λεπιδώδες δέρμα στις παλάμες και στα πέλματα.[11,12,19,25] Εκδηλώνεται συνήθως μετά την 4<sup>η</sup> και 5<sup>η</sup> δεκαετία της ζωής και φαίνεται να προσβάλλει συχνότερα τις γυναίκες. Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί ισχυρή συσχέτιση με το κάπνισμα. [10,12] Η συνεχής ακροδερματίτιδα του Hallopeau χαρακτηρίζεται από έξαρση φλυκταινιδίων στα δάκτυλα χεριών και ποδιών. Ακολουθεί προοδευτική καταστροφή των νυχιών, με ή χωρίς διάβρωση των οστών. [19,25]

Ψωρίαση των ονύχων: Η ψωριασική ονυχία εμφανίζεται στο 50% των ασθενών με ψωρίαση κατά πλάκας [28] ενώ υπάρχει ισχυρή συσχέτιση και με την ψωριασική αρθρίτιδα. [29] Παρατηρούνται βοθρία στα νύχια, καφεκίτρινες κηλίδες (σταγόνες ελαίου), λευκονυχία, ονυχόλυση, ονυχοδυστροφία και υπονύχια υπερκεράτωση.[28,29]

### 1.3.3 Επιδημιολογία

Η ψωρίαση είναι μια δερματική πάθηση που επηρεάζει το 1-3% του παγκόσμιου πληθυσμού, ποσοστό που αντιστοιχεί σε περίπου 125 εκατομμύρια άτομα.[33, 34] Ενδεικτικά ποσοστά επιπολασμού διάφορων χωρών είναι τα εξής: Νιγηρία <0,1%, Σρι Λάνκα 0,4%, Νορβηγία 1,4-4,8%, Ιταλία 2,9%, Ηνωμένο Βασίλειο 1,5%, Δανία 2,8%. [35] Στην Ινδία και σε χώρες τις Ασίας τα ποσοστά κυμαίνονται από 0 έως <0,5%. [36] Η ποικιλομορφία που παρατηρείται στα ποσοστά επιπολασμού μεταξύ των διάφορων χωρών φαίνεται να οφείλεται σε διάφορους παράγοντες όπως το φύλο, η ηλικία, η γεωγραφική κατανομή και η εθνικότητα, πιθανότατα λόγω του διαφορετικού γενετικού υπόβαθρου και περιβάλλοντος. [32] Συγκεκριμένα, φαίνεται πως όσο αυξάνεται η απόσταση από τον ισημερινό αυξάνεται και ο επιπολασμός της ψωρίασης, με τους πληθυσμούς που εντοπίζονται κοντά στον ισημερινό (Αίγυπτος, Ταϊβάν) να επηρεάζονται λιγότερο από την ψωρίαση συγκριτικά με χώρες που απέχουν από αυτόν (Ευρώπη), ενώ υψηλότερα ποσοστά παρατηρούνται στους Καυκάσιους πληθυσμούς συγκριτικά με άλλες εθνικές ομάδες. [32,35,36] Το φαινόμενο αυτό θα μπορούσε να συσχετιστεί με την έκθεση στην UV ακτινοβολία η οποία είναι γνωστό ότι μπορεί να βελτιώσει κλινικά την ψωρίαση. Πιο αναλυτικά, το ποσοστό της εξωτερικής έκθεσης και ο αριθμός των ηλιόλουστων ημερών σε έναν τόπο ίσως επηρεάζουν τη συχνότητα της ψωρίασης καθώς η ηλιακή υπεριώδης ακτινοβολία ανακλάται διαφορετικά στις διαφορετικές επιφάνειες. Το χιόνι για παράδειγμα ανακλά το 80% αυτής ενώ η άμμος μόνο το 15%. [36] Επιπλέον, δεν προσβάλλονται όλες οι εθνικές ομάδες με τον ίδιο τρόπο. Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε στην Αμερική, ο επιπολασμός της ψωρίασης στους λευκούς Καυκάσιους ήταν 2,5% ενώ στους Αφροαμερικάνους 1,3%. Η διαφορά μπορεί να οφείλεται στη γενετική προδιάθεση των πληθυσμών, καθώς και στα πρότυπα μετανάστευσης καθώς οι περισσότεροι Αφροαμερικάνοι κατάγονται από τη δυτική Αφρική όπου η συχνότητα ψωρίασης είναι χαμηλή, <1% σε κράτη όπως η Γκάνα, η Νιγηρία και η Άνγκολα. [36] Επίσης, υπάρχουν και πληθυσμοί που δεν πάσχουν καθόλου από ψωρίαση, όπως είναι οι Σαμόα όπου το ποσοστό είναι 0%, ενώ άλλοι πληθυσμοί, όπως οι Καζακστάνοι της Αρκτικής εμφανίζουν εξαιρετικά υψηλό ποσοστό (11,8%). [35-37]

Η ασθένεια εμφανίζεται πιο συχνά σε ενήλικες από ότι σε παιδιά. Στους ενήλικες, η επίπτωση της νόσου ποικίλει από 30,3/100000 άτομα το χρόνο στην Ταϊβάν σε 321/100000 άτομα το χρόνο στην Ιταλία. Η επίπτωση στα παιδιά αυξάνεται με την ηλικία από 13,5/100000 (0-3 ετών) σε 53,1/100000 (14-18 ετών).[38]

Η ψωρίαση προσβάλλει εξίσου άντρες και γυναίκες, με μέση ηλικία εμφάνισης τα 33 έτη. [8,10] Μελέτη αναφέρει ωστόσο ότι η ψωρίαση είναι πιο συχνή στις γυναίκες κάτω των 18 ετών ενώ είναι λίγο πιο συχνή στους άνδρες ηλικίας από 18 ετών και άνω. [32] Η έναρξη της νόσου μπορεί να συμβεί σε οποιαδήποτε ηλικία. [8] Στο 75% των περιπτώσεων, η νόσος ξεκινά πριν την ηλικία των 40 ετών, ενώ στις γυναίκες εμφανίζεται νωρίτερα από ότι στους άνδρες.[8,10] Ωστόσο, η ηλικία της πρώτης εμφάνισης της νόσου παρουσιάζει διπολική αιχμή.[8,12] Πιο αναλυτικά, μετά από έρευνα που πραγματοποιήθηκε σε 2147 ασθενείς με ψωρίαση από τους Henseler και Christophers [31], καταγράφηκαν δύο τύποι ψωρίασης σύμφωνα με την ηλικία έναρξης της νόσου. [12]

Ψωρίαση τύπου I: Πρώιμη έναρξη, πριν από την ηλικία των 40 ετών. Υπάρχει ισχυρή συσχέτιση με τα γονίδια HLA. [30] Αφορά κυρίως νεαρούς ενήλικες με οικογενειακό ιστορικό ψωρίασης οι οποίοι εμφανίζουν και σοβαρότερη κλινική εκδήλωση της νόσου. [11,12]

Ψωρίαση τύπου II: Καθυστερημένη έναρξη, μετά την ηλικία των 40 ετών. Δεν υπάρχει συσχέτιση με τα γονίδια HLA. [30] Αφορά κυρίως ασθενείς ηλικίας 50-60 ετών, χωρίς οικογενειακό ιστορικό ψωρίασης και ήπια κλινική εκδήλωση της νόσου. [11,12]

### **1.3.4 Διάγνωση της ψωρίασης**

Η διάγνωση της ψωρίασης πραγματοποιείται μέσω της κλινικής εξέτασης του ασθενούς.[39,40] Απαιτείται ενδελεχής έλεγχος του δέρματος σε όλες τις περιοχές που προσβάλλονται από τη νόσο.[8,11] Οι περιοχές των γεννητικών οργάνων πρέπει να ελέγχονται επίσης καθώς πολλές φορές, οι ασθενείς λόγω ντροπής και αμηχανίας αποφεύγουν να αναφέρουν τα συμπτώματα που εμφανίζουν στις περιοχές αυτές.[8] Ο γιατρός ελέγχει τη μορφολογία και την κατανομή των ψωριασικών κακώσεων στο δέρμα. [8,11] Η διάγνωση μπορεί να επιβεβαιωθεί και από το σημάδι του Auspitz ή το φαινόμενο Koebner. Το σημάδι του Auspitz συμβαίνει όταν πέφτουν τα λέπια από την πλάκα με αποτέλεσμα να προκύπτουν πολλαπλά σημεία αιμορραγικής στίξης. Το φαινόμενο Koebner σχετίζεται με την εμφάνιση ψωριασικών πλακών σε υγιές δέρμα που είχε προηγουμένως τραυματιστεί. [11] Η βιοψία δέρματος απαιτείται σπάνια, κυρίως όταν υπάρχει αμφιβολία για τη διάγνωση. [39,40]

Απαραίτητη είναι και η λήψη του ιστορικού του ασθενούς το οποίο θα πρέπει να περιλαμβάνει λεπτομέρειες για το αν υπάρχει οικογενειακό ιστορικό ψωρίασης καθώς και για πιθανούς παράγοντες πυροδότησης της νόσου όπως μολύνσεις ή νέα φάρμακα αλλά και για το πότε παρατηρήθηκαν τα πρώτα συμπτώματα. Επίσης πρέπει να εξετάζονται τα νύχια και οι αρθρώσεις καθώς το 30% των ασθενών με ψωρίαση αναπτύσσουν ψωριασική αρθρίτιδα, η οποία συνήθως δεν διαγιγνώσκεται εγκαίρως. [8,11,40]

Το δέρμα θα πρέπει να ελέγχεται προσεκτικά καθώς η λίστα της διαφοροδιάγνωσης για την ψωρίαση είναι μεγάλη και περιλαμβάνει φλεγμονώδεις, μολυσματικές και νεοπλασματικές καταστάσεις που μιμούνται τη βλατιδολεπιδώδη εικόνα. Παραδείγματα τέτοιων ασθενειών αποτελούν η ροδόχρους πιτυρίαση, το έκζεμα, η σημηματορροϊκή δερματίτιδα, η σύφιλη, το λέμφωμα T-κυττάρων, ο ομαλός λειχήνας και ο συστηματικός ερυθρηματώδης λύκος. [8,39,40]

Για την αξιολόγηση της σοβαρότητας της κατάστασης και την επιλογή στη συνέχεια της κατάλληλης θεραπείας χρησιμοποιούνται ορισμένοι κλινικοί δείκτες.[11] Η ψωρίαση ταξινομείται σε ήπια, μέτρια και σοβαρή ανάλογα με τη βαρύτητά της. [39] Οι δείκτες που χρησιμοποιούνται συνήθως είναι οι: Psoriasis Area and Severity Index (PASI), Body Surface Area (BSA) και Dermatology Life Quality Index (DLQI). [41,42,44]

**Body Surface Area (BSA):** Προσδιορίζει την προσβεβλημένη επιφάνεια του σώματος. Η πιο κοινή μέθοδος για την εκτίμηση του BSA, είναι με ολόκληρη την παλάμη του ασθενούς όπου ισχύει η σχέση: 1 παλάμη=1% της συνολικής επιφάνειας σώματος. Οι τιμές του δείκτη κυμαίνονται από 0 έως 100%. Στον Πίνακα 1, φαίνεται πως αξιολογείται η νόσος με βάση τον δείκτη BSA.[11,39]

**Πίνακας 1.** Αξιολόγηση της βαρύτητας στην ψωρίαση, σύμφωνα με το δείκτη BSA

<b>Σοβαρότητα</b>	<b>Ποσοστό</b>
Ήπια	<3% BSA, Ελάχιστη η επίδραση της νόσου στη ζωή του ασθενούς. Αντιμετώπιση με τοπική θεραπεία.
Μέτρια	3%-10% BSA, Υπάρχει επίπτωση στη ζωή των ασθενών. Η νόσος είναι έως ένα βαθμό ελεγχόμενη.
Σοβαρή	>10% BSA, Επηρεάζεται σημαντικά η ποιότητα

	ζωής των ασθενών. Απαιτούνται συστηματικές θεραπείες.
--	--

Psoriasis Area and Severity Index (PASI): Αποτελεί την πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη κλίμακα για την αξιολόγηση της ψωρίασης. [41] Το PASI score υπολογίζεται με βάση την έκταση της επιφάνειας του σώματος που έχει προσβληθεί, το πάχος των πλακών, το ερύθημα και την απολέπιση. [11,40,42,44] Για τον υπολογισμό του PASI τέσσερις περιοχές του σώματος ελέγχονται: το κεφάλι, ο κορμός, τα άνω άκρα και τα κάτω άκρα, αντιστοιχώντας στο 10%, 20%, 30% και 40% της συνολικής επιφάνειας του σώματος αντίστοιχα. Η περιοχή που εμφανίζει ψωρίαση σε αυτές τις τέσσερις κύριες περιοχές (Ah, At, Au, Al) λαμβάνει μία αριθμητική τιμή: 0=καμία εμπλοκή, 1=<10%, 2=10<30%, 3=30<50%, 4=50<70%, 5=70<90%, 6=90-100%. [42] Επίσης για να αξιολογηθεί η σοβαρότητα της ψωριασικής κάκωσης, το ερύθημα, το πάχος και η απολέπιση βαθμολογούνται σε μία κλίμακα από 0-4 όπου το 0 δηλώνει ότι δεν υπάρχει εμφάνιση αυτού ενώ το 4 δηλώνει μέγιστη σοβαρότητα. [11,42] Οι τιμές PASI κυμαίνονται από 0 έως 72, αυξάνοντας κατά 0,1. [41-43] Το PASI συνήθως χρησιμοποιείται σαν ποσοστό απόκρισης στη θεραπεία, με το PASI90 να αποτελεί κοινό στόχο. Αυτό ουσιαστικά σημαίνει 90% μείωση της σοβαρότητας της νόσου σε διάστημα τριών μηνών από όταν ξεκίνησε ο ασθενής τη θεραπεία. [42]

Dermatology Life Quality Index (DLQI): Με το δείκτη αυτό μετράται η επίπτωση της νόσου στην ποιότητα ζωής του ασθενούς. Υπολογίζεται με τη βοήθεια ενός ερωτηματολογίου που συμπληρώνει ο ασθενής, το οποίο περιλαμβάνει δέκα ερωτήσεις που σχετίζονται με τα συμπτώματα και τα συναισθήματά του, τις καθημερινές δραστηριότητες, τον ελεύθερο χρόνο ψυχαγωγίας, τις προσωπικές του σχέσεις και τη θεραπεία που λαμβάνει. Οι τιμές του δείκτη κυμαίνονται από 0 μέχρι 30, με την τιμή τριάντα να δείχνει την μέγιστη επίπτωση της νόσου στην ποιότητα ζωής του ασθενούς. [42]

Σύμφωνα με τους παραπάνω δείκτες, οι ασθενείς κατηγοριοποιούνται σε δύο ομάδες: σε αυτούς που εκδηλώνουν ήπια ψωρίαση και σε αυτούς που εκδηλώνουν μέτρια-σοβαρή ψωρίαση. Στον Πίνακα 2, φαίνονται τα κριτήρια που πρέπει να πληρούνται για την ομαδοποίηση αυτή. [41,44]

**Πίνακας 2.** Εκτίμηση της σοβαρότητας της ψωρίασης

<b>Βαρύτητα</b>	<b>Κριτήρια</b>
Ήπια ψωρίαση	$BSA \leq 10$ και $PASI \leq 10$ και $DLQI \leq 10$
Μέτρια-Σοβαρή ψωρίαση	$BSA > 10$ ή $PASI > 10$ και $DLQI > 10$

Ωστόσο, πρέπει να επισημανθεί ότι κάποια κλινικά χαρακτηριστικά που μπορεί να εμφανίζει ο ασθενής, όπως αν υπάρχουν κακώσεις σε ορατές περιοχές του σώματος όπως είναι το πρόσωπο και το αν υπάρχει σοβαρή προσβολή των ονύχων, μπορούν αλλάξουν την κατηγοριοποίηση της νόσου από ήπια σε μέτρια/σοβαρή. [44]

### **1.3.5 Ιστοπαθολογική εικόνα της ψωρίασης**

Η ψωρίαση είναι μία δερματοπάθεια που εμφανίζει χαρακτηριστικές ιστοπαθολογικές αλλαγές κατά την εξέλιξη των ψωριασικών πλακών. Η νόσος έχει τρία κύρια ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά: επιδερμική υπερπλασία, διεσταλμένα και με συστροφή προεξέχοντα αιμοφόρα αγγεία (αύξηση του μεγέθους και του αριθμού τους) στο χόριο και φλεγμονώδη διήθηση των T-λεμφοκυττάρων, ουδετερόφιλων και άλλων τύπων λευκοκυττάρων στο προσβεβλημένο δέρμα. Η ιστολογία του δέρματος που δεν φέρει ψωριασικές κακώσεις είναι φυσιολογική. [10,40,45]

Πιο αναλυτικά, η ιστολογία των πλακών χαρακτηρίζεται από εκτεταμένη επιδερμική αύξηση γνωστή ως ψωριασιόμορφη υπερπλασία. Αυτό το μοτίβο περιλαμβάνει χαρακτηριστική πάχυνση του δέρματος, φαινόμενο που ονομάζεται ακάνθωση, επιμηκυμένες καθοδικές προεκτάσεις της επιδερμίδας στο χόριο (rete pegs, θηλαίες καταδύσεις) και ανώμαλη διαφοροποίηση των κερατινοκυττάρων. [45-47] Φυσιολογικά, κατά τον κυτταρικό κύκλο των επιδερμικών κυττάρων, νέα κύτταρα σχηματίζονται στη βασική στιβάδα και μεταναστεύουν σταδιακά στην κεράτινη στιβάδα της επιδερμίδας. Καθώς τα κύτταρα μετακινούνται προς την επιφάνεια, συσσωρεύουν κερατίνη και τα οργανίδιά τους εξαφανίζονται. Μέχρι τη στιγμή που φτάνουν στην κεράτινη στιβάδα, τα κύτταρα έχουν πεθάνει και είναι γεμάτα κερατίνη. Τα επιφανειακά κύτταρα ξεφλουδίζουν, πέφτουν και αντικαθίσταται από τα παρακάτω. Ο κύκλος ζωής των κερατινοκυττάρων της επιδερμίδας φυσιολογικά διαρκεί περίπου τέσσερις εβδομάδες με τα κερατινοκύτταρα στη βασική στιβάδα να διαιρούνται μία φορά κάθε δύο εβδομάδες. Ωστόσο, στο ψωριασικό δέρμα, ο κύκλος ζωής επιταχύνεται. Η κυτταρική διαίρεση στη βασική στιβάδα συμβαίνει κάθε 1,5 μέρα, και η μετανάστευση των κερατινοκυττάρων στην κεράτινη στιβάδα συμβαίνει μέσα σε

τέσσερις μέρες περίπου. Αποτέλεσμα της ταχύτατης μετακίνησης των κερατινοκυττάρων είναι η ανώμαλη διαφοροποίηση και η ατελής ωρίμανσή τους.[48] Έτσι, τα κερατινοκύτταρα διατηρούν των πυρήνα τους (ο οποίος φυσιολογικά δεν πρέπει να υπάρχει) στην κεράτινη στιβάδα της επιδερμίδας, φαινόμενο το οποίο ονομάζεται παρακεράτωση ενώ η κοκκιώδης στιβάδα της επιδερμίδας χάνεται. Επιπρόσθετα, τα ταχύτατα πολλαπλασιαζόμενα κερατινοκύτταρα αποτυγχάνουν να εκκρίνουν λιπίδια, τα οποία φυσιολογικά βοηθούν στην προσκόλληση των κυττάρων της κεράτινης στιβάδας μεταξύ τους, με αποτέλεσμα την απόπτωσή τους με τη χαρακτηριστική μορφή των λεπιών της ψωριασικής πλάκας. Τα περιπλεγμένα και διεσταλμένα αιμοφόρα αγγεία του χόριου είναι υπεύθυνα για την ερυθρότητα των κακώσεων. Επιπλέον, μία φλεγμονώδης διήθηση διακρίνει το ψωριασικό δέρμα. [46,47] Η φλεγμονώδης διήθηση αποτελείται κυρίως από δενδριτικά κύτταρα, μακροφάγα και T-λεμφοκύτταρα στο χόριο και ουδετερόφιλα με T-λεμφοκύτταρα στην επιδερμίδα. [13,40,46,47] Η συσσώρευση των φλεγμονωδών κυττάρων μπορεί να οδηγήσει στη δημιουργία αποστημάτων κάτω από την κεράτινη στιβάδα, τα οποία είναι γνωστά ως μικροαποστήματα του Munro και αποτελούνται από πολυμορφοπύρηνα ουδετερόφιλα. Αντίστοιχες αθροίσεις ουδετερόφιλων στην ακανθωτή στιβάδα της επιδερμίδας έχουν ως αποτέλεσμα να δημιουργούνται τα σπογγιόμορφα φλυκταινίδια του Kogoj. Τα μικροαποστήματα Munro και τα φλυκταινίδια του Kogoj αποτελούν διαγνωστικά στοιχεία για την ψωρίαση, αλλά δεν είναι πάντα παρόντα στις ψωριασικές κακώσεις. [49]

### 1.3.6 Συννοσηρότητες στην ψωρίαση

Η ψωρίαση είναι μία συστηματική φλεγμονώδης νόσος και όχι μία απλή δερματοπάθεια καθώς η φλεγμονή δεν περιορίζεται μόνο στο δέρμα. Έχει συσχετιστεί με πληθώρα νοσημάτων όπως η ψωριασική αρθρίτιδα, το μεταβολικό σύνδρομο, η καρδιαγγειακή νόσος, τα φλεγμονώδη νοσήματα του εντέρου, η μη αλκοολικής αιτιολογίας λιπώδης διήθηση του ήπατος, η ραγοειδίτιδα καθώς και κακοήθειες αλλά και ψυχολογικές/ψυχιατρικές διαταραχές. Η ψωριασική αρθρίτιδα, η εντεροπαθητική αρθρίτιδα και η ραγοειδίτιδα αποτελούν εκφάνσεις της ίδιας της νόσου και της ενεργότητάς της παρά συννοσηρότητες και αντιμετωπίζονται ανάλογα. Πολλές από τις συννοσηρότητες αυτές επηρεάζουν τους ασθενείς σε μικρότερη ηλικία συγκριτικά με το γενικό πληθυσμό και μπορούν να παραμείνουν σε όλη τη διάρκεια της ζωής τους.[50]

Ψωριασική αρθρίτιδα: Η προσβολή των αρθρώσεων στην ψωρίαση οδηγεί στην ψωριασική αρθρίτιδα.[9] Εμφανίζεται στο 10-40% των ασθενών με ψωρίαση και συνήθως εκδηλώνεται μία δεκαετία μετά την έναρξη της δερματικής νόσου. [8] Παρουσιάζεται κλινικά με

δακτυλίτιδα και ενθεσίτιδα με τη μορφή ολιγοαρθρίτιδας ή πολυαρθρίτιδας.[9] Ο ασθενής εμφανίζει οίδημα, πόνο και ακαμψία των αρθρώσεων.[51] Η πολυαρθρίτιδα σχετίζεται και με ψωριασική ονυχία. [9] Η νόσος μπορεί επίσης να προσβάλλει τον αξονικό σκελετό με τη μορφή φλεγμονώδους πόνου στην πλάτη. [39] Το 15% των ασθενών με ψωριασική αρθρίτιδα είναι υποδιαγνωσμένοι, αν και η έγκαιρη διάγνωση είναι αναγκαία για τον περιορισμό της εξέλιξης της νόσου. [9,39]

Μεταβολικό σύνδρομο: Το μεταβολικό σύνδρομο είναι μία κατάσταση στην οποία παράγοντες κινδύνου για σχετιζόμενες με τον τρόπο ζωής ασθένειες όπως η παχυσαρκία, η υπέρταση, η αντίσταση στην ινσουλίνη και η δυσλιπιδαιμία συγκεντρώνονται στον ασθενή. [51,52] Το μεταβολικό σύνδρομο είναι δύο φορές πιο συχνό σε ασθενείς με ψωρίαση συγκριτικά με υγιείς μάρτυρες.[9,15] Για τη διάγνωσή του πρέπει να πληρούνται τουλάχιστον τρία από τα παρακάτω κριτήρια: Τριγλυκερίδια  $\geq 150$  mg/dl, HDL χοληστερόλη  $< 40$  mg/dl στους άνδρες και  $< 50$  mg/dl στις γυναίκες, Γλυκόζη νηστείας  $\geq 100$  mg/dl ή προηγούμενη διάγνωση με ΣΔτ2, Πίεση αίματος  $\geq 130/85$  mmHg ή σε αντιυπερτασική αγωγή, Παχυσαρκία (περιφέρεια μέσης  $\geq 102$  cm στους άντρες και  $\geq 88$  cm στις γυναίκες). [53] Η παθοφυσιολογία του μεταβολικού συνδρόμου αποδίδεται στην αντίσταση στην ινσουλίνη.[54] Το μεταβολικό σύνδρομο αυξάνει τον κίνδυνο ανάπτυξης καρδιαγγειακής νόσου και σακχαρώδους διαβήτη, τα οποία επίσης σχετίζονται με την ψωρίαση.[9,15]

Καρδιαγγειακή νόσος: Σημαντική είναι η συσχέτιση της ψωρίασης με τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου, ιδιαίτερα σε ασθενείς με σοβαρή μορφή ψωρίασης. [54] Τα στοιχεία δείχνουν ότι η ψωρίαση αυξάνει τον κίνδυνο για έμφραγμα του μυοκαρδίου, εγκεφαλικό και θάνατο λόγω της καρδιαγγειακής νόσου. [9] Το ρίσκο για έμφραγμα μυοκαρδίου σε ασθενείς με ψωρίαση διαφέρει με την ηλικία, με το υψηλότερο ρίσκο να εμφανίζεται σε νέους ασθενείς με σοβαρή μορφή της νόσου. [54] Δίстанται οι απόψεις για το αν η ψωρίαση αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για την καρδιαγγειακή νόσο καθώς οι παράγοντες κινδύνου για καρδιαγγειακές παθήσεις όπως είναι το κάπνισμα, το αλκοόλ, η υπέρταση, η υπερλιπιδαιμία, η παχυσαρκία και η αντίσταση στην ινσουλίνη επίσης καταγράφονται υψηλότερα σε ασθενείς με ψωρίαση, επομένως καθίσταται δύσκολο να εκτιμηθεί το ποσοστό του ψωρίασης. [52] Οι Boehncke και συνεργάτες πρότειναν το μοντέλο ‘psoriatic march’ για να εξηγήσουν την παθογενετική σχέση μεταξύ της ψωρίασης και της καρδιαγγειακής νόσου. Σύμφωνα με το μοντέλο αυτό, η συστηματική φλεγμονή που υπάρχει στην ψωρίαση προκαλεί αντίσταση στην ινσουλίνη και προάγει την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, οδηγώντας σε αθηροσκλήρωση και τελικά έμφραγμα του μυοκαρδίου ή εγκεφαλικό. [52,54]



Φλεγμονώδη νοσήματα του εντέρου: Υπάρχει σημαντική γενετική και παθολογική σύνδεση μεταξύ της νόσου του Crohn και της ψωρίασης καθώς διαμεσολαβούνται από Th1 λεμφοκύτταρα που παράγουν κυτταροκίνες όπως ο TNF-α και η IFN-γ και από Th17 κύτταρα που παράγουν IL-17, IFN-γ και IL-21. [53,54] Ασθενείς με νόσο του Crohn έχουν 7 φορές μεγαλύτερο ρίσκο να εμφανίσουν ψωρίαση και οι ασθενείς με ψωρίαση έχουν 2,9 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο να αναπτύξουν τη νόσο του Crohn συγκριτικά με το γενικό πληθυσμό. Επίσης, έχει βρεθεί ότι ασθενείς με ψωρίαση και φλεγμονώδη νόσο του εντέρου έχουν υψηλότερο ποσοστό συννοσηροτήτων (θυρεοειδίτιδα, σακχαρώδη διαβήτη και λέμφωμα) από ότι ασθενείς που πάσχουν μόνο από ψωρίαση, και αυτό μπορεί να εξηγηθεί λόγω κοινών μονοπατιών φλεγμονής και κοινού γενετικού υποβάθρου. [51]

Μη αλκοολικής αιτιολογίας λιπώδης διήθηση του ήπατος: Πρόκειται για μία κατάσταση στην οποία το λίπος επικάθεται στο ήπαρ απουσία σημαντικής κατανάλωσης αλκοόλ ή χρήσης φαρμάκων. [52] Ο επιπολασμός της νόσου σε ασθενείς με ψωρίαση κυμαίνεται από 17-60%, και είναι ακόμα μεγαλύτερο σε ασθενείς με σοβαρή ψωρίαση και ψωριασική αρθρίτιδα.[51] Η παθολογική σύνδεση μεταξύ της NAFLD (Non alcoholic fatty liver disease) και της ψωρίασης σχετίζεται με τη χρόνια φλεγμονή, την περιφερειακή αντίσταση στην ινσουλίνη καθώς και την εμπλοκή της IL-17 και στις δύο καταστάσεις. [52]

Κακοήθειες: Οι ασθενείς με ψωρίαση έχουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου, κυρίως λέμφωμα και καρκίνο του δέρματος, ιδιαίτερα σε περιπτώσεις σοβαρής ψωρίασης.[54] Ωστόσο αν το ρίσκο αυτό οφείλεται στους μηχανισμούς της ψωρίασης ή στη θεραπεία της νόσου δεν είναι ακόμα ξεκάθαρο καθώς θεραπεία της ψωρίασης με PUVA, μεθοτρεξάτη και κυκλοσπορίνη σε υψηλές δόσεις φαίνεται να σχετίζεται δυνητικά με την καρκινογένεση. [51,53]

Ψυχιατρική νοσηρότητα: Η ψωρίαση είναι μία νόσος με σημαντική επίπτωση στην ποιότητα ζωής του ασθενούς και κατά συνέπεια σημαντική ψυχολογική επιβάρυνση. [9] Η ντροπή, η αμηχανία, ο στιγματισμός και ο κοινωνικός αποκλεισμός που μπορεί να βιώνουν έχουν ως αποτέλεσμα ποικιλία ψυχολογικών προβλημάτων.[15] Η ψωρίαση σχετίζεται με χαμηλή αυτοεκτίμηση, αγχώδης διαταραχή (30% των ασθενών) και κατάθλιψη (60% των ασθενών). Επιπλέον, 10% των ασθενών με ψωρίαση εμφανίζουν αυτοκτονικό ιδεασμό.[51] Η κατάθλιψη και ο αυτοκτονικός ιδεασμός είναι πιο κοινά σε ασθενείς με εκτεταμένη, σοβαρή ψωρίαση συγκριτικά με αυτούς με ήπια μορφή της νόσου. [54]

### 1.3.7 Αιτιοπαθογένεια της ψωρίασης

Σήμερα, η ψωρίαση θεωρείται ότι προκαλείται από ένα συνδυασμό γενετικών, επιγενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων και πως η γενετική ποικιλομορφία της και οι επιγενετικές τροποποιήσεις επηρεάζονται από περιβαλλοντικούς παράγοντες. [55]

#### 1.3.7.1 Γενετικό υπόβαθρο

Γενετικοί παράγοντες κατέχουν σημαντικό ρόλο στην παθογένεια της ψωρίασης. Αυτό υποστηρίζεται από το γεγονός ότι η επίπτωση της ψωρίασης είναι μεγαλύτερη μεταξύ των συγγενών πρώτου και δεύτερου βαθμού ασθενών με ψωρίαση και ο κίνδυνος εμφάνισης της νόσου είναι 2-3 φορές μεγαλύτερος στους μονοζυγωτικούς διδύμους συγκριτικά με τους διζυγωτικούς διδύμους. [55-57,60] Μελέτες για την επίπτωση της νόσου δείχνουν ότι οι μονοζυγωτικοί δίδυμοι έχουν 70% πιθανότητα να εμφανίσουν ψωρίαση συγκριτικά με το 20% που αφορά τους διζυγωτικούς. [58,59] Γενεαλογικές μελέτες επίσης, δείχνουν ότι τα παιδιά έχουν 20% πιθανότητα εμφάνισης της νόσου αν ο ένας γονέας πάσχει ενώ αν πάσχουν και οι δύο γονείς η πιθανότητα αυξάνεται στο 65%. [58] Μέσω αναλύσεων σύνδεσης γονιδίων σε οικογένειες με ψωρίαση έχουν ταυτοποιηθεί τουλάχιστον 12 γενετικοί τόποι που σχετίζονται με την προδιάθεση για εκδήλωση ψωρίασης (PSORS1-PSORS12, psoriasis susceptibility) με σημαντικότερο αυτών τον PSORS1 καθώς εμφανίζει τη μεγαλύτερη συσχέτιση με την ψωρίαση [57,61].

#### PSORS1

Ο γενετικός αυτός τόπος εντοπίζεται εντός ενός τμήματος 220 kb του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (MHC, major histocompatibility complex) στο μικρό βραχίονα του χρωμοσώματος 6 (6p21.3). [56-60] Φαίνεται να έχει τη μεγαλύτερη επίδραση στην κληρονομικότητα της ψωρίασης, εξηγώντας το 35-50% αυτής.[55,59,60] Στο τμήμα αυτό εντοπίζονται γονίδια της τάξης I του MHC, όπως τα HLA-C (Human Leukocyte Antigen), CCHCR1 (Coiled-coil alpha-helical rod protein 1) και CDSN (corneodesmosin) τα οποία έχουν συσχετιστεί με την ασθένεια. [57,64] Δεδομένου ότι η λειτουργία των προϊόντων των γονιδίων της τάξης I του MHC είναι η παρουσίαση ενδογενών πεπτιδικών αντιγόνων στα CD8<sup>+</sup> T κύτταρα, ο γενετικός τόπος αυτός συνδέει τη γενετική με την ανοσολογική βάση της ψωρίασης. [59] Το κυριότερο αλληλόμορφο με την ισχυρότερη συσχέτιση για την ανάπτυξη ψωρίασης είναι αυτό του ανθρώπινου λευκοκυτταρικού αντιγόνου, το HLA-Cw6:02, που έχει συσχετιστεί επίσης με πρώιμη έναρξη και σοβαρή μορφή της νόσου αλλά και καλύτερη απόκριση στα φάρμακα. [58-60,62] Το HLA-C εμπλέκεται στην ανοσιακή απόκριση

παρουσιάζοντας αντιγόνα στα CD8<sup>+</sup> T κύτταρα, τα κύρια φλεγμονώδη κύτταρα που μεταναστεύουν στην επιδερμίδα. [62] Περισσότεροι από το 60% των ασθενών με ψωρίαση φέρουν το αλληλόμορφο αυτό. [58] Το αλληλόμορφο του ανθρώπινου λευκοκυτταρικού αντιγόνου HLA-Cw1 είναι λιγότερο αναγνωρισμένο αλλά σημαντικό αλληλόμορφο που σχετίζεται με την ψωρίαση σε κάποιες Ασιατικές εθνικότητες. Οι ασθενείς που το φέρουν τείνουν να εκδηλώνουν σοβαρή νόσο, αυξημένο κίνδυνο για ερυθροδερμική ψωρίαση και είναι πιο ανθεκτικοί στη θεραπεία. [62]

### PSORS2

Μία μελέτη ανάλυσης σύνδεσης γονιδιώματος σε μία μεγάλη οικογένεια με ψωρίαση κατά πλάκας, οδήγησε στην ταυτοποίηση του γενετικού τόπου PSORS2, στο χρωμόσωμα 17 (17q25). [58,59] Αλληλούχιση νέας γενιάς ασθενών με οικογενειακό ιστορικό ψωρίασης αποκάλυψε μία μετάλλαξη κέρδους λειτουργίας στο γονίδιο CARD14, (caspase recruitment domain-containing protein 14) που εντοπίζεται στο γενετικό τόπο αυτό, η οποία σχετίζεται με την ψωρίαση. Το γονίδιο αυτό κωδικοποιεί μία πρωτεΐνη που προάγει την ενεργοποίηση του NF-κB και την έκφραση προ-φλεγμονωδών γονιδίων. Η μετάλλαξη προκαλεί αυξημένη επαγωγή του NF-κB, η οποία οδηγεί στην υπερέκφραση χημειοκινών που εμπλέκονται στην ψωρίαση. [55,58,59]

### PSORS4

Ο γενετικός τόπος αυτός εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 1, και συγκεκριμένα στη θέση 1q21, στην περιοχή του συμπλόκου επιδερμικής διαφοροποίησης (EDC, epidermal differentiation complex). Εκεί βρίσκεται μία ομάδα τουλάχιστον 40 γονιδίων που εμπλέκονται στην τελική διαφοροποίηση των κερατινοκυττάρων της επιδερμίδας. [64]

### IL36RN Μεταλλάξεις

Μεταλλάξεις στο γονίδιο IL36RN περιγράφηκαν πρώτη φορά σε οικογένειες με σοβαρή φλυκταινώδη ψωρίαση. [59] Το γονίδιο αυτό κωδικοποιεί μία αντιφλεγμονώδη πρωτεΐνη, την IL-36Ra, ανταγωνιστή του υποδοχέα IL-36R. Με τη δέσμευσή της στον υποδοχέα περιορίζει τις φλεγμονώδεις επιδράσεις των κυτταροκινών IL-36, και αναστέλλει την ενεργοποίηση του NF-κB. Μεταλλάξεις στο γονίδιο αυτό οδηγούν σε απώλεια λειτουργικότητας της πρωτεΐνης με αποτέλεσμα τις ανεξέλεγκτες φλεγμονώδεις επιδράσεις που προκαλούνται από τις IL-36. [55,58,59] Απουσία της IL-36Ra οδηγεί σε εκτεταμένη συσσώρευση ουδετερόφιλων που παρατηρείται στη φλυκταινώδη ψωρίαση. [58]

Μελέτες σάρωσης του γονιδιώματος (GWAS, genome-wide association studies) έχουν οδηγήσει στην ταυτοποίηση πάνω από 50 SNPs (single nucleotide polymorphisms) που σχετίζονται με τον κίνδυνο εμφάνισης ψωρίασης, [57,61] πολλά από τα οποία σχετίζονται με τον άξονα IL-23/IL-17. Ένα SNP στο γενετικό τόπο της IL-23 (rs11209026G>A) έχει βρεθεί ότι έχει λειτουργική σημασία καθώς μειώνει την απόκριση της IL-17 από τα T κύτταρα τόσο σε ψωριασικούς ασθενείς όσο και σε υγιείς μάρτυρες.[58,59] Από το σύνολο των γονιδίων που φαίνεται να εμπλέκονται στην ψωρίαση, ένας μικρός αριθμός αυτών κωδικοποιούν για ειδικά για το δέρμα προϊόντα και σχετίζονται με τη διαφοροποίηση των κερατινοκυττάρων. Τα περισσότερα είναι συνδεδεμένα με τους μηχανισμούς της έμφυτης και της προσαρμοστικής ανοσίας και εμπλέκονται σημαντικά στην παθογένεια της νόσου, όπως τα γονίδια του άξονα IL-23/IL-17, ο NF-κB, γονίδια κυτταροκινών, γονίδια ρύθμισης των Th1 και Th17 και γονίδια προσκόλλησης των λευκοκυττάρων. [57-59,61,63]

### 1.3.7.2 Επιγενετική

Τα τελευταία χρόνια, μελέτες αναδεικνύουν τον σημαντικό ρόλο των επιγενετικών τροποποιήσεων στην αιτιολογία και στην παθογένεια της ψωρίασης. Οι επιγενετικοί μηχανισμοί που φαίνεται να εμπλέκονται στην παθογένεια της νόσου περιλαμβάνουν τη μεθυλίωση του DNA, τις τροποποιήσεις των ιστονών και τα μη-κωδικοποιητικά RNAs. [60]

Η μεθυλίωση του DNA στις πλούσιες σε CpG περιοχές μπορεί να τροποποιήσει τη γονιδιακή έκφραση, δρώντας συνήθως κατασταλτικά. Περίπου 1100 διαφορετικά μεθυλιωμένες θέσεις CpG έχουν ανιχνευτεί μεταξύ ψωριασικού και υγιούς δέρματος. Δώδεκα από αυτές τις θέσεις αντιστοιχούν σε γονίδια που ρυθμίζουν την επιδερμική διαφοροποίηση, τα οποία αυξο-ρυθμίζονται λόγω μικρότερου μεθυλιωμένου μοτίβου.[9] Ένα ακόμα παράδειγμα της επίδρασης της μεθυλίωσης του DNA στην παθογένεια της νόσου είναι το εξής: Παρατηρείται υπερμεθυλίωση στον υποκινητή του γονιδίου της SFRP4 (secreted frizzled-related protein) στις κακώσεις ασθενών με ψωρίαση. Η SFRP4 είναι μία πρωτεΐνη η οποία αναστέλλει τον παθολογικό πολλαπλασιασμό των κερατινοκυττάρων. Με τη μεθυλίωση στον υποκινητή του γονιδίου της καταστέλλεται η έκφρασή της, γεγονός που συνεισφέρει στην επιδερμική υπερπλασία των κακώσεων. [55]

Οι τροποποιήσεις των ιστονών φαίνεται να εμπλέκονται επίσης στην παθογένεια της νόσου. Η ψωρίαση σχετίζεται με ανώμαλη έκφραση των ακετυλομεταφοράσεων των ιστονών (HATs, histone acetyltransferases) και των αποακετυλάσεων των ιστονών (HDACs, histone deacetylases), ένζυμα τα οποία ρυθμίζουν την ισορροπία μεταξύ της ακετυλίωσης και

αποακετυλίωσης των ιστονών. Η μεθυλίωση των ιστονών εμπλέκεται σημαντικά καθώς φαίνεται να ρυθμίζει την παραγωγή των κυτοκινών και την απόκριση στη θεραπεία. Μία έρευνα από τον Li H. και τους συνεργάτες του [65] έδειξε ότι η τροποποίηση H3K9me2 ρυθμίζει την έκφραση της IL-23 από τα κερατινοκύτταρα και ότι αυτή η ιντερλευκίνη ήταν ικανή να επάγει ψωριασικό φαινότυπο σε ποντίκια.[50] Οι Ovejero-Benito και συνεργάτες [66] έδειξαν ότι οι ασθενείς με ψωρίαση εμφανίζουν χαμηλότερα επίπεδα ακετυλίωσης στις ιστόνες H3 και H4, αλλά αυξημένα επίπεδα μεθυλίωσης στην H3K4. [63] Διαφορές στη μεθυλίωση των H3K4 και H3K27 μεταξύ των ασθενών υπό βιολογική θεραπεία καταγράφηκαν επίσης και φαίνεται να σχετίζονται με την απόκρισή τους σε αυτή.[60]

Μελέτες σάρωσης του γονιδιώματος (GWAS, genome-wide association studies) έχουν ταυτοποιήσει πολλαπλούς γενετικούς τόπους που σχετίζονται με την ψωρίαση, οι περισσότεροι από τους οποίους εντοπίζονται σε μη κωδικές περιοχές του γονιδιώματος. Δύο μεγάλες κατηγορίες μη-κωδικοποιητικών RNAs έχουν ρόλο στην παθογένεια της ψωρίασης: τα microRNA (miRNA) και τα long non-coding RNA (lncRNA). [60] Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι οι ασθενείς με ψωρίαση έχουν υψηλότερα επίπεδα έκφρασης miRNA από ότι οι υγιείς μάρτυρες, με πάνω από 250 miRNAs να εκφράζονται στο ψωριασικό δέρμα.[9,60] Κάποια από αυτά αυξο-ρυθμίζονται ενώ άλλα μειο-ρυθμίζονται, συμβάλλοντας στην παθογένεια της νόσου. [60] Πρωταρχικό ρόλο εμφανίζει το miR-31, το οποίο εκφράζεται στο ψωριασικό δέρμα και επηρεάζει τη δραστηριότητα του NF-κB καθώς και τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των κερατινοκυττάρων. [9,55] Επιπλέον, η έκφραση lncRNAs σχετίζεται με την επιδερμική διαφοροποίηση και την ανοσορύθμιση στο ψωριασικό δέρμα. [55,60] Τουλάχιστον 971 lncRNAs έχει βρεθεί ότι εκφράζονται διαφορετικά στις ψωριασικές κακώσεις συγκριτικά με το υγιές δέρμα.[9]

### **1.3.7.3 Περιβαλλοντικοί παράγοντες**

Πολλοί είναι επίσης οι περιβαλλοντικοί παράγοντες που εμπλέκονται στην εμφάνιση της νόσου όπως μικροβιακές λοιμώξεις, συνήθειες που σχετίζονται με τον τρόπο ζωής όπως ο κάπνισμα, το αλκοόλ, η διατροφή και το stress, διάφορα φάρμακα, τραυματισμοί καθώς και έκθεση σε υπεριώδη ακτινοβολία. [55,58,63] Σημαντική φαίνεται να είναι και η αλληλεπίδραση των παραγόντων αυτών με τη γενετική βάση για την εξέλιξη της νόσου. [55] Παρακάτω παρουσιάζεται η συνεισφορά διαφόρων περιβαλλοντικών παραγόντων:

### Μηχανικό τραύμα

Στο 25% των ασθενών, ένας τραυματισμός του δέρματος μπορεί να οδηγήσει στην εμφάνιση μίας νέας ψωριασικής πλάκας στο προηγούμενως υγιές δέρμα. Το φαινόμενο αυτό παρατηρήθηκε πρώτη φορά το 1872 από τον Heinrich Koebner και είναι σήμερα γνωστό σαν φαινόμενο Koebner. Μπορεί να προκληθεί μετά από τραυματισμούς στο δέρμα όπως εγχείρηση, τατουάζ, ενέσεις, τσιμπήματα εντόμων και εγκαύματα [58,61] Η νέα κάκωση ταυτίζεται μορφολογικά με το σημείο τραυματισμού και μπορεί να εμφανιστεί μετά από τρεις μέρες έως και δύο χρόνια από το τραύμα. [58]

### Φάρμακα

Αρκετά φάρμακα έχουν συσχετιστεί με την έναρξη της ψωρίασης καθώς και με την επιδείνωσή της. Τα πιο κοινά είναι το λίθιο (αντικαταθλιπτικό), τα αντι-υπερτασικά (β-αποκλειστές), τα αντι-ελονοσιακά, αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης, τα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα αλλά και αντιπολλαπλασιαστικοί παράγοντες (imiquimod).[55,58,61]

### Λοιμώξεις

Σημαντικός φαίνεται να είναι και ο ρόλος των μικροβιακών λοιμώξεων στην εμφάνιση της νόσου, ειδικότερα στα παιδιά, στα οποία η σταγονοειδής ψωρίασης σχετίζεται με την μόλυνση από *Streptococcus pyogenes*. [58,69] Ο ιός της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (Human immunodeficiency virus, HIV) επίσης εμπλέκεται με την παθογένεια της νόσου, καθώς μπορεί να προκαλέσει έναρξη και επιδείνωση αυτής, αλλά και μη απόκριση στη θεραπεία, με το μηχανισμό να μην έχει διευκρινιστεί πλήρως.[69]

### Μικροβίωμα δέρματος και εντέρου

Διαταραχές στο δερματικό μικροβίωμα συμμετέχουν επίσης στη ανάπτυξη ψωρίασης. Μικροοργανισμοί όπως ο *Staphylococcus aureus* έχουν σημαντικό ρόλο καθώς αποικίες αυτού έχουν εντοπιστεί στις κακώσεις σε περίπου 60% των ασθενών με ψωρίαση συγκριτικά με το 5%-30% που εντοπίζονται στο υγιές δέρμα. Μάλιστα έχει διαπιστωθεί ότι η σοβαρότητα σχετίζεται με τις εντεροτοξίνες που παράγει. Επιπλέον, είδη *Candida*, που αποτελούν φυσιολογικό μικροβίωμα του δέρματος, ανιχνεύονται υψηλότερα στο δέρμα και στις βλεννογόνους ασθενών με ψωρίαση.[58,69] Τα υπερ-αντιγόνα και οι τοξίνες που απελευθερώνουν επιδεινώνουν την ψωρίαση καθώς ενεργοποιούν τα T κύτταρα και την

έκκριση κυτταροκινών από τα κερατινοκύτταρα.[58] Ο κυριότερος μύκητας είναι ο *Candida albicans*, ο αποικισμός του οποίου προάγει την ανοσιακή απόκριση κατά των μυκήτων και εμπλέκεται στην παθογένεια της νόσου. Ένα ακόμα γένος μυκήτων είναι το *Malassezia*, που σχετίζεται με επιδείνωση της κατάστασης. [58,69]

### Αλκοόλ

Μελέτες έχουν δείξει ότι η επίπτωση της ψωρίασης είναι αυξημένη σε ασθενείς που κάνουν κατάχρηση κατανάλωσης αλκοόλ. Οι μηχανισμοί λόγω των οποίων η υπερκατανάλωση αλκοόλ εμπλέκεται στην ψωρίαση δεν είναι πλήρως διασαφηνισμένοι. *In vitro* μελέτες δείχνουν ότι η αιθανόλη μπορεί να ενεργοποιήσει τα T κύτταρα και να επάγει τον υπερπολλαπλασιασμό των κερατινοκυττάρων διεγείροντας την παραγωγή των TNF-α, IL-6 και IFNα. Επιπλέον, η αιθανόλη και η ακετόνη φαίνεται ότι αυξάνουν την έκφραση γονιδίων στα κερατινοκύτταρα που σχετίζονται με τον πολλαπλασιασμό τους.[55,58]

### Κάπνισμα

Σημαντική είναι και η σύνδεση μεταξύ του καπνίσματος και του κινδύνου ανάπτυξης ψωρίασης με έρευνες να δείχνουν αυξημένο ρίσκο μεταξύ των χρόνιων καπνιστών συγκριτικά με άτομα που δεν έχουν καπνίσει ποτέ. [58] Επιπρόσθετα, η γενετική προδιάθεση για ψωρίαση έχει συνδεθεί με το κάπνισμα, καθώς σύμφωνα με έρευνα των Jin Y και συνεργάτες [67], καπνιστές που έχουν τον απλότυπο HLA-Cw6 έχουν εντεκαπλάσιο κίνδυνο να αναπτύξουν ψωρίαση συγκριτικά με τους μη καπνιστές που δεν φέρουν τον απλότυπο. Έχει παρατηρηθεί επίσης ότι το κάπνισμα σχετίζεται και με μειωμένη απόκριση στη θεραπεία με αναστολείς του TNF-α. [55]

### Παχυσαρκία

Παράγοντας κινδύνου για την νόσο αποτελεί και η παχυσαρκία. [63,69] Από μελέτη των Wolk K. και συνεργατών [68] έχει παρατηρηθεί συσχέτιση μεταξύ της έναρξης αλλά και της σοβαρότητας της ψωρίασης και της παχυσαρκίας καθώς φαίνεται ότι αυξημένος Δείκτης Μάζας Σώματος σχετίζεται με υψηλότερο PASI σκορ στους ασθενείς. Ο μηχανισμός δεν είναι πλήρως κατανοητός, αλλά θεωρείται ότι εμπλέκονται ορμόνες των λιποκυττάρων όπως η λεπτίνη και η αντιστασίνη, οι οποίες μπορούν να επάγουν την παραγωγή προ-φλεγμονωδών κυτοκινών, όπως IL-8, TNFα και IL-1β από τα μονοκύτταρα.[58,63] Η υιοθέτηση υγιεινών διατροφικών συνηθειών και η πρόσληψη θρεπτικών συστατικών όπως η βιταμίνη B12, η

βιταμίνη D, το σελήνιο και τα ω-3 λιπαρά οξέα μπορούν να βελτιώσουν την κατάσταση της νόσου. [55,63]

### Έκθεση σε υπεριώδη (UV) ακτινοβολία

Αν και η έκθεση σε υπεριώδη ακτινοβολία αποτελεί μία συνηθισμένη και αρκετά αποτελεσματική θεραπευτική στρατηγική για την αντιμετώπιση της ψωρίασης, σε σπάνιες περιπτώσεις μπορεί να προκαλέσει την επιδείνωσή της. Αυτό αποτελεί το φαινόμενο της φωτοευαίσθητης ψωρίασης και παρατηρείται κυρίως εποχιακή επιδείνωση της νόσου, κυρίως το καλοκαίρι λόγω της έντασης της ηλιακής ακτινοβολίας. [61,63,69]

### Ψυχολογικό stress

Το ψυχολογικό stress αποτελεί εξίσου παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση ψωρίασης και την επιδείνωση της ήδη υπάρχουσας νόσου.[61,69] Σχετίζεται με αλλαγές στη ρύθμιση του ανοσοποιητικού συστήματος και ανώμαλη ενεργοποίηση των T κυττάρων.[55,63]

### **1.3.8 Ανοσολογικό υπόβαθρο**

Διαταραχές στις αποκρίσεις της έμφυτης και της προσαρμοστικής ανοσίας είναι υπεύθυνες για την ανάπτυξη και τη διατήρηση της ψωριασικής φλεγμονής.[9] Η νόσος ξεκινά και διαιωνίζεται μέσω αμοιβαίας αλληλεπίδρασης των κυττάρων της έμφυτης και της προσαρμοστικής ανοσίας, κυρίως δενδριτικών κυττάρων, T λεμφοκυττάρων και κερατινοκυττάρων, ο ρόλος των οποίων τροποποιείται στα διαφορετικά στάδια της νόσου αποτελώντας κυρίως το μονοπάτι IL-23/Th17. [61] Η παθογένεια της νόσου μπορεί να χωριστεί σε δύο φάσεις: στην αρχική φάση η οποία προκαλείται από ένα παράγοντα πυροδότησης όπως τραυματισμός, λοίμωξη ή φάρμακα και στην φάση συντήρησης που χαρακτηρίζεται από την εξέλιξή της σε χρόνια νόσο.[9] Η φλεγμονή οδηγεί σε αλλαγές στην επιδερμίδα και στο χόριο αποδίδοντας την χαρακτηριστική εικόνα των ψωριασικών κακώσεων.[61]

Έχει αναφερθεί ότι ο καταρράκτης των προ-φλεγμονωδών κυτταροκινών πυροδοτείται από τα πλασμακυτταροειδή δενδριτικά κύτταρα (pDCs) τα οποία ενεργοποιούνται από σύμπλοκα μεταξύ DNA και του αντιμικροβιακού πεπτιδίου καθελικιδίνη (LL-37), το οποίο απελευθερώνεται από τραυματισμένα κερατινοκύτταρα. Παρομοίως, κατεστραμμένα μελανοκύτταρα μπορούν να παράγουν την πρωτεΐνη ADAMTS-like 5, το άλλο πιθανό αυτοαντιγόνο στην ψωρίαση. Σε απόκριση στο ερέθισμα, τα pDCs εκκρίνουν IFN-α, μία κυτταροκίνη κλειδί για τη φάση έναρξης. Αυτή ενεργοποιεί τα τοπικά μυελοειδή δενδριτικά



κύτταρα (mDCs) και προάγει τη μετανάστευσή τους στους λεμφαδένες. Άλλα κύτταρα της έμφυτης ανοσίας όπως τα κερατινοκύτταρα, μακροφάγα και τα NKT κύτταρα συνεισφέρουν επίσης στην ενεργοποίηση των mDCs εκκρίνοντας INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-1- $\beta$  και IL-6. Τα ενεργοποιημένα mDCs στη συνέχεια παράγουν TNF- $\alpha$ , IL-12 και IL-23 τα οποία προκαλούν τη διαφοροποίηση και τον πολλαπλασιασμό των ανώριμων T λεμφοκυττάρων σε ώριμα T1 (Th1 και Tc1), T17 (Th17 και Tc17) και T22 (Th22 και Tc22) λεμφοκύτταρα τα οποία εισέρχονται στην κυκλοφορία του αίματος και αποκτούν την ικανότητα να εποικίζουν στο δέρμα. Τα ενεργοποιημένα T1 λεμφοκύτταρα απελευθερώνουν IFN- $\gamma$  και TNF- $\alpha$ , ενώ τα Th17 λεμφοκύτταρα εκκρίνουν την κύρια εξειδικευμένη προ-φλεγμονώδη κυτταροκίνη IL-17A, η οποία παράγεται επίσης από τα  $\gamma\delta$  T λεμφοκύτταρα, NK κύτταρα και μαστοκύτταρα. Οι κυτταροκίνες IL-22 και IL-17A/F, οι οποίες είναι προϊόντα του άξονα IL-23/Th17, προκαλούν πολλαπλασιασμό και βλάπτουν την διαφοροποίηση των κερατινοκυττάρων, οδηγώντας στην ανάπτυξη του χαρακτηριστικού ψωριασικού φαινοτύπου. Την ίδια στιγμή, τα κερατινοκύτταρα αποκρίνονται επίσης στα ερεθίσματα εκκρίνοντας αντιμικροβιακά πεπτίδια (AMPs), κυτταροκίνες και χημειοκίνες, τα οποία προάγουν περαιτέρω την ενεργοποίηση των T λεμφοκυττάρων και την κινητοποίηση άλλων φλεγμονωδών κυττάρων, κυρίως μακροφάγων, δενδριτικών κυττάρων και ουδετερόφιλων πυροδοτώντας έτσι το σχηματισμό της χρόνιας φλεγμονής, τη φάση της διατήρησης. Ο φλεγμονώδης καταρράκτης προάγει στη συνέχεια την αγγειογένεση, η οποία συνεισφέρει επίσης στην επιπρόσθετη μετανάστευση των κυττάρων του ανοσοποιητικού στην ψωριασική κάκωση. Στην τελική, η επίδραση των κυτταροκινών επιτυγχάνεται ενεργοποιώντας ενδοκυτταρικά μονοπάτια, τα οποία δρουν στη μεταγραφή σημαντικών γονιδίων. Συνεπώς, οι IFN- $\gamma$ , IL-12, IL-22 και IL-23 ενεργοποιούν το μονοπάτι JAK-STAT, ενώ η φωσφοδιεστεράση-4 (PDE-4) αναστέλλει την αντί-φλεγμονώδη δράση του σηματοδοτικού μορίου cAMP. [61]

#### Ενδοκυτταρικά σηματοδοτικά μονοπάτια

Οι κυτταροκίνες ασκούν τις επιδράσεις τους ενεργοποιώντας ενδοκυτταρικά σηματοδοτικά και μεταγραφικά μονοπάτια. Οι ιντερφερόνες τύπου-1, η IFN- $\gamma$ , IL-12, IL-22 και IL-23 ενεργοποιούν το μονοπάτι JAK-STAT (Janus Kinases – Signal Transducers and Activators of Transcription). Οι Janus κινάσες είναι κινάσες τυροσίνης (JAK1, JAK2, JAK3, TYK2) συνδεδεμένες σε υποδοχείς κυτταροκινών οι οποίες μπορούν να ενεργοποιήσουν το STAT μονοπάτι. Η ενεργοποίησή του οδηγεί στη φωσφορυλίωση, το διμερισμό και τον έλεγχο της μεταγραφής προ-φλεγμονωδών γονιδίων.

Ο TNF-α δρα μερικώς μέσω του NF-κB ο οποίος είναι ένας μεταγραφικός παράγοντας σημαντικός για τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, τη διαφοροποίηση και την απόπτωση. Ο φωσφορυλιωμένος και κατά συνέπεια ενεργός NF-κB εμφανίζει αυξημένα επίπεδα στην ψωρίαση. Η απόκριση των T-λεμφοκυττάρων και πιθανώς και των κερατινοκυττάρων ελέγχεται από το ενδοκυτταρικό cAMP. Το cAMP υδρολύεται από το ένζυμο φωσφοδιεστεράση-4 (PDE-4). Φάρμακα όπως η απρεμιλάστη αναστέλλουν το ένζυμο και αυξάνονται έτσι τα επίπεδα του cAMP. Αυτή η διαδικασία μειώνει την έκφραση των προ-φλεγμονωδών κυτταροκινών TNF-α, IFN-γ, IL-2, IL-12 και IL-23 και προκαλεί αύξηση της αντι-φλεγμονώδους κυτταροκίνης IL-10. [57]

### Άξονας IL23/Th17

Το μονοπάτι φλεγμονής TNFα-IL23-Th17 χαρακτηρίζει την ψωρίαση κατά πλάκας. Η οικογένεια των κυτταροκινών IL-17 αποτελείται από έξι μέλη: IL-17A-F. Παράγονται από διαφορετικούς κυτταρικούς τύπους και είναι σημαντικοί ρυθμιστές των φλεγμονωδών αποκρίσεων. Μέχρι σήμερα, η σχετική σηματοδότηση που οδηγεί στην κλινική εικόνα της ψωρίασης μεσολαβείται κυρίως από τις IL-17A και IL-17F. Και οι δύο δρουν μέσω του ίδιου υποδοχέα αλλά έχουν διαφορετικές δυνατότητες. Ισχυρότερη επίδραση έχει η IL-17A σε σχέση με την IL-17F, ενώ το ετεροδιμερές IL-17A/IL-17F έχει ενδιάμεση επίδραση. Η IL-17A δεσμεύεται στην υποδοχέα της, ένα τριμερές σύμπλοκο που αποτελείται από δύο υπομονάδες IL-17RA και μία υπομονάδα IL-17RC, οδηγώντας στη στρατολόγηση της πρωτεΐνης προσαρμογέα ACT1. Η αλληλεπίδραση αυτή οδηγεί στην ενεργοποίηση μίας σειράς ενδοκυτταρικών κινασών, οι οποίες με τη σειρά τους ενεργοποιούν μεταγραφικούς παράγοντες, ρυθμίζοντας κατά συνέπεια τη μεταγραφή των προ-φλεγμονωδών κυτταροκινών, χημειοκινών και αντιμικροβιακών πεπτιδίων. [9]

## **1.3.9 Θεραπεία της ψωρίασης**

### **1.3.9.1 Τοπικές θεραπείες**

Αν η ψωρίαση είναι περιορισμένη σε μικρή επιφάνεια (BSA<3-5%), η κύρια θεραπεία είναι τοπικοί παράγοντες στους οποίους συμπεριλαμβάνονται τα κορτικοστεροειδή, ανάλογα της βιταμίνης D, αναστολείς καλσινευρίνης, κερατολυτικά αλλά και συνδυασμός αυτών (π.χ. κορτικοστεροειδή με ανάλογα της βιταμίνης D) υπό μορφή κρέμας, αφρού, τζελ και αλοιφής. Ακατέργαστη πίσσα και διθρανόλη (ανθραλίνη) χρησιμοποιούνται επίσης σε κέντρα θεραπείας που νοσηλεύονται ασθενείς αλλά πλέον αντικαθίστανται από άλλες τοπικές θεραπείες. [8]

**Κορτικοστεροειδή:** Τα τοπικά κορτικοστεροειδή αποτελούν τον ακρογωνιαίο λίθο για τη θεραπεία της πλειοψηφίας των ασθενών με ήπια ψωρίαση. Είναι διαθέσιμα σε πολλές δοσολογίες και φόρμουλες κάτι που επιτρέπει την ευελιξία στη χρήση τους. Ο μηχανισμός δράσης τους περιλαμβάνει αντι-φλεγμονώδεις, αντιπολλαπλασιαστικές, ανοσοκατασταλτικές και αγγειοσυσταλτικές επιδράσεις. Αυτό επιτυγχάνεται με τη δέσμευσή τους σε ενδοκυτταρικούς υποδοχείς κορτικοστεροειδών και τη ρύθμιση της μεταγραφής πολυάριθμων γονιδίων, κυρίως εκείνων που κωδικοποιούν για προ-φλεγμονώδεις κυτοκίνες. Στις κυριότερες παρενέργειές τους περιλαμβάνονται η ατροφία του δέρματος, η τηλαγγειεκτασία, η ακμή, η θυλακίτιδα και η ερυθρότητα. [70]

**Ανάλογα της βιταμίνης D:** Η καλσιποτριόλη αποτελεί συνθετικό ανάλογο της βιταμίνης D. Ο μηχανισμός δράσης τους θεωρείται ότι μεσολαβείται μέσω της δέσμευσής τους στους υποδοχείς της βιταμίνης D, το οποίο οδηγεί τόσο στην αναστολή του πολλαπλασιασμού των κερατινοκυττάρων όσο και της διαφοροποίησής τους.[70] Καταστέλλουν επίσης την παραγωγή προ-φλεγμονωδών κυτταροκινών όπως η IL-8, που παίζει ρόλο στη φλεγμονώδη διαδικασία της ψωρίασης, και επάγουν τη δράση των αντί-φλεγμονωδών κυτταροκινών όπως IL-4 και IL-10. [71] Οι παρενέργειες που προκαλούν είναι οι εξής: αίσθημα καύσους, κνησμός, οίδημα, ξεφλούδισμα, ξηρότητα και ερύθημα. [70]

**Ταζαροτένη:** Πρόκειται για τοπικό ρετινοειδές. Φαίνεται να δρα ομαλοποιώντας την ανώμαλη διαφοροποίηση των κερατινοκυττάρων, εξαλείφοντας τον υπερπολλαπλασιασμό και μειώνοντας την έκφραση δεικτών φλεγμονής. Η χρήση της προκαλεί τοπικό ερεθισμό στην περιοχή της κάκωσης και γύρω από αυτήν. [70]

**Αναστολείς καλσινευρίνης (Tacrolimus και Pimecrolimus):** Λειτουργούν μπλοκάροντας τη σύνθεση πολλών φλεγμονωδών κυτοκινών που παίζουν σημαντικό ρόλο στην παθογένεια της ψωρίασης. Οι πιο κοινές παρενέργειες είναι το αίσθημα καψίματος και η φαγούρα. [70]

**Κερατολυτικά:** Το σαλικυλικό οξύ είναι ένας τοπικός κερατολυτικός παράγοντας. Θεωρείται ότι δρα μειώνοντας τη δέσμευση μεταξύ των κερατινοκυττάρων καθώς μειώνει το pH της κεράτινης στιβάδας και αυτό οδηγεί σε μείωση της απολέπισης και μαλάκωμα της ψωριασικής πλάκας. Η θεραπεία δεν πρέπει να συνδυάζεται με άλλα σαλικυλικά φάρμακα καθώς υπάρχει κίνδυνος συστηματικής τοξικότητας. [70]

**Ανθραλίνη (Διθρανόλη):** Εμφανίζει έντονη αντιπολλαπλασιαστική επίδραση στα κερατινοκύτταρα και εμποδίζει την ενεργοποίηση των T λεμφοκυττάρων. Ωστόσο

παρατηρείται ερεθισμός του δέρματος και λεκέδες στο ψωριασικό και στο παρακείμενο δέρμα, στα νύχια, ρούχα και άλλα αντικείμενα με τα οποία έρχεται σε επαφή ο ασθενής. [70]

**Πίσσα:** Η πίσσα, ένα προϊόν απόσταξης από κάρβουνο, είναι μίγμα εκατοντάδων ενώσεων το οποίο μπορεί να διαφέρει σε σύσταση από το ένα προϊόν στο άλλο. Φαίνεται να έχει αντιπολλαπλασιαστικές ιδιότητες. Δεν το προτιμούν οι ασθενείς καθώς προκαλεί λεκέδες στα ρούχα και έχει άσχημη, δυσάρεστη μυρωδιά. [70]

### 1.3.9.2 Φωτοθεραπεία

Διάφορα μήκη κύματος της υπεριώδους (UV) ακτινοβολίας χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία της ψωρίασης έχοντας ανοσοκατασταλτικό ρόλο.[71] Οι αντι-φλεγμονώδεις επιδράσεις της φωτοθεραπείας περιλαμβάνουν μειωμένη κινητικότητα των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων του Langerhans, αναστολή της ενεργοποίησης των T κυττάρων και την επαγωγή της απόπτωσης των ενεργοποιημένων T κυττάρων. Ο επιδερμικός υπερπολλαπλασιασμός αναστέλλεται μέσω της αλληλεπίδρασης της UV ακτινοβολίας με το DNA των κερατινοκυττάρων. [11,74] Οι διαφορετικοί τρόποι φωτοθεραπείας περιλαμβάνουν την στενού φάσματος υπεριώδη ακτινοβολία B (NB-UVB) (311-313 nm), την ευρέος φάσματος υπεριώδη ακτινοβολία B (UVB) (280-320 nm), και την φωτοχημειοθεραπεία (PUVA) η οποία χρησιμοποιείται πλέον λιγότερο λόγω του αυξημένου κινδύνου για καρκίνο του δέρματος. Η πιο συνηθισμένη φωτοθεραπεία είναι η στενού φάσματος υπεριώδης ακτινοβολία B, η οποία εφαρμόζεται δύο με τρεις φορές την εβδομάδα. [8] Η NB-UVB θεραπεία επάγει μία σχετικά μεγάλη περίοδο ύφεσης περίπου 4-6 μηνών. [72] Όσον αφορά τη φωτοχημειοθεραπεία, περιλαμβάνει τη χρήση φωτοευαίσθητων παραγόντων, που ονομάζονται ψωραλένια, για να ευαισθητοποιήσουν τα κύτταρα στόχους σε συνδυασμό με UVA ακτινοβολία. Κάποια ψωραλένια είναι συνθετικά ενώ άλλα είναι φυσικά καθώς προκύπτουν από τις τρικυκλικές φουροκουμαρίνες που βρίσκονται στα φυτά. Μπορούν να χορηγηθούν τοπικά σαν κρέμα ή να αναμειχθούν με νερό μπάνιου ή με τη μορφή χαπιών. Τα ψωραλένια ασκούν τις επιδράσεις παρεμβαίνοντας μεταξύ των ζευγών βάσεων του DNA και σχηματίζοντας διασταυρώσεις μεταξύ του DNA κάτω από έκθεση σε UVA, εμποδίζοντας αποτελεσματικά την αντιγραφή του DNA. Επίσης, διευκολύνουν την παραγωγή ROS, οι οποίες καταστρέφουν τις κυτταρικές μεμβράνες και οδηγούν σε κυτταρικό θάνατο και εξαλείφουν τα λεμφοκύτταρα στο δέρμα. Η φωτοχημειοθεραπεία εμφανίζει παρενέργειες όπως ερύθημα, ναυτία, φαγούρα και αυξημένο κίνδυνο καρκινογένεσης.[73]

### 1.3.9.3 Συστηματικές θεραπείες

#### 1.3.9.3.1.Κλασσικές συστηματικές θεραπείες

Πριν από την έλευση των βιολογικών παραγόντων, οι από του στόματος συστηματικές θεραπείες ήταν για πολλές δεκαετίες η κύρια θεραπεία για την μέτρια προς σοβαρή ψωρίαση κατά πλάκας. Αυτές περιλαμβάνουν τη μεθοτρεξάτη, την κυκλοσπορίνη, την ακιτρεκίνη, τους εστέρες φουμαρικού οξέος και την απρεμιλάστη. [8]

**Μεθοτρεξάτη:** Η μεθοτρεξάτη χρησιμοποιείται για πάνω από 50 χρόνια για την αντιμετώπιση της ψωρίασης και της ψωριασικής αρθρίτιδας. [8] Είναι ένα ανάλογο φυλλικού οξέος. Δρα σαν ανταγωνιστής του φυλλικού οξέος αναστέλλοντας ανταγωνιστικά το ένζυμο διυδροφυλλική ρεδοουκτάση. Μπλοκάρει έτσι το σχηματισμό του διυδροφυλλικού σε τετραυδροφυλλικό και κατά συνέπεια και τη σύνθεση του DNA. [9,71] Από του στόματος δίνεται μία φορά την εβδομάδα. Απαιτείται ιδιαίτερη προσοχή καθώς υπάρχει κίνδυνος ηπατοτοξικότητας. Άλλες παρενέργειες περιλαμβάνουν ναυτία, εμετό, απώλεια μαλλιών, τερατογένεση. Για τη μείωση των παρενεργειών συμπλήρωμα φυλλικού οξέος συστήνεται να χορηγείται παράλληλα. Η μεθοτρεξάτη μπορεί να χορηγηθεί και υποδόρια, εμφανίζοντας καλύτερη αποτελεσματικότητα και λιγότερες παρενέργειες. [8]

**Κυκλοσπορίνη:** είναι ένα ανοσοκατασταλτικό φάρμακο της ομάδας των αναστολέων καλσινευρίνης το οποίο αναστέλλει τα T κύτταρα.[9] Σχηματίζει σύμπλοκο με την κυκλοφιλίνη και μπλοκάρει τη δραστικότητα φωσφατάσης της καλσινευρίνης μειώνοντας την παραγωγή φλεγμονωδών κυτταροκινών από τα T-κύτταρα.[75] Χρησιμοποιείται για τη βραχυπρόθεσμη θεραπεία ασθενών με σοβαρή ψωρίαση ή αυτών που είναι σε έξαρση της νόσου. Δρα γρήγορα και έχει ισχυρή αποτελεσματικότητα. Δεν πρέπει να χορηγείται για πάνω από ένα χρόνο καθώς υπάρχει κίνδυνος για μη αντιστρεπτή νεφροτοξικότητα. Άλλες παρενέργειες περιλαμβάνουν υπέρταση, ρίσκο μολύνσεων, ναυτία, λέμφωμα. [8]

**Ακιτρεκίνη:** Η ακιτρεκίνη είναι ένα συστηματικό συνθετικό ρετινοειδές (ανάλογο της βιταμίνης A) που χρησιμοποιείται για τη θεραπεία σοβαρής ψωρίασης. Κανονικοποιεί τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των κερατινοκυττάρων και εμφανίζει ανοσορρυθμιστικές επιδράσεις στη μείωση προφλεγμονωδών κυτταροκινών όπως η IL-6 και η IFN-γ. [8,9,71] Η χειλίτιδα είναι η πιο κοινή παρενέργεια και εμφανίζεται δοσοεξαρτώμενα σε όλους τους ασθενείς. Πρέπει να αποφεύγεται στις γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας λόγω αυξημένου κινδύνου τερατογένεσης. [8,9] Έχει αποδειχθεί από τις κλινικές μελέτες ότι η ακιτρεκίνη είναι αποτελεσματική στην ψωρίαση τόσο ως μονοθεραπεία όσο και σε

συνδυασμό με άλλους συστηματικούς παράγοντες. Σαν μονοθεραπεία, θεωρείται πιο αποτελεσματική στην φλυκταινώδη και στην ερυθροδερμική ψωρίαση συγκριτικά με τη χρόνια ψωρίαση κατά πλάκας. [79]

**Εστέρες φουμαρικού οξέος:** Οι εστέρες φουμαρικού οξέος είναι μικρά μόρια που φαίνεται να ασκούν τις αντιψωριασικές επιδράσεις τους ενεργοποιώντας ποικίλα κυτταρικά μονοπάτια τα οποία είτε οδηγούν την επαγωγή της απόπτωσης των T κυττάρων είτε εμποδίζουν την απελευθέρωση των προ-φλεγμονωδών κυτταροκινών. Χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία ενηλίκων με μέτρα προς σοβαρή ψωρίαση. [78] Οι πιο κοινές παρενέργειες είναι συμπτώματα του γαστρεντερικού και φούντωμα/κοκκινίλα, τα οποία γενικά είναι ήπιας σοβαρότητας και εξαρτώνται και από τη χορηγούμενη δόση.[9]

**Απρεμιλάστη:** Η απρεμιλάστη είναι ένας αναστολέας της φωσφοδιεστεράσης-4 που χρησιμοποιείται για την αντιμετώπιση της μέτριας προς σοβαρής ψωρίασης και της ψωριασικής αρθρίτιδας. [76] Αναστολή της PDE-4 προκαλεί αύξηση της ενδοκυτταρικής συγκέντρωσης του cAMP και μπλοκάρει την παραγωγή προ-φλεγμονωδών κυτταροκινών όπως TNF-α, IFN-γ και IL-2 από τα μονοκύτταρα και τα T κύτταρα, ενώ αυξάνει αντιφλεγμονώδεις κυτταροκίνες όπως η IL-10. [77] Οι πιο κοινές παρενέργειες του φαρμάκου είναι ναυτία και διάρροια καθώς και μολύνσεις του ανώτερου αναπνευστικού. [9]

### 1.3.9.3.2 Βιολογικοί παράγοντες

Τα τελευταία χρόνια, οι βιολογικοί παράγοντες έχουν αλλάξει δραστικά τον τρόπο αντιμετώπισης της ψωρίασης. Είναι κυρίως ανασυνδυασμένα μονοκλωνικά αντισώματα ή χημικές πρωτεΐνες υποδοχείς, είτε πλήρως ανθρώπινα, είτε ανθρωποποιημένα, είτε χημικά ανθρώπου-ποντικού και στοχεύουν συγκεκριμένους φλεγμονώδεις μεσολαβητές. Χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση μέτριας προς σοβαρής ψωρίασης. [8] Παράγονται μέσα σε ζωντανά κύτταρα, δεν είναι ουσίες που έχουν συντεθεί χημικά.[80] Στον πίνακα 3, παρουσιάζονται οι κυριότεροι βιολογικοί παράγοντες που χρησιμοποιούνται σήμερα καθώς και ο μηχανισμός δράσης τους. Με εξαίρεση την infliximab, η οποία χορηγείται ενδοφλέβια, όλοι οι βιολογικοί παράγοντες που χρησιμοποιούνται στην ψωρίαση χορηγούνται με υποδόρια ένεση.[8]

**Πίνακας 3.** Οι κυριότεροι βιολογικοί παράγοντες για τη θεραπεία της ψωρίασης [9,75,80-84]

<b>ΟΝΟΜΑ</b>	<b>ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ</b>	<b>ΤΡΟΠΟΣ ΔΡΑΣΗΣ</b>
<b><u>Αναστολείς TNF-α</u></b>		
Etanercept	Ανασυνδυσασμένη πρωτεΐνη σύντηξης (Fc τμήμα IgG1 και τμήμα του υποδοχέα TNF-α)	Αναστέλλει τη δέσμευση του TNF-α στους υποδοχείς TNF 1 και 2
Infliximab	Χιμαιρικό μονοκλωνικό IgG1κ αντίσωμα	Δεσμεύει τη διαλυτή και τη διαμεμβρανική μορφή του TNF-α
Adalimumab	Ανθρώπινο μονοκλωνικό IgG1 αντίσωμα	Δεσμεύει τη διαλυτή και τη διαμεμβρανική μορφή του TNF-α
Certolizumab pegol	Fab τμήμα ανθρωποποιημένου μονοκλωνικού αντισώματος συζευγμένο με πολυαιθυλενική γλυκόλη	Δεσμεύει τη διαλυτή και τη διαμεμβρανική μορφή του TNF-α
<b><u>Αναστολείς IL-12/IL-23</u></b>		
Ustekinumab	Ανθρώπινο IgG1κ μονοκλωνικό αντίσωμα	Δεσμεύεται στην υπομονάδα p40 των κυτταροκινών IL-12 και IL-23
<b><u>Αναστολείς IL-23/IL-39</u></b>		
Guselkimab	Ανθρώπινο IgG1λ μονοκλωνικό αντίσωμα	Δεσμεύεται στην υπομονάδα p19 της κυτταροκίνης IL-23 και τη μπλοκάρει
Tildrakizumab	Ανθρωποποιημένο IgG1κ μονοκλωνικό αντίσωμα	Δεσμεύεται στην υπομονάδα p19 της κυτταροκίνης IL-23 και τη μπλοκάρει

Risankizumab	Ανθρωποποιημένο IgG1 μονοκλωνικό αντίσωμα	Δεσμεύεται στην υπομονάδα p19 της κυτταροκίνης IL-23 και τη μπλοκάρει
<b><u>Αναστολείς IL-17</u></b>		
Secukinumab	Ανθρώπινο IgG1κ μονοκλωνικό αντίσωμα	Μπλοκάρει την IL- 17A
Ixekizumab	Ανθρωποποιημένο IgG4κ μονοκλωνικό αντίσωμα	Μπλοκάρει την IL- 17A
Brodalumab	Ανθρώπινο μονοκλωνικό IgG2 αντίσωμα	Μπλοκάρει τον υποδοχέα IL-17RA

#### 1.4 Ανθρώπινος κυτταρομεγαλοϊός

Για τις ανάγκες της μελέτης, θα αναφερθούμε αναλυτικά στην επίδραση του ανθρώπινου κυτταρομεγαλοϊού (human cytomegalovirus, HCMV), και τη σχέση του με την ψωρίαση. Ο HCMV, επίσης γνωστός και ως ανθρώπινος ερπητοϊός 5 (human herpesvirus 5, HHV5), είναι ένας ερπητοϊός μέλος της υποοικογένειας β των ερπητοϊών. Όπως όλοι οι ερπητοϊοί, μπορεί να εγκαθιδρύσει μία λανθάνουσα κατάσταση και να παραμείνει δια βίου στο ανθρώπινο σώμα. Η λοίμωξη από HCMV είναι κοινή παγκοσμίως και περισσότερο κοινή μεταξύ ατόμων από χαμηλότερες κοινωνικο-οικονομικές ομάδες. Ο ιός μολύνει περίπου το 60% των ενηλίκων στις ανεπτυγμένες χώρες και πάνω από το 90% των ενηλίκων στις αναπτυσσόμενες. Συνήθως, η λοίμωξη είναι ασυμπτωματική ή τα συμπτώματα είναι ήπια. Ωστόσο, σε ανοσοκατεσταλμένους, ο ιός αποτελεί αίτιο σημαντικής νοσηρότητας. [85] Απομονώθηκε πρώτη φορά το 1957 από τον Craig και τους συνεργάτες του ενώ το 1960 ο Weller προσδιόρισε τον ιό ως κυτταρομεγαλοϊό βασιζόμενος στη διόγκωση που παρουσίαζαν τα προσβεβλημένα κύτταρα, γνωστή ως κυτταρομεγαλία. [86]

##### 1.4.1 Επιδημιολογία

Η λοίμωξη από HCMV είναι κοινή παγκοσμίως και περισσότερο κοινή μεταξύ ατόμων από χαμηλότερες κοινωνικο-οικονομικές ομάδες. [87] Ο ιός μολύνει περίπου το 60% των ενηλίκων στις ανεπτυγμένες χώρες και πάνω από το 90% των ενηλίκων στις αναπτυσσόμενες. [85] Στις Η.Π.Α φαίνεται να προσβάλει το 50% των ενηλίκων, ενώ σε κάποιους πληθυσμούς τα ποσοστά είναι υψηλότερα. Για παράδειγμα, το 90% των Μεξικανών-Αμερικάνων στις Η.Π.Α είναι οροθετικοί μέχρι την ηλικία των 50 ετών, ενώ στην Ιταλία το 88% των ασθενών



που έχουν κάνει μεταμόσχευση βλαστοκυττάρων είναι θετικοί. Στη Βραζιλία η θετικότητα φτάνει το 96%.[88] Επιπλέον, ο επιπολασμός του HCMV στις γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας κυμαίνεται από 45% στις ανεπτυγμένες χώρες έως 100% στις αναπτυσσόμενες. Έκθεση στον HCMV μπορεί να συμβεί μετά από επαφή με όλα τα σωματικά υγρά όπως το αίμα, τα ούρα, το σάλιο, τα δάκρυα, το μητρικό γάλα, οι γεννητικές εκκρίσεις καθώς και μέσα από μεταμοσχευμένα όργανα και μέσω του πλακούντα από τη μητέρα στο έμβρυο. Η λοίμωξη από HCMV είναι συνήθως ασυμπτωματική σε άτομα με ισχυρό ανοσοποιητικό σύστημα. Συμπτώματα εμφανίζονται κατά την συγγενή περιγεννητική μόλυνση στα νεογνίδια βρέφη καθώς και σε ανοσοκατασταλμένα άτομα όπως ασθενείς με HIV και λήπτες μοσχευμάτων που λαμβάνουν ανοσοκατασταλτική θεραπεία. [86,89]

#### 1.4.2 Δομή του ιού

Το ισομάτιο του HCMV συντίθεται από τις εξής δομές: Ένα εικοσαεδρικό **νουκλεοκαψίδιο** το οποίο περιέχει 162 καψομερή και περικλείει το δίκλωνο, ευθύγραμμο DNA. Το καψίδιο περιβάλλεται από ένα πρωτεϊνικό στρώμα, το **περίβλημα** (περικάλλυμα, υμένας) (tegument). Τα στοιχεία αυτά εσωκλείονται σε μία λιπιδική διπλοστοιβάδα στην επιφάνεια της οποίας εξέχουν γλυκοπρωτεΐνες και η οποία ονομάζεται **φάκελος** (επενδυτής). Το νουκλεοκαψίδιο έχει διάμετρο περίπου 110 nm. [90] Ο ώριμος ιός κυμαίνεται σε διάμετρο μεταξύ 200-300 nm. Οι πρωτεΐνες που περιβλήματος διακρίνονται σε δύο κατηγορίες: α) αυτές που έχουν δομικό ρόλο και είναι υπεύθυνες για τη συναρμολόγηση και αποσυναρμολόγηση των σωματιδίων του ιού κατά την είσοδό του στο κύτταρο και β) αυτές που τροποποιούν την απόκριση του κυττάρου ξενιστή στη λοίμωξη. Οι γλυκοπρωτεΐνες του φακέλου έχουν σημαντικό ρόλο στην προσκόλληση και διείσδυση του ιού στο κύτταρο. Αυτές περιλαμβάνουν τις gB, gH, gL, gM, gN και gO. [91]

#### 1.4.3 Δομή του γονιδιώματος

Το γονιδίωμα του HCMV είναι ένα γραμμικό δίκλωνο μόριο DNA μεγέθους περίπου 235 kb, αποτελώντας το μεγαλύτερο γονιδίωμα της οικογένειας των ερπητοϊών. Κωδικοποιεί περίπου 165 γονίδια. [91] Χαρακτηρίζεται από την παρουσία μοναδικών μεγάλων (UL: unique long) και μοναδικών μικρών (US: unique short) περιοχών, στα άκρα των οποίων βρίσκονται επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες βάσεων. Οι τελευταίες ευνοούν την ανακατανομή (ανασυνδυασμό) του γενετικού υλικού με αποτέλεσμα να υπάρχουν τέσσερα ισομερή του ιικού γονιδιώματος. [90]

#### 1.4.4 Λοίμωξη από HCMV

Διακρίνονται τρεις διαφορετικοί τύποι λοίμωξης:

1. Πρωταρχική λοίμωξη: συμβαίνει όταν ένα άτομο χωρίς ανοσία κατά του ιού μολύνεται για πρώτη φορά

2. Ενδογενής λοίμωξη/Επανενεργοποίηση: όταν ενεργοποιείται ξανά ο ιός που έχει παραμείνει σε λανθάνουσα κατάσταση στον ξενιστή

3. Εξωγενής επαναμόλυνση: λοίμωξη του ατόμου που έχει μολυνθεί ξανά, αυτή τη φορά από διαφορετικό στέλεχος του ιού [92]

Καθένας από αυτούς τους τρεις τύπους μπορεί να δυσκολέψει μία εγκυμοσύνη, καθιστώντας τον HCMV την πιο κοινή αιτία συγγενούς λοίμωξης. Αποτελεί επίσης την πιο κοινή και την πιο ευκαιριακή λοίμωξη μετά από μεταμόσχευση οργάνων ή μεταμόσχευση αιμοποιητικών βλαστικών κυττάρων και παραμένει σημαντική ευκαιριακή μόλυνση σε ασθενείς με HIV. [85]

Τα κύτταρα τα οποία προσβάλλονται κατά την λυτική, παραγωγική κατάσταση της λοίμωξης από HCMV είναι τα μακροφάγα, τα δενδριτικά, τα ενδοθηλιακά, τα λεία μυικά, τα επιθηλιακά και οι ινοβλάστες. Ο ιός μπορεί επίσης να εγκαταστήσει λανθάνουσα λοίμωξη στα μονοκύτταρα και στα CD34+ αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα. [93]

#### 1.4.5 Είσοδος του ιού στο κύτταρο

Οι γλυκοπρωτεΐνες που εντοπίζονται στην επιφάνεια του ιού δεσμεύονται στους υποδοχείς τους στην επιφάνεια των κυττάρων και επιτρέπουν την είσοδο του ιού με πολλαπλές διαδικασίες με κυτταροεξαρτώμενο τρόπο. Οι γλυκοπρωτεΐνες gB και gH/gL είναι απαραίτητες για την είσοδο του ιού στα κύτταρα. Για την λοίμωξη των ινοβλαστών, απαιτείται ο σχηματισμός του τριμερούς συμπλόκου των γλυκοπρωτεϊνών gH/gL/gO το οποίο δεσμεύεται στον υποδοχέα α του αυξητικού παράγοντα των αιμοπεταλίων (PDGFRα). Αυτή η δέσμευση προκαλεί την απευθείας σύντηξη της gB του ιού στην πλασματική μεμβράνη του κυττάρου σε ουδέτερο pH. Για την προσβολή των επιθηλιακών και ενδοθηλιακών κυττάρων, οι gH, gL σχηματίζουν ένα πενταμερές σύμπλοκο με άλλες τρεις πρωτεΐνες του ιού, τις UL128, UL130 και UL131A το οποίο δεσμεύεται στην νευροφιλίνη 2 (Nrp-2) και προάγει την pH-εξαρτώμενη ενδοκύττωση. [85,94,95]

#### **1.4.6 Κύκλος ζωής του HCMV στο ανθρώπινο κύτταρο – Λυτική κατάσταση**

Ο ιός εισέρχεται στα ανθρώπινα κύτταρα είτε μέσω απευθείας σύντηξης είτε μέσω ενδοκύττωσης. Ο ιός προσκολλάται στο κύτταρο μέσω αλληλεπιδράσεων μεταξύ των ιικών γλυκοπρωτεϊνών με ειδικούς υποδοχείς της επιφάνειας με αποτέλεσμα την ακόλουθη σύντηξη του περιβλήματος με την κυτταρική μεμβράνη και την απελευθέρωση των νουκλεοκαψιδίων στο κυτταρόπλασμα. Τα νουκλεοκαψίδια μετατοπίζονται στον πυρήνα όπου και απελευθερώνεται το ιικό DNA. Η αντιγραφή του ιού ακολουθείται από την παράλληλη αύξηση της πρωτεϊνικής σύνθεσης. [91] Απαιτείται η μεταγραφή τριών κατηγοριών γονιδίων, των άμεσων πρώιμων (IE, immediate early), των πρώιμων (E, early) και των όψιμων (L, late) και η ακόλουθη σύνθεση τριών κατηγοριών πρωτεϊνών προκειμένου να σχηματιστεί ο ώριμος ιός. Οι άμεσως πρώιμες πρωτεΐνες (immediate-early, IE) είναι ρυθμιστικές πρωτεΐνες οι οποίες κινητοποιούν τη σύνθεση των πρώιμων πρωτεϊνών. Οι πρώιμες πρωτεΐνες (early, E) έχουν περισσότερες λειτουργίες οι οποίες σχετίζονται με την αντιγραφή του DNA, το μεταβολισμό, την αναστολή της αντιγονοπαρουσίασης και τη μεταγραφική δραστηριότητα των όψιμων γονιδίων. Οι όψιμες (late) πρωτεΐνες αποτελούν κυρίως δομικά συστατικά του ιού, όπως αυτές που συγκροτούν το καψίδιο καθώς και οι γλυκοπρωτεΐνες του φακέλου. [96,97] Η διαδικασία αυτή αφορά την εγκύστωση των αντιγράφων του DNA του ιού και τη μετατροπή τους σε καψίδια τα οποία εξέρχονται στο κυτταρόπλασμα. Εκεί, στο ενδοπλασματικό δίκτυο και στο σύμπλεγμα Golgi, υφίστανται περαιτέρω επεξεργασία, ώστε να προστεθούν τα επιπλέον περιβλήματα και ο ιός να αποκτήσει την τελική του μορφή και να απελευθερωθεί μέσω εξωκύττωσης από την πλασματική μεμβράνη. [91]

#### **1.4.7 Λανθάνουσα κατάσταση**

Η ικανότητα εγκατάστασης μίας μακροχρόνιας λανθάνουσας λοίμωξης στον ξενιστή είναι καθοριστικό χαρακτηριστικό του HCMV, ο οποίος εγκαθιδρύει λανθάνουσα λοίμωξη στα πρόδρομα αιμοποιητικά κύτταρα του μυελού των οστών. Επιπλέον, τα ενδοθηλιακά κύτταρα των ιστών ίσως αποτελούν θέσεις λανθάνουσας μόλυνσης και ίσως έτσι συνεισφέρουν και στην παθογένεια του HCMV κατά τη μεταμόσχευση οργάνων. Ως λανθάνουσα κατάσταση μπορεί να οριστεί η διατήρηση του ιικού γονιδιώματος στο κύτταρο του ξενιστή απουσία αντιγραφής και παραγωγής ισοσωμάτων μαζί με τη διατήρηση της ικανότητας να επανενεργοποιηθεί υπό τις κατάλληλες συνθήκες. [98] Πιο αναλυτικά, η εγκατάσταση λανθάνουσας μόλυνσης εξαρτάται από την αποτελεσματική σίγηση της έκφρασης του μείζονος άμεσου πρώιμου γονιδίου (MIE, major immediate early). Στα CD34+ κύτταρα συμβαίνει μία σειρά γεγονότων τόσο στον ξενιστή όσο και στον ιό η οποία περιλαμβάνει την

αποτυχία των ικών trans ενεργοποιητών (π.χ. pp71) να μπουν στον πυρήνα σε συνδυασμό με τα υψηλά επίπεδα μεταγραφικών καταστολέων του υποκινητή του MIE (MIEP) στο περιβάλλον του ξενιστή. Το αποτέλεσμα είναι να δημιουργείται ένας φαινότυπος κατασταλμένης χρωματίνης που οδηγεί στη σίγηση του υποκινητή του MIE (MIEP) η οποία διατηρείται από την έκφραση του ικού γονιδίου UL138. Η κυτταρική διαφοροποίηση και η φλεγμονή φαίνεται να ευνοούν την επανενεργοποίηση. Ειδικότερα, η διαφοροποίηση των πρόδρομων μυελοειδών σε μακροφάγα ή δενδριτικά κύτταρα οδηγεί σε επανενεργοποίηση μέσω της επαγωγής του ικού γενετικού τόπου που απαιτείται για τη λυτική λοίμωξη - την MIE (major immediate early) περιοχή. [85] Σημαντικός φαίνεται να είναι και ο ρόλος του TNF-α στην επανενεργοποίηση του ιού. Ο TNF-α απελευθερώνεται κατά τη φλεγμονή και μπορεί να δεσμεύεται στον υποδοχέα του στην επιφάνεια των προσβεβλημένων από τον ιό κυττάρων τα οποία βρίσκονται σε λανθάνουσα κατάσταση. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή σημάτων που οδηγούν στην ενεργοποίηση του NF-κB, ο οποίος μετατοπίζεται στον πυρήνα και δεσμεύεται στην περιοχή του ενισχυτή των IE γονιδίων, ενεργοποιώντας την αντιγραφή του ικού γονιδιώματος. [92]

#### **1.4.8 Ανοσολογική απόκριση έναντι του HCMV**

Ο έλεγχος της HCMV λοίμωξης απαιτεί τη συντονισμένη δραστηριότητα τόσο του έμφυτου όσο και του επίκτητου ανοσοποιητικού μηχανισμού. Στην ενεργοποίηση της έμφυτης ανοσίας, τα φυσικά φονικά (NK) κύτταρα αποτελούν την πρώτη γραμμή άμυνας κατέχοντας σημαντικό ρόλο στον περιορισμό της λοίμωξης. Αυτό υποστηρίζεται και από το γεγονός ότι άτομα με έλλειψη ή επιβλαβή λειτουργία των NK κυττάρων, είναι περισσότερο ευάλωτα σε μολύνσεις από ερπητοϊούς. Μέσω της άμεσης απόκρισής τους, τα NK κύτταρα 'επιτίθενται' μέσω της μεταγραφής γονιδίων που κωδικοποιούν για κυτταροκίνες (κυρίως IFN-γ) και κυτταροτοξικά μόρια, επιτρέποντας τη γρήγορη έκκριση των μορίων αυτών στα κύτταρα στόχους. Τα κυτταροτοξικά CD8+ T κύτταρα είναι απαραίτητα επίσης, καθώς περιορίζουν την αντιγραφή του ιού κατά τα όψιμα στάδια της οξείας λοίμωξης από HCMV, ενώ τα CD4+ T κύτταρα περιορίζουν την αντιγραφή σε θέσεις χρόνιας λοίμωξης, κυρίως στους σιελογόνους αδένες. Η προστατευτική τους δράση απαιτεί τόσο κυτταρόλυση όσο και έκκριση κυτταροκινών, με την IFN-γ να αποτελεί την κύρια αντι-ιική κυτταροκίνη. [99]

Η έμφυτη ανοσία κατέχει σημαντικό ρόλο στην άμυνα κατά του HCMV καθώς και στην προετοιμασία της επίκτητης ανοσιακής απόκρισης. Φαίνεται ότι κατά την αρχική λοίμωξη, ο HCMV αναγνωρίζεται από τους υποδοχείς TLR (Tol-like receptors) και αυτό έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση σηματοδοτικών μονοπατιών τα οποία επάγουν την έκκριση

φλεγμονωδών κυτταροκινών. Ο ρόλος αυτών είναι η στρατολόγηση κυττάρων της έμφυτης ανοσίας και η αυξορύθμιση μορίων υπεύθυνων για την ενεργοποίηση της επίκτητης ανοσίας. Η ενεργοποίηση της επίκτητης ανοσίας είναι απαραίτητη για τον έλεγχο και τον περιορισμό της ιικής αναπαραγωγής με την βοήθεια ειδικών για τον HCMV CD8<sup>+</sup> και CD4<sup>+</sup> T κυττάρων.

Η αρχική λοίμωξη από τον HCMV σε υγιή άτομα τυπικά ξεκινάει με την αντιγραφή του ιού στο βλεννώδες επιθήλιο ακολουθώντας στη συνέχεια η διασπορά του ιού στα μονοκύτταρα και στα CD34<sup>+</sup> κύτταρα, στα οποία εγκαθιστά λανθάνουσα λοίμωξη. Η περιορισμένη έκφραση των ικών γονιδίων στην κατάσταση αυτή, περιορίζει την ανοσιακή αναγνώριση από τα κύτταρα τελεστές. Η διαφοροποίηση των μονοκυττάρων αυτών σε μακροφάγα ενεργοποιεί την παραγωγική λοίμωξη. Τα ικά σωματίδια τώρα μπορούν να επεξεργαστούν από τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (π.χ. τα δενδριτικά κύτταρα), τα οποία μπορούν να ενεργοποιήσουν τα αντιγονοειδικά T κύτταρα. Επιπλέον, τα δενδριτικά κύτταρα μέσω της ενεργοποίησης των TLRs και των ακόλουθων σηματοδοτικών μονοπατιών, μπορούν να εκκρίνουν κυτταροκίνες και χημειοκίνες που ενεργοποιούν συστατικά της έμφυτης ανοσίας όπως τα φυσικά φονικά κύτταρα (NK, natural killer cells). Ακόμη, τα μολυσμένα από τον ιό μακροφάγα μπορούν απευθείας να ενεργοποιήσουν τα αντιγονοειδικά T κύτταρα. Αυτά τα T κύτταρα (CD8<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> ή/και γδ T κύτταρα) καθώς και τα NK κύτταρα μπορούν να προκαλέσουν λύση των προσβεβλημένων κυττάρων ή να μπλοκάρουν την αντιγραφή και αναπαραγωγή του ιού μέσω της έκκρισης κυτταροκινών όπως η IFN-γ και ο TNF. Τέλος, η επίκτητη ανοσία περιλαμβάνει και τα B κύτταρα, τα οποία ενεργοποιούνται επίσης από τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα και συμμετέχουν στην εξουδετέρωση των εξωκυτταρικών σωματιδίων του ιού μέσω της έκκρισης αντισωμάτων. [91]

Ωστόσο ο κυτταρομεγαλοϊός έχει αναπτύξει μηχανισμούς που του επιτρέπουν να αποφύγει την ανοσιακή απόκριση. Πιο αναλυτικά, η αναγνώρισή του από τα CD8<sup>+</sup> T κύτταρα περιορίζεται με την μειορύθμιση του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (MHC) τάξης I και την παρεμπόδιση της αντιγονοπαρουσίασης στην κυτταρική επιφάνεια. Παρομοίως, η παρουσίαση στα CD4<sup>+</sup> T κύτταρα από το MHC τάξης II παρεμποδίζεται με στρατηγικές που περιλαμβάνουν την έκφραση της ιικής ιντερλευκίνης-10, η οποία προάγει την μειορύθμιση του MHC II. Επίσης, ο HCMV επάγει την έκφραση ενός HLA-E ανασταλτικού υποδοχέα καθώς και πολυάριθμων γονιδίων που αδρανοποιούν τους υποδοχείς ενεργοποίησης των NK κυττάρων ενώ επάγουν ανασταλτικούς υποδοχείς. Η απόκριση ιντερφερονών αναστέλλεται επίσης. Τέλος, ο HCMV έχει την ικανότητα να ελέγχει τη

δραστικότητα των κυτταροκινών και χημειοκινών ρυθμίζοντας κατά συνέπεια τη στρατολόγηση και δράση των κυττάρων του ανοσοποιητικού στη θέση της λοίμωξης. [85]

#### 1.4.9 Εκδήλωση συμπτωμάτων

Η λοίμωξη από HCMV σπάνια προκαλεί συμπτώματα στα υγιή άτομα. Ωστόσο στα έμβρυα, στα νεογνά και στα ανοσοκατασταλμένα άτομα, η προσβολή από τον ιό μπορεί να επιφέρει σοβαρές κλινικές επιπτώσεις. Πιο αναλυτικά:

- Λοίμωξη σε υγιείς ενήλικες

Η πρωταρχική λοίμωξη είναι συνήθως ασυμπτωματική και σπάνια προκαλεί ασθένεια. Σε κάποιες περιπτώσεις μπορεί να οδηγήσει σε σύνδρομο μονοπυρήνωσης παρόμοιο με αυτό που προκαλεί ο ιός Epstein-Barr (EBV). Χαρακτηρίζεται από πυρετό, μυαλγία, πονοκέφαλο, λεμφαδενοπάθεια και σπληνομεγαλία και τα συμπτώματα μπορεί να παραμείνουν για κάποιες εβδομάδες. [91, 100]

- Συγγενής και νεογνική λοίμωξη

Ο HCMV αποτελεί την πιο συχνή συγγενή ιογενή λοίμωξη, με 40.000 περιπτώσεις το χρόνο να καταγράφονται στις Η.Π.Α. Φαίνεται επίσης ότι από τα προσβαλλόμενα βρέφη, το 13% εμφανίζει συμπτώματα όπως είναι ο ίκτερος και η σπληνομεγαλία στη γέννηση και ένα ποσοστό λοίμωξης της τάξης του 0,5% είναι θανατηφόρο. [88] Περίπου το 20% των παιδιών που γεννιούνται με συγγενή λοίμωξη εμφανίζουν μόνιμες επιπλοκές όπως νευροαισθητήρια απώλεια ακοής, απώλεια όρασης, εγκεφαλική παράλυση ή νοητική υστέρηση. [101] Οροαρνητικές μητέρες που μολύνονται με τον ιό κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης έχουν υψηλότερο ρίσκο να μεταδώσουν τον ιό στα έμβρυα. Ο ιός μπορεί να μεταδοθεί και στα νεογέννητα μέσω το μητρικού γάλακτος. [88]

- Λοίμωξη σε ανοσοκατασταλμένους ασθενείς

Λοίμωξη από HCMV μπορεί να συμβεί επίσης μετά από μεταμόσχευση οργάνων, μεταμόσχευση μυελού των οστών καθώς και σε ασθενείς με σύνδρομο επίκτητης ανοσολογικής ανεπάρκειας (AIDS).

**HIV:** Η πιο συχνή εκδήλωση της λοίμωξης από HCMV σε ασθενείς με HIV είναι η αμφιβληστροειδίτιδα, η οποία προκαλείται στο 85% των περιπτώσεων και μπορεί να οδηγήσει σε τύφλωση. Άλλα συμπτώματα περιλαμβάνουν εντεροκολίτιδα, γαστρίτιδα, ηπατίτιδα και εγκεφαλίτιδα.

**Μεταμόσχευση οργάνων:** Ο HCMV αποτελεί σημαντικό παθογόνο για τους λήπτες οργάνων προκαλώντας νοσηρότητα και θνητότητα μετά τη μεταμόσχευση, ενώ σχετίζεται μια με απόρριψη του μοσχεύματος. Πάνω από το 50% των ασθενών εμφανίζουν τη λοίμωξη. Υψηλότερο ρίσκο ωστόσο έχουν εκείνοι οι οποίοι είναι οροαρνητικοί για HCMV και λαμβάνουν μόσχευμα από έναν οροθετικό δότη, με κίνδυνο να εκδηλώσουν σοβαρή νόσο.

**Μεταμόσχευση αιμοποιητικών βλαστικών κυττάρων:** Οι λήπτες αλλογενούς μεταμόσχευσης αιμοποιητικών κυττάρων εμφανίζουν επίσης αυξημένο ρίσκο λοίμωξης. Σε αυτή την περίπτωση, πρωταρχική μόλυνση συμβαίνει σε περίπου 30% οροαρνητικών ληπτών ενώ η επανενεργοποίηση HCMV λοίμωξης συμβαίνει στο 80% περίπου των ασθενών που ήταν οροθετικοί για τον ιό πριν τη μεταμόσχευση.[91]

#### **1.4.10 Θεραπεία της λοίμωξης από HCMV**

Η γανσικλοβίρη, η φוסκαρνέτη και η κιντοφοβίρη είναι τα τρέχοντα διαθέσιμα φάρμακα για την αντιμετώπιση του HCMV. Η γανσικλοβίρη (και το από του στόματος ανάλογο της, η βαλγανσικλοβίρη) είναι ένα ανάλογο γουανίνης, το οποίο μετά από φωσφορυλίωση από την κινάση UL97 του HCMV, δρα σαν τερματιστής της αλυσίδας κατά την αντιγραφή του ιικού DNA. Αναστέλλει επίσης τη δραστηριότητα της ιικής DNA πολυμεράσης. Το νουκλεοσιδικό μονοφωσφορικό ανάλογο κιντοφοβίρη και το πυροφωσφορικό ανάλογο φוסκαρνέτη αναστέλλουν επίσης την δραστηριότητα της ιικής DNA πολυμεράσης, αλλά αυτά δεν χρειάζονται προηγούμενη ενεργοποίηση από κάποια άλλη ιική πρωτεΐνη. [88] Τα φάρμακα αυτά χορηγούνται ενδοφλέβια συνεπώς έχουν μία αρχική φάση ένταξης κατά την οποία υψηλές δόσεις του φαρμάκου μειώνουν την αντιγραφή του ιού και ακολουθεί μία φάση διατήρησης κατά την οποία χαμηλότερες δόσεις του φαρμάκου εμποδίζουν την επανενεργοποίηση του κυτταρομεγαλοϊού και την εξέλιξη της ασθένειας. [102] Ωστόσο τα φάρμακα αυτά έχουν χαμηλή βιοδιαθεσιμότητα όταν χορηγούνται από το στόμα, χαμηλή δραστηριότητα, τοξικότητα ενώ σε κάποιες περιπτώσεις απαιτείται νοσηλεία στο νοσοκομείο. [100]

#### **1.5 HCMV και αυτοάνοσα νοσήματα**

Τα αυτοάνοσα νοσήματα αποτελούν ένα σύνολο που περιλαμβάνει πάνω από 80 χρόνιας νόσους οι οποίες προκύπτουν μέσω αλληλεπίδρασης γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων. Ιδιαίτερα σημαντικός παράγοντας στην παθογένειά τους αποτελούν οι ιογενείς λοιμώξεις, όπως η λοίμωξη από τον HCMV. Συγκεκριμένα, η αλληλεπίδραση μεταξύ του ανοσοποιητικού συστήματος και του HCMV έχει οδηγήσει τους επιστήμονες στην υπόθεση

ότι ο ιός αυτός εμπλέκεται στην ανάπτυξη αυτοάνοσων νοσημάτων με αρκετές μελέτες να διερευνούν την υπόθεση αυτή. [103] Φαίνεται, λοιπόν, πως συμβάλει σε μία πληθώρα αυτοάνοσων νοσημάτων όπως ρευματολογικά (Συστηματικός ερυθματώδης λύκος, Συστηματική σκλήρυνση, Ρευματοειδής αρθρίτιδα), νευρολογικά (Πολλαπλή σκλήρυνση), εντερικές διαταραχές (Νόσος του Crohn & ελκώδης κολίτιδα) και μεταβολικές νόσους (Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 1) με διάφορους μηχανισμούς. [103,104]

Πολλές φορές οι ασθενείς που έχουν προσβληθεί από HCMV αναπτύσσουν αυτοάνοσα φαινόμενα. Μη οργανοειδικά αυτοαντισώματα όπως αυτά κατά των ενδοθηλιακών κυττάρων, κατά των λείων μυϊκών κυττάρων και τα αντιπυρηνικά αντισώματα έχουν βρεθεί σε μεταμοσχευμένους ασθενείς με HCMV λοίμωξη. Επιπλέον, η υπερ-γ-ανοσοσφαιριναιμία, η κρυσφαιριναιμία και η παραγωγή αυτοαντισωμάτων αποτελούν χαρακτηριστικά της επαγόμενης από HCMV μονοπυρήνωσης. [92,105]

### 1.5.1 Μηχανισμοί της HCMV-επαγόμενης αυτοανοσίας

Ο HCMV μπορεί να επάγει ή να διαιωνίσει την αυτοανοσία μέσα από διαφορετικές διαδικασίες οι οποίες μπορούν να χωριστούν σε δύο κατηγορίες: 1) αντιγονοειδικές (π.χ. μοριακή μίμηση) και 2) μη αντιγονοειδικές (π.χ. ενεργοποίηση παρακείμενων κυττάρων). Από ανοσοπαθολογικής μεριάς, ο HCMV μπορεί να προκαλέσει ή να διατηρήσει την αυτοανοσία μέσα από τους τρεις ακόλουθους μηχανισμούς: (i) παραγωγή αυτοαντισωμάτων, (ii) ενίσχυση της φλεγμονής και (iii) καταστροφή των αγγείων. Πιο αναλυτικά:

**(i) Παραγωγή αυτοαντισωμάτων** → η παρουσία ικών επιτόπων, με παρόμοια δομικά χαρακτηριστικά με εαυτούς, μπορεί να οδηγήσει στην ενεργοποίηση τόσο των T όσο και των B κυττάρων μέσω της αντιγονοπαρουσίασής τους από τα APCs παράγοντας τελικά αυτοαντισώματα

**(ii) Ενισχυμένη φλεγμονή** → μη ειδική αντί-HCMV ανοσιακή απόκριση οδηγεί στην απελευθέρωση εαυτών αντιγόνων και κυτταροκινών από τον ιστό που επηρεάζεται. Αυτά τα εαυτά αντιγόνα, όταν παρουσιάζονται από τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα μπορούν να ενεργοποιήσουν τα αυτοδραστικά T λεμφοκύτταρα.

**(iii) Καταστροφή των αγγείων** → μακροχρόνια HCMV λοίμωξη μπορεί να προκαλέσει αγγειακή βλάβη. Η απελευθέρωση ενδοθηλιακών αντιγόνων και κυτταροκινών επάγει την ενεργοποίηση των αυτοδραστικών T και B λεμφοκυττάρων, καταλήγοντας σε επίθεση έναντι των ενδοθηλιακών κυττάρων από συγκεκριμένα αυτοαντισώματα.[103]



Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν η μοριακή μίμηση του UL94 του HCMV στη συστηματική σκλήρυνση (Systemic sclerosis, SSc) και του UL83/pp65 σε ασθενείς με συστηματικό ερυθματώδη λύκο (Systemic Lupus Erythematosus, SLE) καθώς και η επιδείνωση της φλεγμονής των αρθρώσεων από την επαγωγή και επέκταση των CD4+/CD28-T κυττάρων σε ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα (Rheumatoid Arthritis, RA). [106]

## 1.6 HCMV και ψωρίαση

Προηγούμενες έρευνες έχουν προτείνει μολυσματικά μοντέλα που συμβάλλουν στην παθογένεση αυτοάνοσων νοσημάτων όπως συμβαίνει με τον EBV και την πολλαπλή σκλήρυνση. [107] Ένα τέτοιο μοντέλο έχει προταθεί και για την ψωρίαση σε σχέση με την στρεπτοκοκκική λοίμωξη από *Streptococcus pyogenes*, με κύριο μηχανισμό τη μοριακή μίμηση μεταξύ του στρεπτοκοκκικού M-πεπτιδίου και των κερατινών της επιδερμίδας. [108] Μία έρευνα που πραγματοποιήθηκε το 2004 από τον Johnston και τους συνεργάτες του έδειξε ότι οι ασθενείς με ψωρίαση έχουν CD8+ T κύτταρα τα οποία αναγνωρίζουν αυτοαντιγόνα κατά της κερατίνης 17 (K17) και πως οι κοινοί επιτόποι μεταξύ των στρεπτοκοκκικών M πρωτεϊνών και των ανθρώπινων κερατινών ίσως αποτελούν στόχους των CD8+ T κυττάρων που διηθούν το δέρμα των ψωριασικών κακώσεων. [109]

Και ενώ η μίμηση μεταξύ αυτών των δύο μορίων φαίνεται να συμμετέχει στην ανάπτυξη των ψωριασικών πλακών, τα ανοσολογικά χαρακτηριστικά της ψωρίασης προτείνουν ότι και άλλοι παράγοντες μπορεί να είναι εξίσου σημαντικοί. Ερευνητές έχουν εκφράσει τη θέση ότι οποιοσδήποτε ιός που θα μπορούσε να προταθεί ως υποψήφιος αιτιολογικός παράγοντας για την παθογένεια της νόσου θα πρέπει να εμφανίζει τα εξής χαρακτηριστικά: α) να είναι κοινός, β) να εμφανίζει κυρίως ασυμπτωματική πρωταρχική λοίμωξη, γ) να μπορεί να παραμένει σε λανθάνουσα κατάσταση στον ξενιστή και να επανενεργοποιείται υπό κατάλληλες συνθήκες, δ) να μπορεί δυνητικά να ανιχνευτεί στο δέρμα και ε) να μπορεί να προκαλέσει τοπική φλεγμονώδη απόκριση. Έτσι ο Kirby και οι συνεργάτες του πραγματοποίησαν μία μελέτη για το αν ο HCMV ή οι HHV-6 και HHV-7 αποτελούν αιτιολογικούς παράγοντες που εμπλέκονται στην εκδήλωση της ψωρίασης. Οι ανθρώπινοι ερπητοϊοί 6 και 7 καθώς και ο κυτταρομεγαλοϊός αποτελούν κοινά παθογόνα, τα οποία προκαλούν χρόνια, ασυμπτωματική λοίμωξη και είναι ικανά να επάγουν τοπικές ανοσολογικές αντιδράσεις. Ο HCMV μπορεί να προκαλέσει την παραγωγή του TNF-α και της IL-2, τα οποία εντοπίζονται αυξημένα στις ψωριασικές πλάκες. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι δεν υπάρχει σύνδεση μεταξύ της λοίμωξης από HCMV, HHV-6 ή HHV-7 με την εμφάνιση της ψωρίασης. Καμία συσχέτιση δεν εμφανίστηκε μεταξύ της προσβολής από τον HCMV, της κλινικής σοβαρότητας της νόσου

και της θεραπείας αυτής. Οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα πως οι τρεις αυτοί ερπητοϊοί δεν έχουν ρόλο στην παθογένεια της ψωρίασης. [110]

Έρευνα που πραγματοποιήθηκε από τον Asadullah και τους συνεργάτες του σχετικά με το ρόλο της ενεργής, ασυμπτωματικής λοίμωξης από HCMV στην παθοφυσιολογία της ψωρίασης έδειξε αυξημένη συχνότητα HCMV αντιγοναιμίας σε ασθενείς με ψωρίαση η οποία οφείλεται σε ασυμπτωματική ενεργοποίηση λανθάνουσας HCMV λοίμωξης. Ωστόσο, το DNA του ιού δεν ανιχνεύτηκε στις ψωριασικές κακώσεις των ασθενών με αντιγοναιμία. Επιπλέον, η χορήγηση αντιψωριασικής θεραπείας οδήγησε σε εκκαθάριση της αντιγοναιμίας στους ασθενείς υποδεικνύοντας μία σχέση μεταξύ της δραστηριότητας της νόσου και της ενεργοποίησης του ιού. Τέλος, η ενεργή λοίμωξη από HCMV σε ασθενείς με ψωρίαση φάνηκε να σχετίζεται με υπερέκφραση του TNF- $\alpha$ , ο οποίος έχει δειχθεί ότι μπορεί να προκαλέσει επανενεργοποίηση του ιού από τη λανθάνουσα κατάσταση. Ίσως αυτή η ενεργοποίηση του ιού να αποτελεί παράγοντα έξαρσης της ψωρίασης, καθώς οδηγεί σε μία φλεγμονώδη απόκριση με την ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού και την παραγωγή προ-φλεγμονωδών κυτταροκινών. [111]

Μία επιπλέον έρευνα που πραγματοποιήθηκε το 2011 από τον Weitz και τους συνεργάτες τους έδειξε ότι υπάρχει μία διαδραστική σχέση μεταξύ της ψωρίασης και της λοίμωξης από HCMV η οποία ίσως μεσολαβείται από τα περιφερειακά CD8+ T κύτταρα. Πιο αναλυτικά, οι ερευνητές χρησιμοποιώντας δείγματα από 29 ασθενείς με ψωρίαση και 29 υγιείς μάρτυρες πραγματοποίησαν αναλύσεις για την οροθετικότητα έναντι του ιού, την αντιγοναιμία, τη συχνότητα των περιφερειακών HCMV-εξειδικευμένων T κυττάρων καθώς και τον φαινότυπο των περιφερειακών CD8+ T κυττάρων. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι: i) Η σοβαρότητα της ψωρίασης ήταν υψηλότερη στους θετικούς για τον HCMV ασθενείς καθώς και ότι υπάρχει θετική συσχέτιση μεταξύ της σοβαρότητας της νόσου και της HCMV-αντιγοναιμίας. ii) Συγκριτικά με τους θετικούς για τον ιό υγιείς μάρτυρες, οι θετικοί στον ιό ασθενείς με ψωρίαση εμφάνισαν μειωμένη συχνότητα των κυκλοφορούμενων HCMV-εξειδικευμένων T κυττάρων, τα οποία ωστόσο αυξήθηκαν μετά από κατάλληλη αντιψωριασική θεραπεία. iii) Ο ανοσοφαινότυπος των περιφερειακών CD8+ T κυττάρων ελεγχόταν από τον επιπολασμό του ιού στον ορό των ατόμων. iv) Επιλεκτική ανάλυση HCMV-οροαρνητικών ασθενών με ψωρίαση αποκάλυψε μία σημαντική εξάπλωση ενός -πιθανώς πρόωρα ενεργοποιημένου – πληθυσμού CD8+ T κυττάρων με φαινότυπο διαφοροποίησης που δεν είχε ακόμα περιγραφεί. Ο πληθυσμός αυτός μειώθηκε υπό αποτελεσματική αντιψωριασική θεραπεία ενώ παράλληλα αυξήθηκαν τα διαφοροποιημένα δραστικά CD8+ T κύτταρα. [112]

### **1.7 Σκοπός της εργασίας**

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη της αντιγονοειδικής χυμικής απόκρισης έναντι του ανθρώπινου κυτταρομεγαλοϊού σε ασθενείς με ψωρίαση και η συσχέτιση με τα κλινικά χαρακτηριστικά της νόσου.

Συγκεκριμένα, ο ειδικός σκοπός της μελέτης είναι η ενδεδειγμένη προσμέτρηση των αντισωμάτων κατά του HCMV και των ανοσοεπικρατούντων αντιγόνων του σε ασθενείς με ψωρίαση και μάρτυρες.

Η μελέτη αναμένει να βρει αυξημένη συχνότητα αντισωμάτων κατά συγκεκριμένων αντιγόνων του ιού στους ασθενείς με ψωρίαση σε σχέση με τους μάρτυρες, τα οποία δυνητικά θα μπορούσαν να συσχετιστούν παθογενετικά με τη νόσο.

## 2. Υλικά και μέθοδοι

### 2.1 Υλικά

#### 2.1.1 Πλαστικά και αναλώσιμα

**Πίνακας 4.** Υλικά, πλαστικά και αναλώσιμα που χρησιμοποιήθηκαν

Υλικό	Εταιρία
Ακρορύγχια πιπετών	Gilson Inc., Γουισκόνσιν, ΗΠΑ
Πιπέτες τύπου Pasteur 3 ml	Greiner Bio-One GmbH, Γερμανία
Φορέας επώασης ταινιών δοκιμασίας ανοσοαποτύπωσης 30 καναλιών	Euroimmun AG, Γερμανία
Σύριγγα 20 ml με βελόνα 21 gauge	Webest Medical Product Co., Ltd., Κίνα
Σωληνάρια κρυοαποθήκευσης (cryovials) 1.5 ml	Corning Inc., Νέα Υόρκη, ΗΠΑ
Σωληνάρια τύπου Eppendorf 1.5 ml	FL medical, Ιταλία
Σωληνάρια τύπου Falcon 50 ml	Corning Inc., Νέα Υόρκη, ΗΠΑ
Σωληνάρια τύπου Falcon 15 ml	Corning Inc., Νέα Υόρκη, ΗΠΑ
Ταινία εργαστηρίου «Parafilm»	Pechivery Plastic Packaging, Ιλινόι, ΗΠΑ

#### 2.1.2 Μηχάνημα και εργαλεία

**Πίνακας 5.** Εργαλεία που χρησιμοποιήθηκαν

Μηχάνημα/εργαλείο	Εταιρία
Αναδευτήρας τύπου Vortex	Velp Scientifica, Ιταλία
Αναδευτήρας τύπου Rocker	Heidolph Instruments, Γερμανία
Επιτραπέζια φυγόκεντρος Z400 (με ρότορες για σωληνάρια τύπου Falcon 15 ml και 50 ml)	HERMLE Labortechnik GmbH, Γερμανία
Εργαστηριακός απαγωγός αερίων	Daihan Labtech Co. Ltd, Νότια Κορέα
Θερμαινόμενος μαγνητικός αναδευτήρας	Velp Scientifica, Ιταλία
Ηλεκτρονικό χρονόμετρο	QIAGEN, Γερμανία
Δοχείο κατάψυξης κυττάρων «Mr. Frosty»	Nalge Nunc, Νέα Υόρκη, ΗΠΑ
Καταψύκτης -20 °C	Whirlpool, Μίσιγκαν, ΗΠΑ

Καταψύκτης -80 °C	Daihan Labtech Co. Ltd, Νότια Κορέα
Ψυγείο 4 °C	Whirlpool, Μίσιγκαν, ΗΠΑ
Πιπέτες Finnpiettes	ThermoFisher Scientific Inc., Μασαχουσέτη, ΗΠΑ

### 2.1.3 Εμπορικά διαθέσιμες δοκιμασίες (kit)

**Πίνακας 6.** Εμπορικά διαθέσιμες δοκιμασίες

Δοκιμασία	Εταιρία
Anti-CMV WESTERNBLOT (IgG)	Euroimmun AG, Γερμανία

### 2.1.4 Εμπορικά διαθέσιμα αντιδραστήρια

**Πίνακας 7.** Εμπορικά διαθέσιμα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν

Αντιδραστήριο	Εταιρία
Fetal Bovine Serum (FBS), εμβρυικός ορός βοδινού	Gibco, ThermoFisher Scientific Inc., Μασαχουσέτη, ΗΠΑ
Διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO)	Sigma Aldrich, Γερμανία
Θρεπτικό μέσο RPMI-1640 (1X) με L-Glutamate	Gibco, ThermoFisher Scientific Inc., Μασαχουσέτη, ΗΠΑ
Φικόλη Lymphosep Lymphocyte Separation Media	Biosera, Γαλλία
Ηπαρίνη (5000 IU/ml)	LEO Pharma A/S, Δανία

### 2.1.5 Βιολογικό υλικό ασθενών με ψωρίαση και υγιών μαρτύρων

Συνολικά, μελετήθηκαν 51 ασθενείς με ψωρίαση (Ps) (24 γυναίκες, 47,1%, μέσης ηλικίας 48,8, εύρους 24-70), από τους οποίους συλλέχθηκαν δείγματα ολικού περιφερικού αίματος. Στον Πίνακα 8 παρουσιάζονται τα κύρια δημογραφικά και κλινικά στοιχεία των ατόμων αυτών. Κατά την αιμοληψία 10 ασθενείς (19,6%) δεν λάμβαναν κάποια θεραπευτική αγωγή. Μεταξύ των υπολοίπων, 17 ασθενείς (33,3%) λάμβαναν κάποιον βιολογικό παράγοντα, 6 ασθενείς (11,8%) λάμβαναν απρεμιλάστη και 17 ασθενείς (33,3%) λάμβαναν άλλες κλασσικές συστηματικές θεραπείες.

Χρησιμοποιήθηκαν επίσης δείγματα ορού από 51 υγιείς μάρτυρες (HC) (34 γυναίκες, 66,7%, μέσης ηλικίας 47,3, εύρους 20-71) αντιστοιχισμένα σε ηλικία και φύλλο. Στον Πίνακα 8 παρουσιάζονται επίσης, τα κύρια δημογραφικά στοιχεία των ατόμων αυτών. Κανένας από τους HC δεν είχε οικογενειακό ιστορικό αυτοάνοσης ασθένειας και καμία άλλη σοβαρή συννοσηρότητα όπως καρκίνο, χρόνια καρδιαγγειακή νόσο, υπέρταση, σακχαρώδη διαβήτη ή κάποια άλλη χρόνια νόσο. Όλοι οι ασθενείς και οι υγιείς μάρτυρες ήταν λευκοί Καυκάσιοι.

**Πίνακας 8.** Κύρια δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά ασθενών με ψωρίαση (Ps) και υγιών μαρτύρων (HC)

Χαρακτηριστικό	Ps (n=51)	HC (n=51)	p Ps vs HC
Ηλικία	50,1 ± 14,7	47,3 ± 16,1	0,364 ns*
Φύλο			0,072**
Ανδρες	27 (52,9%)	17 (33,3%)	
Γυναίκες	24 (47,1%)	34 (66,7%)	
Ηλικία εμφάνισης νόσου***	31,8 ± 15,0	NA	NA
Διάρκεια νόσου***	18,0 ± 11,9	NA	NA
PASI score***	9,8 ± 7,7	NA	NA

Κύρια δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των 51 ασθενών με ψωρίαση (Ps) και των 51 υγιών μαρτύρων (HC). Τα δεδομένα του φύλου αναπαριστούν τον απόλυτο αριθμό των περιπτώσεων και σε παρένθεση τις συχνότητες με τη μορφή εκατοστιαίων ποσοστών. Τα δεδομένα της ηλικίας, της διάρκειας της νόσου, της ηλικίας εμφάνισης της νόσου και του PASI score αναπαριστούν τη μέση τιμή με την τυπική απόκλιση (mean ± standard deviation). \*Οι τιμές p υπολογίστηκαν με τη δοκιμασία t του Student (Student's t-test, two-tailed, equal variances not assumed), ενώ για την ανάλυση ανεξάρτητων, μη παραμετρικών μεταβλητών έγινε χρησιμοποιώντας τη δοκιμασία των Mann-Whitney (Mann-Whitney test). \*\* Οι τιμές p υπολογίστηκαν χρησιμοποιώντας τη δοκιμασία  $\chi^2$  του Pearson (Pearson's Chi-Square) και τη διόρθωση του Yates για συνεχή κατανομή (Yates Correction for Continuity), ενώ σε περιπτώσεις ανεξάρτητων δειγμάτων μικρού μεγέθους χρησιμοποιήθηκε ο ακριβής έλεγχος του Fisher (Fisher's Exact Test).\*\*\* Για 3 από τους 51 ασθενείς δεν υπήρχαν διαθέσιμα δεδομένα όσον αφορά την ηλικία εμφάνισης και τη διάρκεια της νόσου ούτε και για το PASI score. Αναφέρονται οι διαφορές με τάση για στατιστική σημαντικότητα ( $p < 0,1$ ). Συντομεύσεις: NA, not available, ns, not significant, PASI, psoriasis area and severity index, HCMV, human cytomegalovirus

## **2.2 Μέθοδοι**

### **2.2.1. Διαχωρισμός παραγώγων αίματος σε φικόλη και κρυοαποθήκευση μονοπύρηνων κυττάρων του περιφερικού αίματος**

#### **2.2.1.1 Εισαγωγή**

Το ολικό περιφερικό αίμα μετά την απομόνωση του, με κατάλληλη επεξεργασία και φυγοκέντρηση σε φικόλη μπορεί να διαχωριστεί σε τρεις στιβάδες (πλάσμα, λεμφοκύτταρα και ερυθροκύτταρα. Ο διαχωρισμός γίνεται καθώς το πλάσμα και τα λεμφοκύτταρα είναι ελαφρύτερα, έχουν δηλαδή μικρότερη πυκνότητα από τα ερυθροκύτταρα και τη φικόλη. Έτσι, μετά τη φυγοκέντρηση, τα ερυθροκύτταρα και τα πολυμορφοπύρηνια διαπερνούν τη φικόλη, και σχηματίζουν ένα ίζημα στον πυθμένα. Ο ορός παραμένει πάνω από τη φικόλη και μεταξύ φικόλης και ορού εντοπίζονται τα λεμφοκύτταρα. Τα κύτταρα αυτά αποτελούν τα μονοπύρηνια κύτταρα του περιφερικού αίματος (peripheral blood mononuclear cells, PBMCs) και αποθηκεύονται σε βαθιά κατάψυξη. Απαραίτητη για την σωστή ψύξη των κυττάρων είναι η προσθήκη ενός κρυοπροστατευτικού παράγοντα, όπως είναι το διμεθυλοσουλφοξείδιο (dimethyl sulfoxide, DMSO). Επίσης, η προσθήκη ισοπροπυλικής αλκοόλης στο ειδικό δοχείο κατάψυξης «Mr. Frosty» βοηθάει στο να καταψυχθούν αργά και ομοιόμορφα τα κύτταρα.

#### **2.2.1.2 Πρωτόκολλο διαδικασίας**

Με τη χρήση ηπαρινισμένης σύριγγας λαμβάνονται 20 χιλιοστόλιτρα (ml) περιφερικού αίματος από τον ασθενή. Στη συνέχεια όλη η πειραματική διαδικασία πραγματοποιείται σε απαγωγό αερίων για την εξασφάλιση αποστειρωμένων συνθηκών. Σε ένα σωληνάριο Falcon των 50 ml τοποθετούνται 10 ml φικόλης (LymphoPrep) και από πάνω επιστρώνεται το δείγμα αίματος. Ακολουθεί φυγοκέντρηση στις 1800 στροφές ανά λεπτό για 20 λεπτά (ταχύτητα 9, επιβράδυνση 4) σε θερμοκρασία δωματίου (room temperature, RT). Με τη χρήση πλαστικής πιπέτας τύπου Pasteur απομονώνονται προσεκτικά ο ορός, τα λεμφοκύτταρα και τα ερυθροκύτταρα τα οποία τοποθετούνται σε ξεχωριστά σωληνάρια Falcon των 15 ml. Ο ορός και τα ερυθροκύτταρα αποθηκεύονται στην κατάψυξη, στους -20 °C. Στο Falcon με τα PBMCs προστίθεται θρεπτικό υλικό RPMI-1640 μέχρι τελικό όγκο 15 ml και ακολουθεί φυγοκέντρηση στις 2200 στροφές ανά λεπτό για 5 λεπτά (ταχύτητα 9, φρένα 9) σε RT. Μετά την φυγοκέντρηση, με τη χρήση πλαστικής πιπέτας Pasteur απορρίπτεται το υπερκείμενο και τα κύτταρα που έχουν καθιζάνει διαλύονται σε 3ml κρυοπροστατευτικού διαλύματος. Το κρυοπροστατευτικό αυτό διάλυμα αποτελείται από 70% εμβρυικό ορό βοδινού (fetal bovine

serum, FBS), 20% θρεπτικό υλικό RPMI-1640 και 10% DMSO. Τέλος, τα κύτταρα μοιράζονται σε σωληνάρια κρυοαποθήκευσης (cryovials) των 1,5 ml με τελικό όγκο 1 ml. Τα cryovials τοποθετούνται στη συνέχεια στο ειδικό δοχείο για την κατάψυξη κυττάρων «Mr. Frosty» και ακολούθως σε βαθιά κατάψυξη στους -80 °C. Τέλος, τα cryovials μεταφέρθηκαν σε δεξαμενή υγρού αζώτου. Ο ορός χρησιμοποιήθηκε στη συνέχεια για το πειραματικό μέρος της εργασίας αυτής.

## **2.2.2 Ανοσοαποτύπωση πρωτεϊνών κατά Western (Western blotting)**

### **2.2.2.1 Εισαγωγή**

Η ανοσοαποτύπωση κατά Western αποτελεί μία κοινή μέθοδο για την ανίχνευση και την ταυτοποίηση πρωτεϊνών από ένα μίγμα. Οι πρωτεΐνες διαχωρίζονται με βάση το μοριακό τους βάρος σε πήκτωμα πολυακρυλαμίδης (SDS-PAGE) μέσω ηλεκτροφόρησης. Στη συνέχεια μεταφέρονται σε απορροφητική μεμβράνη νιτροκυτταρίνης και ακολουθεί η ανίχνευσή τους χρησιμοποιώντας μονοκλωνικά ή πολυκλωνικά αντισώματα.

Η τεχνική αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον ποσοτικό και ποιοτικό προσδιορισμό αντισωμάτων έναντι συγκεκριμένων αντιγόνων στα βιολογικά υγρά ενός ασθενή. Η ανίχνευση ενός προσδεμένου αντισώματος στη μεμβράνη πραγματοποιείται με τη χρήση ενός δευτερογενούς αντισώματος, το οποίο μπορεί και αναγνωρίζει τη σταθερή Fc περιοχή του πρωτογενούς ανθρώπινου αντισώματος. Το δευτερογενές αυτό αντίσωμα, τις περισσότερες φορές είναι ομοιοπολικά συνδεδεμένο με κάποιο ένζυμο, όπως η αλκαλική φωσφατάση, το οποίο μετατρέπει το άχρωμο διαλυτό υπόστρωμα του ενζύμου σε έγχρωμο ίζημα.

Για την ποσοτικοποίηση των τίτλων των αντισωμάτων στο εξεταζόμενο διάλυμα πραγματοποιείται πυκνομέτρηση των επιμέρους ζωνών της μεμβράνης με λογισμικό πυκνομετρικής σάρωσης και επεξεργασίας εικόνας. Με τη βοήθεια του λογισμικού αυτού επεξεργάζεται το σήμα της ανοσοεντόπισης που μπορεί να φέρει η μεμβράνη. Το λογισμικό ουσιαστικά ποσοτικοποιεί κάθε ζώνη που μπορεί να εμφανίζεται συλλέγοντας πληροφορίες όπως είναι η απόσταση της ζώνης από την αρχή της μεμβράνης, το εμβαδόν της ζώνης και το άθροισμα της έντασης των εικονοστοιχείων (pixels) που υπάρχουν σε αυτή. Για την ποσοτικοποίηση, είναι επίσης απαραίτητη η επεξεργασία εσωτερικών μαρτύρων του πειράματος, όπου μάρτυρας μπορεί να είναι μία πρωτεΐνη γνωστής συγκέντρωσης που ανιχνεύεται με τον ίδιο τρόπο όπως και η πρωτεΐνη που μας ενδιαφέρει.



### 2.2.2.2 Πρωτόκολλο Euroimmun

Η τεχνική της ανοσοαποτύπωσης κατά Western πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας τη δοκιμασία της εταιρείας Euroimmun σύμφωνα με τις οδηγίες της κατασκευάστριας εταιρείας. Η δοκιμασία Western blotting της εταιρείας αυτής παρέχει μεμβρανώδεις ταινίες (strips) στις οποίες έχουν μεταφερθεί μέσω ηλεκτροφόρησης τα επιθυμητά αντιγόνα με σκοπό την εξέταση πολλαπλών διαφορετικών δειγμάτων. Στον Πίνακα 9 παρουσιάζονται τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται για την τεχνική αυτή και παρέχονται από την κατασκευάστρια εταιρεία.

**Πίνακας 9.** Αντιδραστήρια και υλικά για τη δοκιμασία Western blotting όπως παρέχονται από την κατασκευάστρια εταιρεία

Συστατικά	Δομή
Ταινίες (strips) με ηλεκτροφορητικά διαχωρισμένα αντιγόνα του HCMV	16 X 1
Υλικό αξιολόγησης με strip για έλεγχο	1
Διάλυμα ενζυμικού συμπλόκου (Enzyme conjugate) (10X)	1 X 3 ml
Ρυθμιστικό διάλυμα (Universal buffer) (10X)	1 X 50 ml
Διάλυμα υποστρώματος (Substrate solution)	1 X 30 ml
Φρεάτια επώασης	2 X 8
Οδηγίες	1

Πιο αναλυτικά, όλα τα διαλύματα που χρησιμοποιούνται καθώς και οι μεμβρανώδεις ταινίες πρέπει να είναι σε θερμοκρασία δωματίου (RT). Επιπλέον, τα δείγματα ορού που πρόκειται να αναλυθούν καθώς και όλα τα διαλύματα που θα χρησιμοποιηθούν αναδεύονται καλά πριν από τη χρήση.

Για κάθε ένα δείγμα απαιτείται ένα strip και 15 ml αραιωμένου ρυθμιστικού διαλύματος «Universal buffer». Το αραιωμένο διάλυμα «Universal buffer» παρασκευάζεται χρησιμοποιώντας 1,5 ml «Universal buffer» (10X concentrate) και 13,5 ml απεσταγμένου νερού, πραγματοποιείται δηλαδή αραιώση 1:10. Τα δείγματα ορού επίσης αραιώνονται 1:51 σε «Universal buffer». Για κάθε ένα δείγμα χρησιμοποιούνται 30 μl ορού και 1,5 ml αραιωμένου «Universal buffer». Επίσης, για κάθε ένα δείγμα, το διάλυμα ενζυμικού

συμπλόκου «Enzyme conjugate» (10X concentrate) αραιώνεται 1:10 χρησιμοποιώντας 150 μl «Enzyme conjugate» και 1,35 ml αραιωμένου «Universal buffer».

Αρχικά, τα strips τοποθετούνται σε φρεάτιο ειδικού πλαστικού πλακιδίου το οποίο παρέχεται από την κατασκευάστρια εταιρεία και εξισορροπούνται με 1,5 ml αραιωμένου «Universal buffer» υπό ανάδευση για 15 λεπτά. Στη συνέχεια, απορρίπτεται το «Universal buffer», και οι μεμβράνες επώάζονται με 1,5 ml αραιωμένου ορού υπό ανάδευση για 30 λεπτά σε RT. Ακολουθούν 3 πλύσεις με αραιωμένο «Universal buffer» διάρκειας 5 λεπτών η κάθε μία, υπό ανάδευση σε RT και το υπερκείμενο απομακρύνεται. Έπειτα οι μεμβράνες επώάζονται σε 1,5 ml αραιωμένου διαλύματος ενζυμικού συμπλόκου «Enzyme conjugate» η κάθε μία, υπό ανάδευση για 30 λεπτά σε RT. Ακολουθούν άλλες 3 πεντάλεπτες πλύσεις με αραιωμένο «Universal buffer», υπό ανάδευση σε RT και απόρριψη του υπερκειμένου. Η εμφάνιση του σήματος γίνεται με επώαση των strips σε 1,5 ml «Substrate Solution» (nitro-blue tetrazolium chloride, NBT/5-bromo-4-chloro-3-indolyl-phosphate, BCIP) υπό ανάδευση για 10 λεπτά σε RT. Τέλος, ακολουθεί η παύση της αντίδρασης, απορρίπτοντας το υπερκείμενο και ξέπλυμα των μεμβρανών τρεις φορές με απιονισμένο νερό για 1 λεπτό σε RT.

Η ποιοτική και ποσοτική αξιολόγηση των μεμβρανών γίνεται με το λογισμικό πυκνομετρικής σάρωσης EUROLinescan, το οποίο επίσης παρέχεται από την κατασκευάστρια εταιρεία. Ζώνες με ένταση εικονοστοιχείων  $\geq 23$  AU (arbitrary units) χαρακτηρίζονται ως θετικές (positive) και ζώνες με ένταση εικονοστοιχείων  $\geq 13$  και  $<23$  χαρακτηρίζονται ως οριακές (borderline). Ζώνες με ένταση εικονοστοιχείων  $<13$  χαρακτηρίζονται αρνητικές (negative), σύμφωνα με τις οδηγίες τις κατασκευάστριας εταιρείας.

Αντιγόνα: Η πηγή των αντιγόνων για τη δοκιμασία ανοσοαποτύπωσης κατά Western με τη χρήση του αντι-CMV Westernblot της εταιρίας Euroimmun παρέχεται από κατάλληλο στέλεχος CMV. Το παράγωγο του ιού έχει διαχωριστεί σύμφωνα με το μοριακό βάρος μέσω της ασυνεχούς ηλεκτροφόρησης σε γέλη πολυακρυλαμίδης και της μεταφοράς του σε μεμβράνη νιτροκυτταρίνης. Από κάθε πακέτο ελέγχου (kit), ξεχωρίζουν δύο ταινίες που λειτουργούν ως μάρτυρες (Control) που έχουν απομονωθεί και επωαστεί με έναν ορό αναφοράς, που χρησιμοποιείται για σύγκριση με το εκάστοτε υπό μελέτη δείγμα ορού του κάθε ατόμου. Στον Πίνακα 10 γίνεται αναφορά της ειδικότητας των αντιγόνων του HCMV

που έχουν αποτυπωθεί στις ταινίες που χρησιμοποιούνται στις δοκιμασίες Western blot της Euroimmun.

**Πίνακας 10.** Ειδικότητα των αντιγόνων στις ταινίες ελέγχου

<b>Ζώνη</b>	<b>Αντιγόνο</b>	<b>Περιγραφή</b>	<b>Κατηγορία</b>
130 kDa	pp130	Αντιγόνο φωσφοπρωτεΐνης: UL57	3
65 kDa	pp65	Αντιγόνο φωσφοπρωτεΐνης του περιβλήματος: UL83	1
55 kDa	p55	Αντιγόνο gB γλυκοπρωτεΐνης Β: UL55	2
52 kDa	pp52	Αντιγόνο φωσφοπρωτεΐνης: UL44	2
38 kDa	p38		2
28 kDa	pp28	Αντιγόνο πρωτεΐνης του καψιδίου: UL99	3

Προκειμένου να αξιολογηθούν τα σήματα που δίνουν οι ζώνες των αντιγόνων, πρέπει να ληφθούν υπόψη οι θέσεις των ζωνών και η ένταση (πάχος και χρώμα) των ζωνών. Τα αντιγόνα έναντι του HCMV μπορούν να διακριθούν σε τρεις κατηγορίες γενικά (Πίνακας 11).

**Πίνακας 11.** Κατηγοριοποίηση των αντιγόνων του HCMV που ανιχνεύονται μέσω Euroimmun Anti-HCMV Westernblot

<b>Κατηγορία</b>	<b>Αντιγόνα</b>
<b>1</b>	Αντιγόνο που προκαλεί τη διασταυρούμενη αντίδραση με μοριακό βάρος (M.B.) 65 kDa και μη αναγνωρισμένα αντιγόνα
<b>2</b>	Αντιγόνο με χαμηλή ειδικότητα και M.B.: 55 kDa, 52 kDa και 38 kDa
<b>3</b>	Αντιγόνα με υψηλή ειδικότητα και M.B.: 130 kDa και 28 kDa

Τα αποτελέσματα της δοκιμασίας μπορούν να διακριθούν σε τρεις κατηγορίες: αρνητικό, οριακά αρνητικό και θετικό, ανάλογα με το πρότυπο των ζωνών που εμφανίζονται στις επιμέρους θέσεις των αντιγόνων. (Πίνακας 12)

**Πίνακας 12.** Χαρακτηρισμός του αποτελέσματος της ανοσοαποτύπωσης κατά Western σύμφωνα με το πρότυπο ζωνών που παρατηρείται

<b>Αποτέλεσμα</b>	<b>Χαρακτηριστικά</b>
Αρνητικό	Καμία ζώνη ή ζώνες από την κατηγορία 1 ή μία αδύναμη ζώνη από την κατηγορία 2
Οριακά αρνητικό	Μία αδύναμη σε σήμα ζώνη από την κατηγορία 3 ή περισσότερες από μία ζώνες από την κατηγορία 2
Θετικό	Μία ζώνη από την κατηγορία 3. Επιπλέον μπορεί να παρατηρούνται ζώνες από τις κατηγορίες 1 και 2

### 2.2.3 Στατιστική ανάλυση

Τα αριθμητικά δεδομένα παρουσιάζονται με τη μορφή μέση τιμή  $\pm$  τυπική απόκλιση (mean  $\pm$  standard deviation). Οι διαφορές ανάμεσα σε ανεξάρτητες αριθμητικές μεταβλητές με κανονική κατανομή προσδιορίστηκαν με τη δοκιμασία t του Student (Student's t-test, two-tailed, equal variances not assumed), ενώ η ανάλυση ανεξάρτητων, μη παραμετρικών μεταβλητών πραγματοποιήθηκε με η χρήση της δοκιμασίας των Mann-Whitney (Mann-Whitney test). Η παρουσίαση των κατηγορικών δεδομένων γίνεται ως απόλυτες τιμές περιπτώσεων και ως συχνότητες εμφάνισης με τη μορφή εκατοστιαίου ποσοστού. Οι διαφορές ανάμεσα σε ανεξάρτητες κατηγορικές μεταβλητές προσδιορίστηκαν χρησιμοποιώντας τη δοκιμασία  $\chi^2$  του Pearson (Pearson's Chi-Square) και τη διόρθωση του Yates για συνεχή κατανομή (Yates Correction for Continuity). Η ανάλυση συσχέτισης μεταξύ αριθμητικών μεταβλητών πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το γραμμικό συντελεστή R του Pearson (Pearson's correlation R). Στατιστικά σημαντικές χαρακτηρίζονται όλες οι διαφορές με τιμή σημαντικότητας (p-value)  $<0,05$  και οι διαφορές με τιμή  $0,05 \leq p < 0,1$  χαρακτηρίζονται πως έχουν τάση να είναι στατιστικά σημαντικές. Οι στατιστικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με το πρόγραμμα SPSS (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA). Όλα τα γραφήματα δημιουργήθηκαν με το πρόγραμμα γραφημάτων και στατιστικής ανάλυσης

GraphPad Prism 6 (GraphPad Software Inc., La Jolla, California, USA) με εξαίρεση τα διαγράμματα τύπου Venn, τα οποία έγιναν με τη βοήθεια του προγράμματος InteractiVenn.

### 3. Αποτελέσματα

#### 3.1 Χαρακτηριστικά των ασθενών

Συνολικά, μελετήθηκαν 51 ασθενείς με ψωρίαση (Ps) (24 γυναίκες, 47,1%, μέσης ηλικίας 48,8, εύρους 24-70) και 51 υγιείς μάρτυρες (HC) (34 γυναίκες, 66,7%, μέσης ηλικίας 47,3, εύρους 20-71) με παρόμοια δημογραφικά χαρακτηριστικά που αφορούν την ηλικία και το φύλο, από τους οποίους συλλέχθηκαν δείγματα ολικού περιφερικού αίματος. Στον Πίνακα 13 παρουσιάζονται τα κύρια δημογραφικά, κλινικά και ανοσολογικά στοιχεία των ατόμων αυτών.

**Πίνακας 13.** Κύρια δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά ασθενών με ψωρίαση (Ps) και υγιών μαρτύρων (HC).

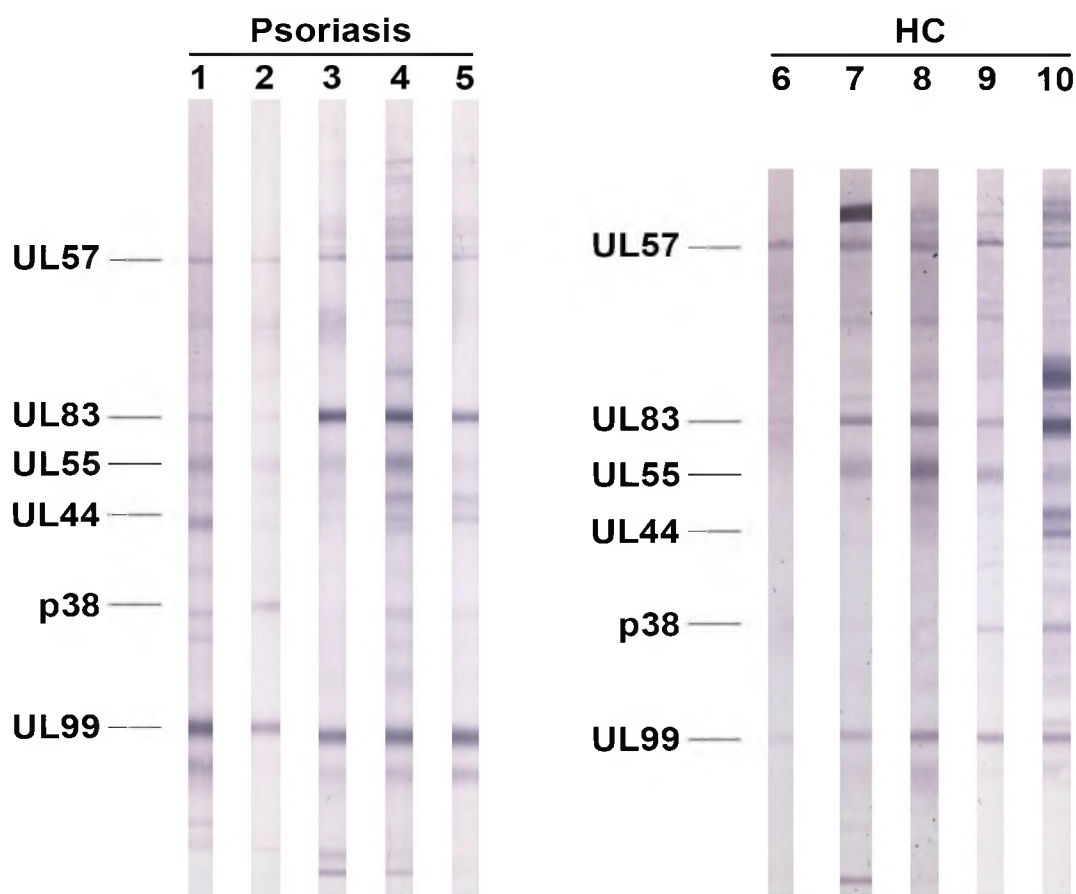
Χαρακτηριστικό	Ps (n=51)	HC (n=51)	p Ps vs HC
Ηλικία	50,1 ± 14,7	47,3 ± 16,1	0,364 ns*
Φύλο			
Άνδρες	27 (52,9%)	17 (33,3%)	0,072**
Γυναίκες	24 (47,1%)	34 (66,7%)	
Ηλικία εμφάνισης νόσου***	31,8 ± 15,0	NA	NA
Διάρκεια νόσου***	18,0 ± 11,9	NA	NA
PASI score***	9,8 ± 7,7	NA	NA
Αντι-HCMV θετικότητα	33 (64,7%)	34 (66,7%)	1,000 ns**

Κύρια δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των 51 ασθενών με ψωρίαση (Ps) και των 51 υγιών μαρτύρων (HC). Τα δεδομένα της αντι-HCMV θετικότητας και του φύλου αναπαριστούν τον απόλυτο αριθμό των περιπτώσεων και σε παρένθεση τις συχνότητες με τη μορφή εκατοστιαίων ποσοστών. Τα δεδομένα της ηλικίας, της διάρκειας της νόσου, της ηλικίας εμφάνισης της νόσου και του PASI score αναπαριστούν τη μέση τιμή με την τυπική απόκλιση (mean ± standard deviation). \*Οι τιμές p υπολογίστηκαν με τη δοκιμασία t του Student (Student's t-test, two-tailed, equal variances not assumed), ενώ για την ανάλυση ανεξάρτητων, μη παραμετρικών μεταβλητών έγινε χρησιμοποιώντας τη δοκιμασία των Mann-Whitney (Mann-Whitney test). \*\* Οι τιμές p υπολογίστηκαν χρησιμοποιώντας τη δοκιμασία  $\chi^2$  του Pearson (Pearson's Chi-Square) και τη διόρθωση του Yates για συνεχή κατανομή (Yates Correction for Continuity), ενώ σε περιπτώσεις ανεξάρτητων δειγμάτων

μικρού μεγέθους χρησιμοποιήθηκε ο ακριβής έλεγχος του Fisher (Fisher's Exact Test).\*\*\* Για 3 από τους 51 ασθενείς δεν υπήρχαν διαθέσιμα δεδομένα όσον αφορά την ηλικία εμφάνισης και τη διάρκεια της νόσου ούτε και για το PASI score. Αναφέρονται οι διαφορές με τάση για στατιστική σημαντικότητα ( $p < 0,1$ ). Συντομεύσεις: NA, not available, ns, not significant, PASI, psoriasis area and severity index, HCMV, human cytomegalovirus

### 3.2 IgG αντι-HCMV αντισώματα σε ασθενείς με Ps και HC

Στην Εικόνα 1, απεικονίζονται αντιπροσωπευτικά αποτελέσματα ανοσοαποτύπωσης κατά Western για αντισώματα έναντι των έξι χαρακτηρισμένων αντιγόνων του HCMV σε 10 αντιπροσωπευτικά δείγματα, 5 ασθενών με Ps και 5 HC.



**Εικόνα 1:** Αποτελέσματα ανοσοαποτύπωσης κατά Western για αντισώματα έναντι πρωτεϊνών αντιγόνων του HCMV σε 10 αντιπροσωπευτικά δείγματα, 5 από ασθενείς με ψωρίαση (Ps) και 5 από υγιείς μάρτυρες (HC).

Στον Πίνακα 13 παρουσιάζεται η θετικότητα για αντισώματα έναντι του HCMV όπως ανιχνεύτηκε έπειτα από ανοσοαποτύπωση κατά Western. Συγκεκριμένα, ανιχνεύτηκε θετικότητα αντισώματος σε 33 ασθενείς με Ps (64,7%) και σε 34 υγιείς μάρτυρες (HC)

(66,7%) με τιμή  $p=1,000$  (Ps vs HC), συνεπώς η συχνότητα εμφάνισης των αντισωμάτων έναντι του HCMV δεν διέφερε ανάμεσα σε ασθενείς και μάρτυρες.

### 3.3 Συχνότητες IgG αντιγονοειδικών HCMV αντισωμάτων σε ασθενείς με Ps και HC

Στον Πίνακα 14 παρουσιάζονται οι συχνότητες εμφάνισης των αντισωμάτων έναντι των έξι αντιγόνων του HCMV σε ασθενείς με Ps και υγιείς μάρτυρες (HC). Όπως φαίνεται, τα πιο ανοσοεπικρατή αντιγόνα, με συχνότητα εμφάνισης μεγαλύτερη από 50% σε ασθενείς με Ps ήταν το UL57 (51,5%), το UL83 (57,6%) και το UL99 (90,9%). Το ίδιο παρατηρήθηκε και στους HC, με τα ίδια αντιγόνα να εμφανίζονται με συχνότητες UL57 (94,1%), UL83 (88,2%) και UL99 (91,2%). Κατά τη σύγκριση της αντι-HCMV αντιγονοειδικής αντιδραστικότητας μεταξύ ασθενών με Ps και HC, διαπιστώθηκε ότι για 2 από τα 6 αντιγόνα, το UL57 (Ps: 51,5%, HC: 94,1%, Ps έναντι HC,  $p<0,001$ ) και το UL83 (Ps: 57,6%, HC: 88,2%, Ps έναντι HC,  $p=0,006$ ) τα αντισώματα εναντίον τους εμφανίζονται σε στατιστικά χαμηλότερες συχνότητες στους ασθενείς με Ps συγκριτικά με τους HC. Η αντιδραστικότητα έναντι των υπολοίπων 4 HCMV αντιγόνων, το UL55, το UL44, το p38 και το UL99 είναι συγκρίσιμη μεταξύ των ασθενών με Ps και των HC χωρίς να εμφανίζεται στατιστικά σημαντική διαφορά.

**Πίνακας 14.** Συχνότητες εμφάνισης αντισωμάτων έναντι των αντιγόνων του HCMV σε ασθενείς με ψωρίαση (Ps) και υγιείς μάρτυρες (HC).

Αντιδρώσα ζώνη	Ps (n=33)	HC (n=34)	p Ps vs HC
UL57	17 (51,5%)	32 (94,1%)	<b><u>&lt;0,001</u></b>
UL83	19 (57,6%)	30 (88,2%)	<b><u>0,006</u></b>
UL55	16 (48,5%)	17 (50,0%)	1,000 ns
UL44	6 (18,2%)	10 (29,4%)	0,429 ns
p38	11 (33,3%)	10 (29,4%)	0,934 ns
UL99	30 (90,9%)	31 (91,2%)	1,000 ns

Συχνότητες εμφάνισης αντισωμάτων έναντι συγκεκριμένων αντιγόνων του HCMV σε αντι-HCMV θετικούς ασθενείς με ψωρίαση (Ps) και σε αντι-HCMV θετικούς υγιείς μάρτυρες, όπως υπολογίστηκαν με ανοσοαποτύπωση κατά Western. Τα δεδομένα αναπαριστούν τον απόλυτο αριθμό των περιπτώσεων και σε παρένθεση τις συχνότητες με τη μορφή εκατοστιαίων ποσοστών. Οι τιμές  $p$  υπολογίστηκαν χρησιμοποιώντας τη δοκιμασία  $\chi^2$  του Pearson (Pearson Chi-Square) και τη διόρθωση του Yates για συνεχή κατανομή (Yates Correction for Continuity), ενώ σε περιπτώσεις ανεξάρτητων δειγμάτων μικρού μεγέθους



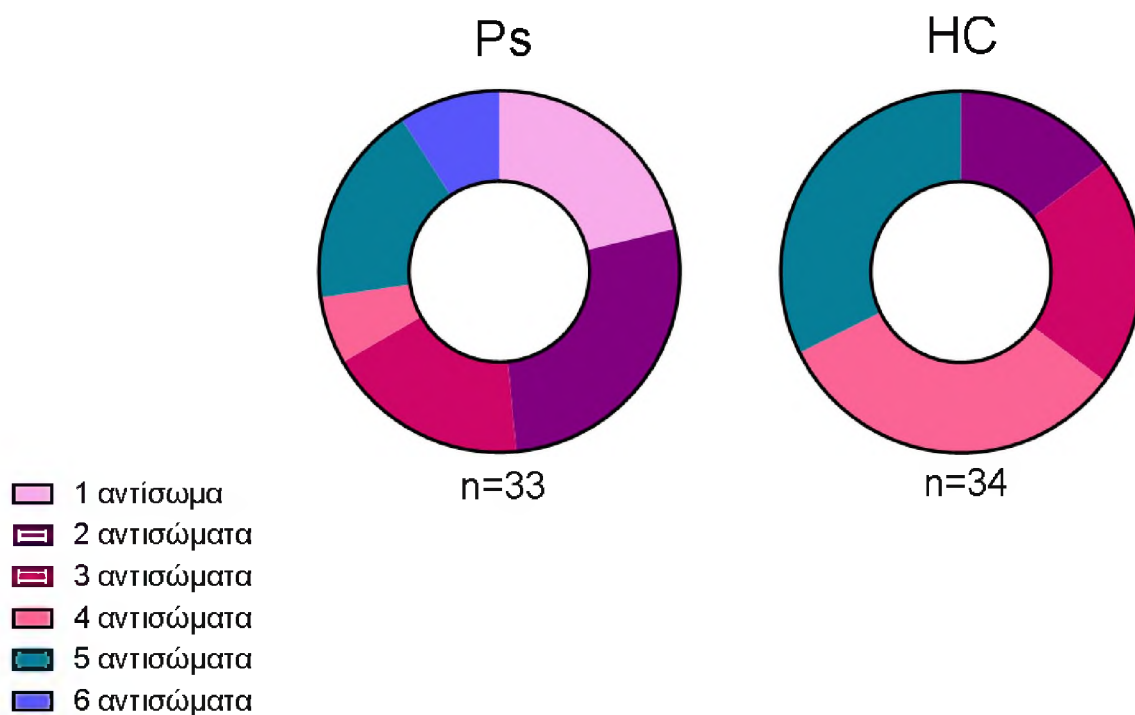
χρησιμοποιήθηκε ο ακριβής έλεγχος του Fisher (Fisher's Exact Test). Στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $p < 0,05$ ) έχουν επισημανθεί με έντονη γραφή. Συντομεύσεις: ns, not significant

Τα διαγράμματα δακτυλίου στις εικόνες 2 και 3 αναπαριστούν την πολλαπλή αντιδραστικότητα αντισωμάτων έναντι των αντιγόνων του HCMV. Παρατηρήθηκε ότι η πολλαπλή αντιδραστικότητα αντισωμάτων κατά του ιού ήταν λιγότερο συχνή στους ασθενείς με ψωρίαση συγκριτικά με τους υγιείς μάρτυρες. Τα αποτελέσματα αυτά παρουσιάζονται επίσης στους πίνακες 15 και 16.

**Πίνακας 15.** Ταυτόχρονη παρουσία πολλαπλών αντισωμάτων έναντι των αντιγόνων του HCMV όπως ανιχνεύτηκαν με ανοσοαποτύπωση κατά Western στον ορό θετικών για τον HCMV ασθενών με ψωρίαση και υγιών μαρτύρων

Αριθμός αντισωμάτων έναντι αντιγόνων του HCMV	Ps (n=33)	HC(n=34)	pPs vs HC
1	7 (21,2%)	0	<b>p=0,002</b>
2	9 (27,3%)	5 (14,7%)	
3	6 (18,2%)	7 (20,6%)	
4	2 (6,1%)	11 (32,4%)	
5	6 (18,2%)	11 (32,4%)	
6	3 (9,1%)	0	

Τα δεδομένα αναπαριστούν τον απόλυτο αριθμό των περιπτώσεων και σε παρένθεση τις συχνότητες με τη μορφή εκατοστιαίων ποσοστών. Οι τιμές p υπολογίστηκαν χρησιμοποιώντας τη δοκιμασία  $\chi^2$  του Pearson (Pearson Chi-Square) και τη διόρθωση του Yates για συνεχή κατανομή (Yates Correction for Continuity), ενώ σε περιπτώσεις ανεξάρτητων δειγμάτων μικρού μεγέθους χρησιμοποιήθηκε ο ακριβής έλεγχος του Fisher (Fisher's Exact Test). Στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $p < 0,05$ ) έχουν επισημανθεί με έντονη γραφή.

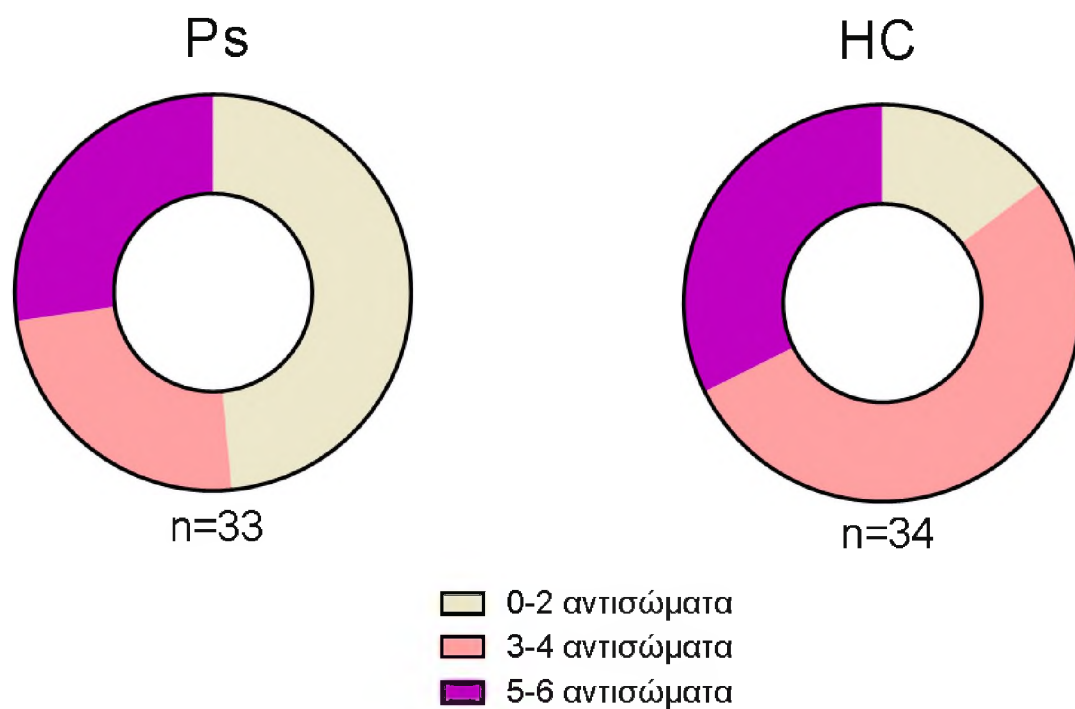


**Εικόνα 2:** Διαγράμματα δακτυλίου που απεικονίζουν την παρουσία ενός, δύο, τριών, τεσσάρων, πέντε ή έξι αντισωμάτων έναντι των UL57, UL83, UL55, UL44, p38 και UL99 σε αντι-HCMV θετικούς ασθενείς με ψωρίαση (Ps) και υγιείς μάρτυρες (HC).

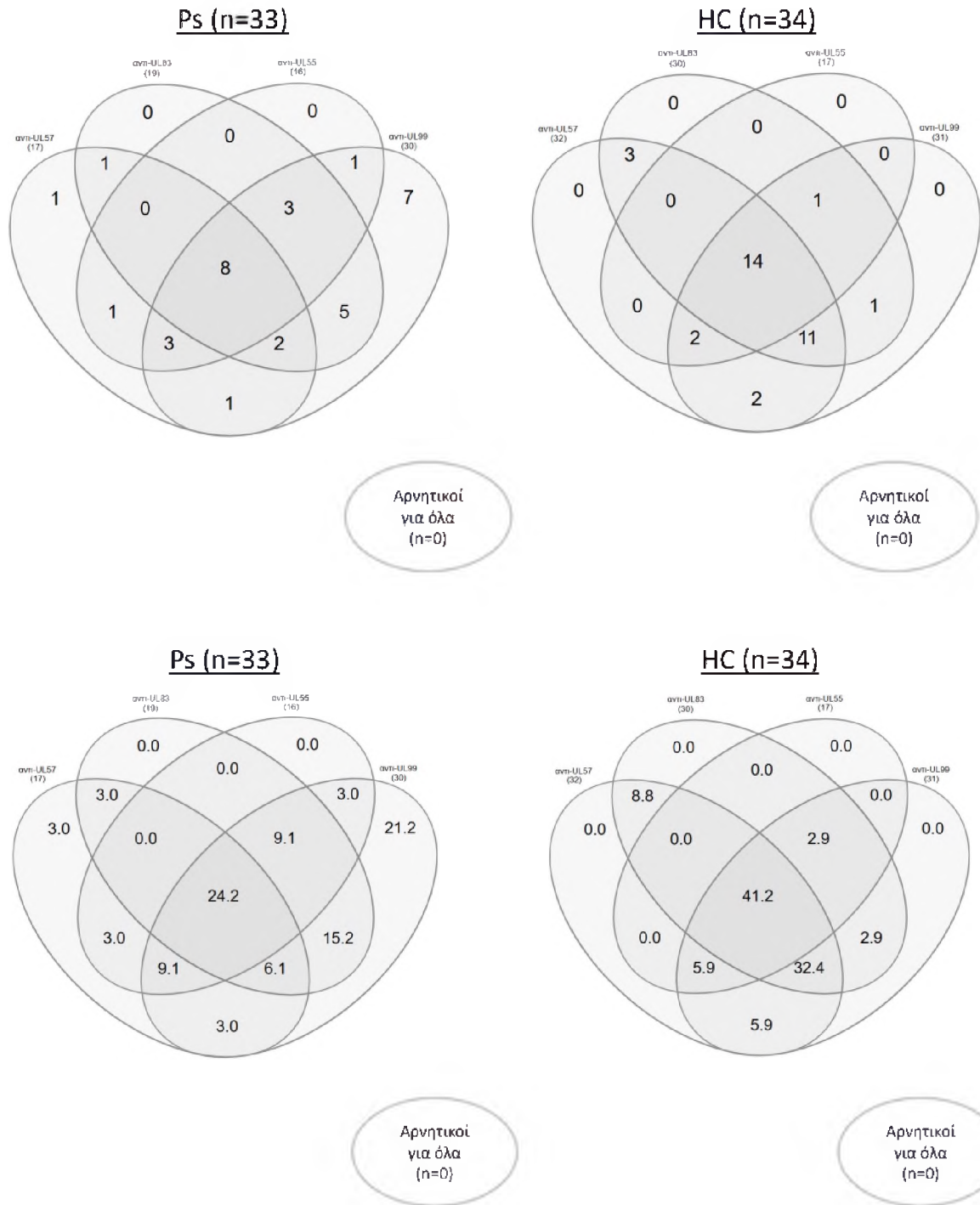
**Πίνακας 16.** Ταυτόχρονη παρουσία πολλαπλών αντισωμάτων έναντι των αντιγόνων του HCMV όπως ανιχνεύτηκαν με ανοσοαποτύπωση κατά Western στον ορό θετικών για τον HCMV ασθενών με ψωρίαση και υγιών μαρτύρων

<b>Αριθμός αντισωμάτων έναντι αντιγόνων του HCMV</b>	<b>Ps (n=33)</b>	<b>HC(n=34)</b>	<b>pPs vs HC</b>
0-2	16 (48,5%)	5 (14,7%)	<b>p=0,007</b>
3-4	8 (24,2%)	18 (52,9%)	
5-6	9 (27,3%)	11 (32,4%)	

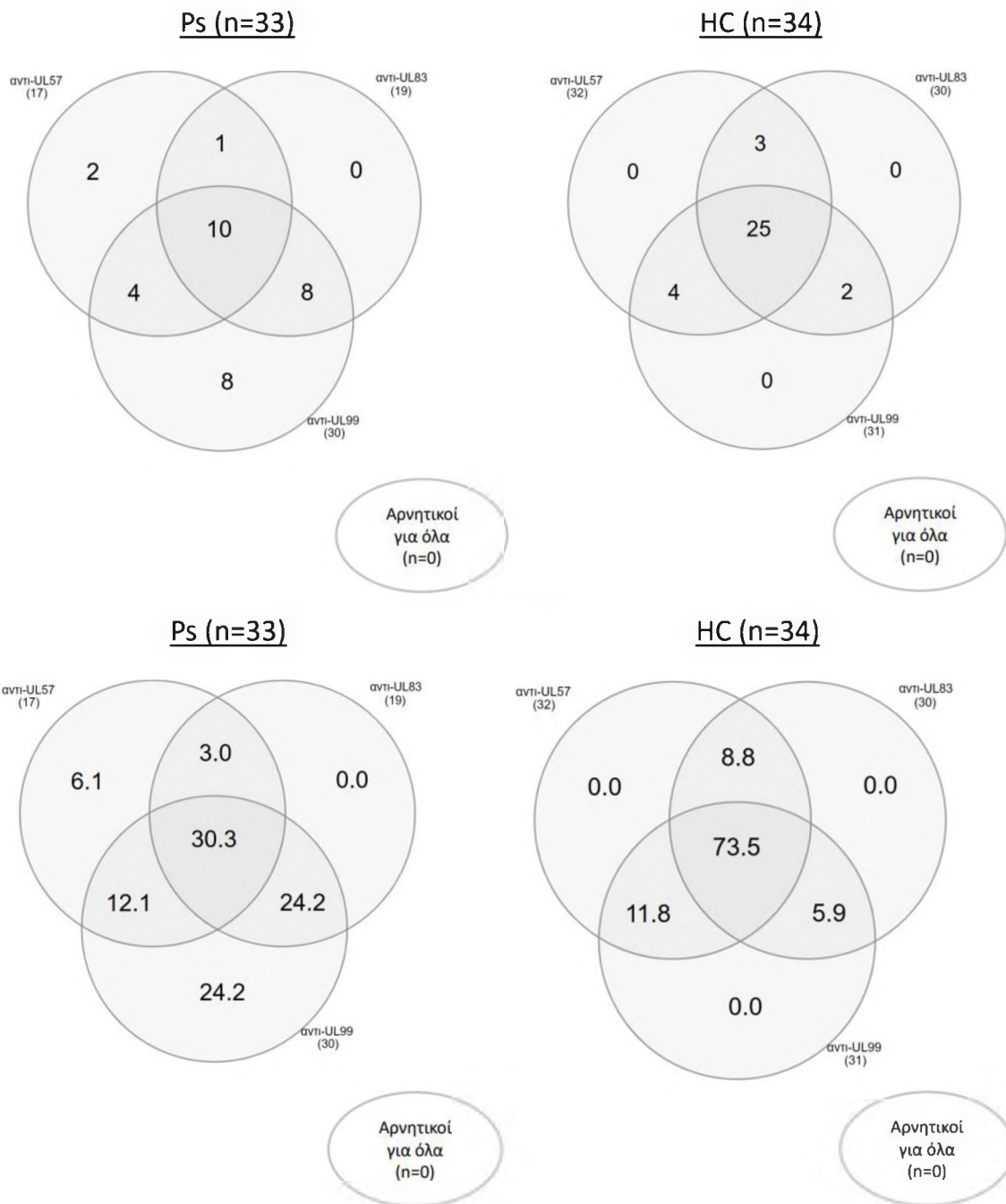
Τα δεδομένα αναπαριστούν τον απόλυτο αριθμό των περιπτώσεων και σε παρένθεση τις συχνότητες με τη μορφή εκατοστιαίων ποσοστών. Οι τιμές p υπολογίστηκαν χρησιμοποιώντας τη δοκιμασία  $\chi^2$  του Pearson (Pearson Chi-Square) και τη διόρθωση του Yates για συνεχή κατανομή (Yates Correction for Continuity), ενώ σε περιπτώσεις ανεξάρτητων δειγμάτων μικρού μεγέθους χρησιμοποιήθηκε ο ακριβής έλεγχος του Fisher (Fisher's Exact Test). Στατιστικά σημαντικές διαφορές ( $p < 0,05$ ) έχουν επισημανθεί με έντονη γραφή.



**Εικόνα 3:** Διαγράμματα δακτυλίου που απεικονίζουν την παρουσία από μηδέν μέχρι δύο, από τρία έως τέσσερα και από πέντε έως έξι αντισωμάτων έναντι των UL57, UL83, UL55, UL44, p38 και UL99 σε αντι-HCMV θετικούς ασθενείς με ψωρίαση (Ps) και υγιείς μάρτυρες (HC).



**Εικόνα 4:** Διαγράμματα Venn που απεικονίζουν τη συνδυαστική παρουσία των αντισωμάτων έναντι των UL57, UL83, UL55 και UL99 σε αντι-HCMV θετικούς ασθενείς με ψωρίαση (Ps) και υγιή δείγματα ελέγχου (HC).



**Εικόνα 5:** Διαγράμματα Venn που απεικονίζουν τη συνδυαστική παρουσία των αντισωμάτων έναντι των UL57, UL83 και UL99 σε αντι-HCMV θετικούς ασθενείς με ψωρίαση (Ps) και υγιή δείγματα ελέγχου (HC).

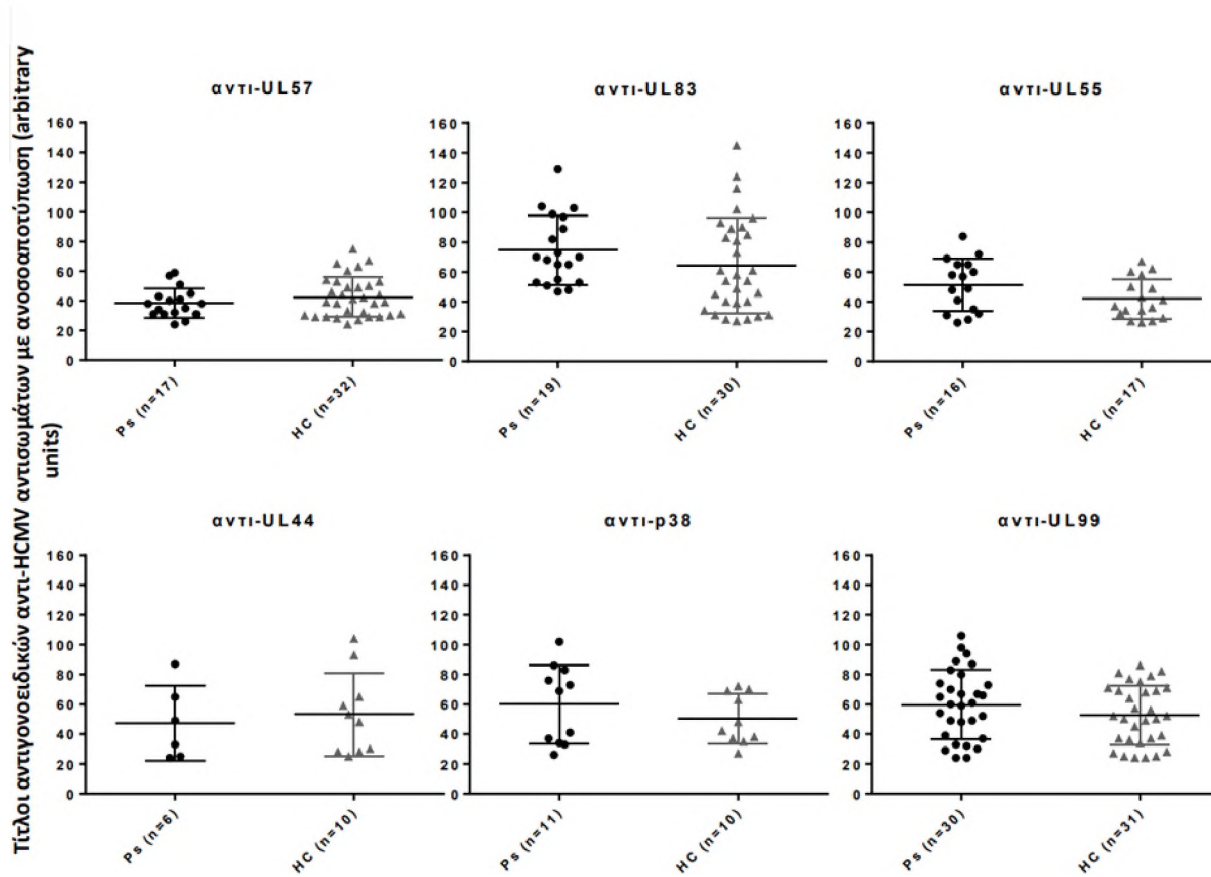
### 3.4 Τίτλοι IgG αντιγονοειδικών αντισωμάτων σε ασθενείς με Ps και HC

Στον Πίνακα 17 παρουσιάζονται οι τίτλοι των αντισωμάτων έναντι των έξι αντιγόνων του HCMV σε ασθενείς με Ps και σε HC. Συγκρίνοντας τους τίτλους των αντισωμάτων κατά των αντιγόνων του HCMV μεταξύ των ασθενών με Ps και των HC, φαίνεται ότι τα επίπεδά τους είναι συγκρίσιμα και δεν παρατηρείται καμία στατιστικά σημαντική διαφορά. Το μοναδικό αντίσωμα με οι τίτλοι του οποίου εμφανίζουν μία διαφορά με τάση για στατιστική σημαντικότητα είναι το UL55 (Ps:  $51,3 \pm 17,7$ , HC:  $41,9 \pm 13,4$ , Ps έναντι HC,  $p=0,099$ ) οι τίτλοι του οποίου είναι λίγο υψηλότεροι στους ασθενείς με Ps συγκριτικά με τους HC. Στην Εικόνα 6 παρουσιάζονται τα διαγράμματα διασποράς, τα οποία απεικονίζουν τους τίτλους των αντισωμάτων έναντι των έξι αντιγόνων του HCMV σε αντι-HCMV θετικούς ασθενείς με Ps και σε αντι-HCMV θετικούς HC.

**Πίνακας 17.** Τίτλοι αντισωμάτων έναντι αντιγόνων του HCMV, όπως ποσοτικοποιήθηκαν με ανοσοαποτύπωση κατά Western σε ασθενείς με ψωρίαση (Ps) και σε υγιείς μάρτυρες (HC).

Αντιδρώσα ζώνη	Ps (n=33)	HC (n=34)	p Ps vs HC
UL57	$38,6 \pm 10,0$	$42,5 \pm 13,5$	0,257 ns
UL83	$74,8 \pm 23,1$	$64,4 \pm 32,0$	0,196 ns
UL55	$51,3 \pm 17,7$	$41,9 \pm 13,4$	0,099
UL44	$47,2 \pm 25,0$	$53,3 \pm 27,8$	0,658 ns
p38	$60,0 \pm 26,3$	$50,1 \pm 16,8$	0,314 ns
UL99	$60,0 \pm 22,9$	$52,9 \pm 20,0$	0,204 ns

Τίτλοι αντισωμάτων έναντι συγκεκριμένων αντιγόνων του HCMV σε αντι-HCMV θετικούς ασθενείς με ψωρίαση (Ps) και σε αντι-HCMV θετικούς υγιείς μάρτυρες, όπως υπολογίστηκαν με ανοσοαποτύπωση κατά Western. Τα δεδομένα αναπαριστούν τη μέση τιμή με την τυπική απόκλιση (mean  $\pm$  standard deviation). Οι τιμές p υπολογίστηκαν με τη δοκιμασία t του Student (Student's t-test, two-tailed, equal variances not assumed), ενώ η ανάλυση ανεξάρτητων, μη παραμετρικών μεταβλητών έγινε χρησιμοποιώντας τη δοκιμασία Mann-Whitney (Mann-Whitney test). Αναφέρονται οι διαφορές με τάση για στατιστική σημαντικότητα ( $p < 0,1$ ). Συντομεύσεις: ns, not significant



**Εικόνα 6:** Διαγράμματα διασποράς που απεικονίζουν τους τίτλους των αντισωμάτων έναντι των έξι αντιγόνων του HCMV σε αντι-HCMV θετικούς ασθενείς με ψωρίαση (Ps) και υγιείς μάρτυρες (HC). Οι γραμμές αναπαριστούν τη μέση τιμή και την τυπική απόκλιση.



### 3.5 Συσχετίσεις των αντιγονοειδικών HCMV ανοσολογικών αποκρίσεων

Τα αντισώματα έναντι των αντιγόνων του HCMV αναλύθηκαν για πιθανές συσχετίσεις με τα κλινικά χαρακτηριστικά της Ps χρησιμοποιώντας το γραμμικό συντελεστή R του Pearson (Pearson's correlation R). Τα κλινικά χαρακτηριστικά που χρησιμοποιήθηκαν στην ανάλυση ήταν η ηλικία, η ηλικία έναρξης της νόσου, η διάρκεια αυτής και ο δείκτης PASI. Στον Πίνακα 18 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των συσχετίσεων αυτών στους 33 αντι-HCMV θετικούς ασθενείς με Ps. Πιο αναλυτικά, τα επίπεδα των αντισωμάτων έναντι του UL44 συσχετίστηκαν με την ηλικία των ασθενών (R=0,347, p=0,048) ενώ τα επίπεδα των αντισωμάτων έναντι των αντιγόνων UL57 (R=0,414, p=0,019), UL83 (R=0,421, p=0,016), p38 (R=0,373, p=0,035) και UL99 (R=0,495, p=0,004) συσχετίστηκαν με την ηλικία έναρξης της νόσου.

**Πίνακας 18.** Συσχετίσεις ανάμεσα στους τίτλους των αντισωμάτων έναντι των αντιγόνων του HCMV με την ηλικία, την ηλικία εμφάνισης της νόσου, τη διάρκεια της νόσου και το PASI στους 33 αντι-HCMV θετικούς ασθενείς με ψωρίαση (Ps).

		Ηλικία	Ηλικία έναρξης νόσου	Διάρκεια νόσου	PASI	UL57	UL83	UL55	UL44	p38	UL99
Ηλικία	R	1	0,615	0,435	-0,053	0,321	0,315	0,151	0,347	0,154	0,228
	p		<b>&lt;0,001</b>	<b>0,013</b>	0,779 ns	0,069	0,074	0,402 ns	<b>0,048</b>	0,393	0,202
	N	33	32	32	31	33	33	33	33	33	33
Ηλικία έναρξης νόσου	R		1	-0,442	-0,074	0,414	0,421	0,167	0,289	0,373	0,495
	p			<b>0,011</b>	0,691 ns	<b>0,019</b>	<b>0,016</b>	0,361 ns	0,109 ns	<b>0,035</b>	<b>0,004</b>
	N		32	32	31	32	32	32	32	32	32
Διάρκεια νόσου	R			1	0,027	-0,094	-0,091	-0,009	0,088	-0,228	-0,285
	p				0,886 ns	0,608 ns	0,621 ns	0,962 ns	0,633 ns	0,209 ns	0,115 ns
	N			32	31	32	32	32	32	32	32
PASI	R				1	0,268	0,003	0,351	0,046	0,003	0,023
	p					0,145 ns	0,989 ns	0,053	0,808 ns	0,989 ns	0,904 ns
	N				31	31	31	31	31	31	31
UL57	R					1	0,333	0,426	0,509	0,471	0,185
	p						0,058	<b>0,014</b>	<b>0,002</b>	<b>0,006</b>	0,302 ns
	N					33	33	33	33	33	33
UL83	R						1	0,229	0,688	0,284	0,501
	p							0,199 ns	<b>&lt;0,001</b>	0,109 ns	<b>0,003</b>
	N						33	33	33	33	33

UL55	R							1	0,253	0,376	0,340
	p								0,156 ns	<b>0,031</b>	0,053
	N							33	33	33	33
UL44	R								1	0,451	0,285
	p									<b>0,008</b>	0,108 ns
	N								33	33	33
p38	R									1	0,513
	p										<b>0,002</b>
	N									33	33
UL99	R										1
	p										
	N										33

Τα δεδομένα αναπαριστούν το συντελεστή γραμμικής συσχέτισης του Pearson (R). Το p είναι η τιμή p (2-tailed) της συσχέτισης Στατιστικά σημαντική συσχέτιση επισημαίνεται με έντονη γραφή ενώ αναφέρεται επίσης και η συσχέτιση με τάση για στατιστική σημαντικότητα ( $p < 0,1$ ). Συντομεύσεις: ns, not significant, PASI, psoriasis area and severity index

#### 4.Συζήτηση

Η παρούσα εργασία αποτελεί την πρώτη προσπάθεια συστηματικής μελέτης της αντιγονοειδικής χυμικής απόκρισης έναντι των ανοσοεπικρατούντων αντιγόνων του HCMV σε ασθενείς με ψωρίαση. Τα κυριότερα αποτελέσματα τα οποία προέκυψαν είναι τα εξής:

1. Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά όσον αφορά τη θετικότητα για τον HCMV μεταξύ των ασθενών με Ps και των υγιών μαρτύρων.
2. Ελέγχοντας τη συχνότητα εμφάνισης των αντιγονοειδικών αντισωμάτων έναντι των έξι κύριων αντιγόνων του HCMV, διαπιστώθηκε ότι δύο από τα έξι αντιγόνα, το UL57 και το UL83, εμφανίζουν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων. Συγκεκριμένα, βρέθηκε ότι αντι-UL57 και αντι-UL83 αντισώματα εμφανίζονται λιγότερο συχνά στους ασθενείς με ψωρίαση σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες.
3. Συγκρίνοντας τους τίτλους αντισωμάτων κατά των αντιγόνων του HCMV μεταξύ ασθενών με Ps και HC δεν παρατηρείται καμία στατιστικά σημαντική διαφορά. Το μοναδικό αντίσωμα οι τίτλοι του οποίου εμφανίζουν μία διαφορά με τάση για στατιστική σημαντικότητα είναι το UL55 οι τίτλοι του οποίου είναι λίγο υψηλότεροι στους ασθενείς με Ps συγκριτικά με τους HC.
4. Από τις αναλύσεις συσχέτισης των αντιγονοειδικών ανοσολογικών αποκρίσεων κατά του HCMV με τα κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών προέκυψε ότι τα επίπεδα των αντισωμάτων έναντι του UL44 συσχετίστηκαν με την ηλικία των ασθενών ενώ τα επίπεδα των αντιγόνων UL57, UL83, p38 και UL99 συσχετίστηκαν με την ηλικία έναρξης της νόσου. Δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση με άλλα κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών όπως το PASI.

Προηγούμενες ερευνητικές εργασίες που έχουν εκπονηθεί στο εργαστήριο Ρευματολογίας και Κλινικής Ανοσολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας έχουν εντοπίσει συσχέτιση της λοίμωξης από τον HCMV με άλλες αυτοάνοσες παθήσεις. Συγκεκριμένα, η μελέτη της Μαρού Ε. και συνεργατών το 2017 έδειξε ότι αντισώματα έναντι του αντιγόνου UL83 του HCMV εμφανίζονται πιο συχνά και σε υψηλότερους τίτλους σε ασθενείς με SSc σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες, προτείνοντας έναν παθογενετικό ρόλο στην εξέλιξη της νόσου [113]. Τα δεδομένα αυτά υποστηρίζονται περαιτέρω από άλλη μία μελέτη στην οποία βρέθηκε ότι τα επίπεδα των αντι-UL83 αντισωμάτων ήταν στατιστικώς σημαντικά υψηλότερα στους ασθενείς με συστηματική σκλήρυνση από ότι στην ομάδα των υγιών μαρτύρων. [114] Μία δεύτερη μελέτη της Μαρού Ε. και των συνεργατών της παρουσίασε ότι η συχνότητα και οι

τίτλοι των αντισωμάτων έναντι του αντιγόνου UL57 είναι μεγαλύτερα σε ασθενείς με SSc σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες. [115] Επιπλέον, έρευνα του Efthymiou G. και συνεργατών, έδειξε ότι τα αντι-UL57 και αντι-UL55 αντισώματα ήταν περισσότερο συχνά σε ασθενείς με SSc συγκριτικά με ασθενείς με πολλαπλή σκλήρυνση (Multiple sclerosis, MS). Ωστόσο, τα αντισώματα έναντι του UL83 ήταν λιγότερο συχνά στους ασθενείς με SSc συγκριτικά με τους HC. Όσο αφορά τους τίτλους των αντισωμάτων, η μελέτη έδειξε ότι οι τίτλοι των αντι-UL57 αντισωμάτων ήταν υψηλότεροι στους ασθενείς με SSc συγκριτικά με τους ασθενείς με MS και τους HC. Οι τίτλοι των αντι-UL83 και αντι-UL99 αντισωμάτων βρέθηκε να είναι επίσης υψηλότεροι στην ομάδα των ασθενών με SSc συγκριτικά με την ομάδα των HC. [116]

Παρατηρείται δηλαδή πως τα αντισώματα έναντι των αντιγόνων UL57 και UL83 εμφανίζονται συχνότερα στο αυτοάνοσο νόσημα της συστηματικής σκλήρυνσης όταν αυτό συγκρίνεται με πληθυσμό υγιών μαρτύρων αποτέλεσμα αντίθετο με αυτό που προέκυψε από την παρούσα εργασία σύμφωνα με το οποίο η συχνότητά τους είναι μικρότερη στο αυτοάνοσο νόσημα της ψωρίασης συγκριτικά με τους υγιείς μάρτυρες.

Ελέγχοντας ωστόσο το ρόλο του μορίου UL83 στην εγκαθίδρυση της λοίμωξης από τον ιό, είναι πιθανό να δικαιολογείται και το αποτέλεσμα της εργασίας αυτής. Αναλυτικότερα, η πρωτεΐνη UL83 είναι υπεύθυνη για να αποφεύγει ο ιός το έμφυτο και επίκτητο ανοσοποιητικό σύστημα του οργανισμού-ξενιστή. Αυτό επιτυγχάνεται με διάφορους μηχανισμούς που περιλαμβάνουν τη φωσφορυλίωση των IΕ πρωτεϊνών του ιού μπλοκάροντας έτσι την αντιγονοπαρουσίασή τους από τα μόρια MHC I, την αναστολή της κυτταροτοξικής δράσης των NK κυττάρων αναστέλλοντας τη δράση του υποδοχέα τους NKp30 και τέλος την αναστολή της παραγωγής ιντερφερονών τύπου I και IL-1β. [117] Αυτή η τελευταία δράση του UL83 ίσως να παρέχει προστατευτικό ρόλο αναφορικά με την εμφάνιση της ψωρίασης λαμβάνοντας υπόψη τον ρόλο των ιντερφερονών και της IL-1β στην εξέλιξη των ψωριασικών κακώσεων. Πιο αναλυτικά, η INF-α αποτελεί ιντερφερόνη 'κλειδί' για τη φάση έναρξης της ψωρίασης καθώς εκκρίνεται από τα πλασμακυτταροειδή δενδριτικά κύτταρα (pDCs) και ενεργοποιεί τα μυελοειδή δενδριτικά κύτταρα (mDCs) προάγοντας επίσης τη μετανάστευσή τους στους λεμφαδένες. Στην ενεργοποίηση των mDCs συνεισφέρει επίσης και η IL-1β, οι οποία εκκρίνεται από κύτταρα του έμφυτου ανοσοποιητικού. Τα ενεργοποιημένα mDCs παράγουν ιντερλευκίνες που προκαλούν στη συνέχεια τη διαφοροποίηση των T κυττάρων. Τα διαφοροποιημένα T λεμφοκύτταρα παράγουν κυτταροκίνες που επηρεάζουν τη διαφοροποίηση και τον πολλαπλασιασμό των κερατινοκυττάρων οδηγώντας στην δημιουργία των ψωριασικών πλακών. Επιπρόσθετα, είναι σημαντικό να επισημανθεί πως οι ιντερφερόνες

τύπου I ενεργοποιούν το μονοπάτι JAK STAT, ελέγχοντας τη μεταγραφή προ-φλεγμονωδών γονιδίων. [61] Φαίνεται, λοιπόν, πως η καταστολή της παραγωγής ιντερφερονών μέσω της δράσης της UL83 πρωτεΐνης ίσως να εμποδίζει και την εκδήλωση των ψωριασικών κακώσεων. Η υπόθεση αυτή θα πρέπει να μελετηθεί σε πειραματικό έδαφος, λαμβάνοντας υπόψη τα παρόντα ευρήματα.

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την παρούσα μελέτη έρχονται σε αντίθεση με την υπόθεση εργασίας μας και δείχνουν πως πιθανότατα ο HCMV να έχει προστατευτική δράση στην ομάδα των υγιών μαρτύρων και να μην συνεισφέρει στην παθογένεια της ψωρίασης. Συμφωνούν με τα συμπεράσματα της μελέτης του Kirby και των συνεργατών του [110] τα οποία υποστηρίζουν ότι δεν υπάρχει σύνδεση μεταξύ της λοίμωξης από HCMV και της εμφάνισης της ψωρίασης. Καμία συσχέτιση δεν εμφανίστηκε μεταξύ της προσβολής από τον HCMV, της κλινικής σοβαρότητας της νόσου και της θεραπείας αυτής.

Από την άλλη μεριά η έρευνα του Asadullah και των συνεργατών [111] του έδειξε αυξημένη συχνότητα HCMV αντιγοναιμίας σε ασθενείς με ψωρίαση η οποία οφείλεται σε ασυμπτωματική ενεργοποίηση λανθάνουσας HCMV λοίμωξης. Μάλιστα προτάθηκε ότι ίσως αυτή η ενεργοποίηση του ιού να αποτελεί παράγοντα έξαρσης της ψωρίασης, καθώς οδηγεί σε μία φλεγμονώδη απόκριση με την ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού και την παραγωγή προ-φλεγμονωδών κυτταροκινών. Επιπλέον, μία ακόμη μελέτη που υποστηρίζει την σύνδεση της λοίμωξης από HCMV και της ψωρίασης είναι αυτή του Weitz και των συνεργατών του [112], η οποία έδειξε ότι υπάρχει μία διαδραστική σχέση που ίσως μεσολαβείται από τα περιφερειακά CD8+ T κύτταρα.

Παρατηρούμε δηλαδή ότι υπάρχουν αντικρουόμενα αποτελέσματα στη βιβλιογραφία αναφορικά με τη συμμετοχή της λοίμωξης από HCMV στην ψωρίαση. Αυτό μπορεί να οφείλεται στις διαφορετικές τεχνικές που χρησιμοποιήθηκαν για την ανίχνευση του ιού καθώς και στο διαφορετικό δείγμα των επιμέρους μελετών.

Συνοπτικά, υπό το πρίσμα των ευρημάτων, χρειάζονται μεγάλες, πολυκεντρικές, προοπτικές μελέτες ασθενών με ψωρίαση και χαρτογράφηση της ανοσιακής T και B λεμφοκυτταρικής απόκρισης πριν οδηγηθούμε σε ασφαλή αποτελέσματα.

## 5. Βιβλιογραφία

- [1] Punt Jenny, Sharon A. Stranford, Patricia P. Jones and Judith A. Owen, Kuby Ανοσολογία, 3<sup>η</sup> έκδοση, 2021, Broken Hill Publishers LTD.
- [2] Tomar, N., & De, R. K. (2014). *A Brief Outline of the Immune System* (pp. 3–12). [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1115-8\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1115-8_1)
- [3] Parkin, J., & Cohen, B. (2001). An overview of the immune system. *The Lancet*, 357(9270), 1777–1789. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(00\)04904-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(00)04904-7)
- [4] Bonilla, F. A., & Oettgen, H. C. (2010). Adaptive immunity. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125(2), S33–S40. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.09.017>
- [5] Wang, L., Wang, F., & Gershwin, M. E. (2015). Human autoimmune diseases: a comprehensive update. *Journal of Internal Medicine*, 278(4), 369–395. <https://doi.org/10.1111/joim.12395>
- [6] Smatti, M. K., Cyprian, F. S., Nasrallah, G. K., al Thani, A. A., Almishal, R. O., & Yassine, H. M. (2019). Viruses and Autoimmunity: A Review on the Potential Interaction and Molecular Mechanisms. *Viruses*, 11(8), 762. <https://doi.org/10.3390/v11080762>
- [7] Quaglia, M., Merlotti, G., de Andrea, M., Borgogna, C., & Cantaluppi, V. (2021). Viral Infections and Systemic Lupus Erythematosus: New Players in an Old Story. *Viruses*, 13(2), 277. <https://doi.org/10.3390/v13020277>
- [8] Griffiths, C. E. M., Armstrong, A. W., Gudjonsson, J. E., & Barker, J. N. W. N. (2021). Psoriasis. *The Lancet*, 397(10281), 1301–1315. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32549-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32549-6)
- [9] Rendon, A., & Schäkel, K. (2019). Psoriasis Pathogenesis and Treatment. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(6), 1475. <https://doi.org/10.3390/ijms20061475>
- [10] Griffiths, C. E., & Barker, J. N. (2007). Pathogenesis and clinical features of psoriasis. *The Lancet*, 370(9583), 263–271. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)61128-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)61128-3)
- [11] Brandon, A., Mufti, A., & Gary Sibbald, R. (2019). Diagnosis and Management of Cutaneous Psoriasis: A Review. *Advances in Skin & Wound Care*, 32(2), 58–69. <https://doi.org/10.1097/01.ASW.0000550592.08674.43>

- [12] Langley, R. G. B. (2005). Psoriasis: epidemiology, clinical features, and quality of life. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 64(suppl\_2), ii18–ii23. <https://doi.org/10.1136/ard.2004.033217>
- [13] Nestle, F. O., Kaplan, D. H., & Barker, J. (2009). Psoriasis. *New England Journal of Medicine*, 361(5), 496–509. <https://doi.org/10.1056/NEJMra0804595>
- [14] Grán, F., Kerstan, A., Serfling, E., Goebeler, M., & Muhammad, K. (2020). Current Developments in the Immunology of Psoriasis. *The Yale Journal of Biology and Medicine*, 93(1), 97–110.
- [15] di Meglio, P., Villanova, F., & Nestle, F. O. (2014). Psoriasis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 4(8), a015354–a015354. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a015354>
- [16] Alissa Cowden and Abby S. Van Voorhees, (2008) Introduction: History of psoriasis and psoriasis therapy, *Treatment of Psoriasis*, 1-10
- [17] John B. Cameron and Abby S. Van Voorhees, (2014) History of Psoriasis, *Advances in Psoriasis, A Multisystemic Guide*, Springer-Verlag, London, 1-7
- [18] Ines Brajac and Franjo Gruber, (2012) History of Psoriasis, *Psoriasis-A Systemic Disease*, IntechOpen, 57-68
- [19] Raychaudhuri, S. K., Maverakis, E., & Raychaudhuri, S. P. (2014). Diagnosis and classification of psoriasis. *Autoimmunity Reviews*, 13(4–5), 490–495. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2014.01.008>
- [20] Luba, K. M., & Stulberg, D. L. (2006). Chronic plaque psoriasis. *American Family Physician*, 73(4), 636–644.
- [21] Fang, R., & Sun, Q. (2020). Guttate Psoriasis. *Indian Pediatrics*, 57(6), 596–597.
- [22] KO, H.-C., JWA, S.-W., SONG, M., KIM, M.-B., & KWON, K.-S. (2010). Clinical course of guttate psoriasis: Long-term follow-up study. *The Journal of Dermatology*, 37(10), 894–899. <https://doi.org/10.1111/j.1346-8138.2010.00871.x>
- [23] Micali, G., Verzi, A. E., Giuffrida, G., Panebianco, E., Musumeci, M. L., & Lacarrubba, F. (2020). <p>Inverse Psoriasis: From Diagnosis to Current Treatment Options</p>. *Clinical*,

*Cosmetic and Investigational Dermatology*, Volume 12, 953–959.  
<https://doi.org/10.2147/CCID.S189000>

[24] Lo, Y., & Tsai, T.-F. (2021). Updates on the Treatment of Erythrodermic Psoriasis. *Psoriasis: Targets and Therapy*, Volume 11, 59–73. <https://doi.org/10.2147/PTT.S288345>

[25] Bachelez, H. (2020). Pustular Psoriasis: The Dawn of a New Era. *Acta Dermato Venereologica*, 100(3), 87–93. <https://doi.org/10.2340/00015555-3388>

[26] Navarini, A. A., Burden, A. D., Capon, F., Mrowietz, U., Puig, L., Koks, S., Kingo, K., Smith, C., & Barker, J. N. (2017). European consensus statement on phenotypes of pustular psoriasis. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 31(11), 1792–1799. <https://doi.org/10.1111/jdv.14386>

[27] Marrakchi, S., & Puig, L. (2022). Pathophysiology of Generalized Pustular Psoriasis. *American Journal of Clinical Dermatology*, 23(S1), 13–19. <https://doi.org/10.1007/s40257-021-00655-y>

[28] Thomas, L., Azad, J., & Takwale, A. (2021). Management of nail psoriasis. *Clinical and Experimental Dermatology*, 46(1), 3–8. <https://doi.org/10.1111/ced.14314>

[29] Yesudian, P. D., & de Berker, D. A. R. (2021). Inflammatory nail conditions. Part 1: nail changes in psoriasis. *Clinical and Experimental Dermatology*, 46(1), 9–15. <https://doi.org/10.1111/ced.14351>

[30] Zhang, X.-J., Huang, W., Yang, S., Sun, L.-D., Zhang, F.-Y., Zhu, Q.-X., Zhang, F.-R., Zhang, C., Du, W.-H., Pu, X.-M., Li, H., Xiao, F.-L., Wang, Z.-X., Cui, Y., Hao, F., Zheng, J., Yang, X.-Q., Cheng, H., He, C.-D., ... Liu, J.-J. (2009). Psoriasis genome-wide association study identifies susceptibility variants within LCE gene cluster at 1q21. *Nature Genetics*, 41(2), 205–210. <https://doi.org/10.1038/ng.310>

[31] Henseler, T., & Christophers, E. (1985). Psoriasis of early and late onset: Characterization of two types of psoriasis vulgaris. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 13(3), 450–456. [https://doi.org/10.1016/S0190-9622\(85\)70188-0](https://doi.org/10.1016/S0190-9622(85)70188-0)

[32] Parisi, R., Symmons, D. P. M., Griffiths, C. E. M., & Ashcroft, D. M. (2013). Global Epidemiology of Psoriasis: A Systematic Review of Incidence and Prevalence. *Journal of Investigative Dermatology*, 133(2), 377–385. <https://doi.org/10.1038/jid.2012.339>



- [33] Fernández-Armenteros, J. M., Gómez-Arbonés, X., Buti-Solé, M., Betriu-Bars, A., Sanmartin-Novell, V., Ortega-Bravo, M., Martínez-Alonso, M., & Casanova-Seuma, J. M. (2019). Características epidemiológicas de la psoriasis. Un estudio poblacional. *Actas Dermo-Sifiliográficas*, 110(5), 385–392. <https://doi.org/10.1016/j.ad.2018.10.015>
- [34] AlQassimi, S., AlBrashdi, S., Galadari, H., & Hashim, M. J. (2020). Global burden of psoriasis – comparison of regional and global epidemiology, 1990 to 2017. *International Journal of Dermatology*, 59(5), 566–571. <https://doi.org/10.1111/ijd.14864>
- [35] Jacobson, C. C., Kumar, S., & Kimball, A. B. (2011). Latitude and psoriasis prevalence. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 65(4), 870–873. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2009.05.047>
- [36] Enamandram, M., & Kimball, A. B. (2013). Psoriasis Epidemiology: The Interplay of Genes and the Environment. *Journal of Investigative Dermatology*, 133(2), 287–289. <https://doi.org/10.1038/jid.2012.434>
- [37] Christophers, E. (2001). Psoriasis – epidemiology and clinical spectrum. *Clinical and Experimental Dermatology*, 26(4), 314–320. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2230.2001.00832.x>
- [38] Parisi, R., Iskandar, I. Y. K., Kontopantelis, E., Augustin, M., Griffiths, C. E. M., & Ashcroft, D. M. (2020). National, regional, and worldwide epidemiology of psoriasis: systematic analysis and modelling study. *BMJ*, m1590. <https://doi.org/10.1136/bmj.m1590>
- [39] Kim, W. B., Jerome, D., & Yeung, J. (2017). Diagnosis and management of psoriasis. *Canadian Family Physician Medecin de Famille Canadien*, 63(4), 278–285.
- [40] Boehncke, W.-H., & Schön, M. P. (2015). Psoriasis. *The Lancet*, 386(9997), 983–994. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)61909-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)61909-7)
- [41] Llamas-Velasco, M., de la Cueva, P., Notario, J., Martínez-Pilar, L., Martorell, A., & Moreno-Ramírez, D. (2017). Psoriasis moderada. Propuesta de definición. *Actas Dermo-Sifiliográficas*, 108(10), 911–917. <https://doi.org/10.1016/j.ad.2017.07.002>
- [42] Oji, V., & Luger, T. A. (2015). The skin in psoriasis: assessment and challenges. *Clinical and Experimental Rheumatology*, 33(5 Suppl 93), S14-9.

- [43] Langley, R. G., & Ellis, C. N. (2004). Evaluating psoriasis with Psoriasis Area and Severity Index, Psoriasis Global Assessment, and Lattice System Physician's Global Assessment. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 51(4), 563–569. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2004.04.012>
- [44] Mrowietz, U., Kragballe, K., Reich, K., Spuls, P., Griffiths, C. E. M., Nast, A., Franke, J., Antoniou, C., Arenberger, P., Balieva, F., Bylaite, M., Correia, O., Daudén, E., Gisondi, P., Iversen, L., Kemény, L., Lahfa, M., Nijsten, T., Rantanen, T., ... Yawalkar, N. (2011). Definition of treatment goals for moderate to severe psoriasis: a European consensus. *Archives of Dermatological Research*, 303(1), 1–10. <https://doi.org/10.1007/s00403-010-1080-1>
- [45] Krueger, J. G. (2005). Psoriasis pathophysiology: current concepts of pathogenesis. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 64(suppl\_2), ii30–ii36. <https://doi.org/10.1136/ard.2004.031120>
- [46] Marissa D. Newman and Jeffrey M. Weinberg, (2008). The pathophysiology of psoriasis, *Treatment of Psoriasis*, 11-22
- [47] Jeremy M. Hugh, Marissa D. Newman and Jeffrey M. Weinberg, (2014). The pathophysiology of psoriasis, *Advances in Psoriasis, A Multisystemic Guide*, Springer-Verlag, London, 9-19
- [48] Peters, B. P., Weissman, F. G., & Gill, M. A. (2000). Pathophysiology and treatment of psoriasis. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 57(7), 645–659. <https://doi.org/10.1093/ajhp/57.7.645>
- [49] de Rosa, G., & Mignogna, C. (2007). The histopathology of psoriasis. *Reumatismo*, 59 Suppl 1, 46–48. <https://doi.org/10.4081/reumatismo.2007.1s.46>
- [50] Garshick, M. K., & Kimball, A. B. (2015). Psoriasis and the Life Cycle of Persistent Life Effects. *Dermatologic Clinics*, 33(1), 25–39. <https://doi.org/10.1016/j.det.2014.09.003>
- [51] Oliveira, M. de F. S. P. de, Rocha, B. de O., & Duarte, G. V. (2015). Psoriasis: classical and emerging comorbidities. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 90(1), 9–20. <https://doi.org/10.1590/abd1806-4841.20153038>

- [52] Yamazaki, F. (2021). Psoriasis: Comorbidities. *The Journal of Dermatology*, 48(6), 732–740. <https://doi.org/10.1111/1346-8138.15840>
- [53] Kimball, A. B., Gladman, D., Gelfand, J. M., Gordon, K., Horn, E. J., Korman, N. J., Korver, G., Krueger, G. G., Strober, B. E., & Lebwohl, M. G. (2008). National Psoriasis Foundation clinical consensus on psoriasis comorbidities and recommendations for screening. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 58(6), 1031–1042. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2008.01.006>
- [54] Aurangabadkar, S. (2013). Comorbidities in psoriasis. *Indian Journal of Dermatology, Venereology, and Leprology*, 79(7), 10. <https://doi.org/10.4103/0378-6323.115506>
- [55] Zeng, J., Luo, S., Huang, Y., & Lu, Q. (2017). Critical role of environmental factors in the pathogenesis of psoriasis. *The Journal of Dermatology*, 44(8), 863–872. <https://doi.org/10.1111/1346-8138.13806>
- [56] Ogawa, K., & Okada, Y. (2020). The current landscape of psoriasis genetics in 2020. *Journal of Dermatological Science*, 99(1), 2–8. <https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2020.05.008>
- [57] Alwan, W., & Nestle, F. O. (2015). Pathogenesis and treatment of psoriasis: exploiting pathophysiological pathways for precision medicine. *Clinical and Experimental Rheumatology*, 33(5 Suppl 93), S2-6.
- [58] McCormick, T., Ayala-Fontanez, N., & Soler, D. (2016). Current knowledge on psoriasis and autoimmune diseases. *Psoriasis: Targets and Therapy*, 7. <https://doi.org/10.2147/PTT.S64950>
- [59] Lowes, M. A., Suárez-Fariñas, M., & Krueger, J. G. (2014). Immunology of Psoriasis. *Annual Review of Immunology*, 32(1), 227–255. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032713-120225>
- [60] Dopytalska, K., Ciechanowicz, P., Wiszniewski, K., Szymańska, E., & Walecka, I. (2021). The Role of Epigenetic Factors in Psoriasis. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(17), 9294. <https://doi.org/10.3390/ijms22179294>

- [61] Vičić, M., Kaštelan, M., Brajac, I., Sotošek, V., & Massari, L. P. (2021). Current Concepts of Psoriasis Immunopathogenesis. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(21), 11574. <https://doi.org/10.3390/ijms222111574>
- [62] Huang, Y.-W., & Tsai, T.-F. (2021). HLA-Cw1 and Psoriasis. *American Journal of Clinical Dermatology*, 22(3), 339–347. <https://doi.org/10.1007/s40257-020-00585-1>
- [63] Roszkiewicz, M., Dopytalska, K., Szymańska, E., Jakimiuk, A., & Walecka, I. (2020). Environmental risk factors and epigenetic alternations in psoriasis. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 27(3), 335–342. <https://doi.org/10.26444/aaem/112107>
- [64] Pisani, C., Onori, A., Gabanella, F., di Certo, M. G., Passananti, C., & Corbi, N. (2021). Identification of protein/mRNA network involving the PSORS1 locus gene CCHCR1 and the PSORS4 locus gene HAX1. *Experimental Cell Research*, 399(2), 112471. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2021.112471>
- [65] Li, H., Yao, Q., Mariscal, A. G., Wu, X., Hülse, J., Pedersen, E., Helin, K., Waisman, A., Vinkel, C., Thomsen, S. F., Avgustinova, A., Benitah, S. A., Lovato, P., Norsgaard, H., Mortensen, M. S., Veng, L., Rozell, B., & Brakebusch, C. (2018). Epigenetic control of IL-23 expression in keratinocytes is important for chronic skin inflammation. *Nature Communications*, 9(1), 1420. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03704-z>
- [66] Ovejero-Benito, M. C., Reolid, A., Sánchez-Jiménez, P., Saiz-Rodríguez, M., Muñoz-Aceituno, E., Llamas-Velasco, M., Martín-Vilchez, S., Cabaleiro, T., Román, M., Ochoa, D., Daudén, E., & Abad-Santos, F. (2018). Histone modifications associated with biological drug response in moderate-to-severe psoriasis. *Experimental Dermatology*, 27(12), 1361–1371. <https://doi.org/10.1111/exd.13790>
- [67] Jin, Y., Yang, S., Zhang, F., Kong, Y., Xiao, F., Hou, Y., Fan, X., & Zhang, X. (2009). Combined effects of *HLA-Cw6* and cigarette smoking in psoriasis vulgaris: A hospital-based case–control study in China. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 23(2), 132–137. <https://doi.org/10.1111/j.1468-3083.2008.02951.x>
- [68] Wolk, K., Mallbris, L., Larsson, P., Rosenblad, A., Vingård, E., & Ståhle, M. (2009). Excessive Body Weight and Smoking Associates with a High Risk of Onset of Plaque Psoriasis. *Acta Dermato Venereologica*, 89(5), 492–497. <https://doi.org/10.2340/00015555-0711>

- [69] Kamiya, K., Kishimoto, M., Sugai, J., Komine, M., & Ohtsuki, M. (2019). Risk Factors for the Development of Psoriasis. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(18), 4347. <https://doi.org/10.3390/ijms20184347>
- [70] Menter, A., Korman, N. J., Elmets, C. A., Feldman, S. R., Gelfand, J. M., Gordon, K. B., Gottlieb, A., Koo, J. Y. M., Lebwohl, M., Lim, H. W., van Voorhees, A. S., Beutner, K. R., & Bhushan, R. (2009). Guidelines of care for the management of psoriasis and psoriatic arthritis. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 60(4), 643–659. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2008.12.032>
- [71] Nast, A., Boehncke, W., Mrowietz, U., Ockenfels, H., Philipp, S., Reich, K., Rosenbach, T., Sammain, A., Schlaeger, M., Sebastian, M., Sterry, W., Streit, V., Augustin, M., Erdmann, R., Klaus, J., Koza, J., Muller, S., Orzechowski, H., Rosumeck, S., ... Rzany, B. (2012). S3 – Guidelines on the treatment of psoriasis vulgaris (English version). Update. *JDDG: Journal Der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*, 10(s2). <https://doi.org/10.1111/j.1610-0387.2012.07919>
- [72] Morita, A. (2018). Current developments in phototherapy for psoriasis. *The Journal of Dermatology*, 45(3), 287–292. <https://doi.org/10.1111/1346-8138.14213>
- [73] Elmets, C. A., Lim, H. W., Stoff, B., Connor, C., Cordoro, K. M., Lebwohl, M., Armstrong, A. W., Davis, D. M. R., Elewski, B. E., Gelfand, J. M., Gordon, K. B., Gottlieb, A. B., Kaplan, D. H., Kavanaugh, A., Kiselica, M., Kivelevitch, D., Korman, N. J., Kroshinsky, D., Leonardi, C. L., ... Menter, A. (2019). Joint American Academy of Dermatology–National Psoriasis Foundation guidelines of care for the management and treatment of psoriasis with phototherapy. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 81(3), 775–804. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2019.04.042>
- [74] Pathirana, D., Ormerod, A., Saiag, P., Smith, C., Spuls, P., Nast, A., Barker, J., Bos, J., Burmester, G., Chimenti, S., Dubertret, L., Eberlein, B., Erdmann, R., Ferguson, J., Girolomoni, G., Gisondi, P., Giunta, A., Griffiths, C., Hönigsmann, H., ... Rzany, B. (2009). European S3-Guidelines on the systemic treatment of psoriasis vulgaris. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 23(s2), 1–70. <https://doi.org/10.1111/j.1468-3083.2009.03389.x>

- [75] Tokuyama, M., & Mabuchi, T. (2020). New Treatment Addressing the Pathogenesis of Psoriasis. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(20), 7488. <https://doi.org/10.3390/ijms21207488>
- [76] Papp, K., Reich, K., Leonardi, C. L., Kircik, L., Chimenti, S., Langley, R. G. B., Hu, C., Stevens, R. M., Day, R. M., Gordon, K. B., Korman, N. J., & Griffiths, C. E. M. (2015). Apremilast, an oral phosphodiesterase 4 (PDE4) inhibitor, in patients with moderate to severe plaque psoriasis: Results of a phase III, randomized, controlled trial (Efficacy and Safety Trial Evaluating the Effects of Apremilast in Psoriasis [ESTEEM] 1). *Journal of the American Academy of Dermatology*, 73(1), 37–49. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2015.03.049>
- [77] Schafer, P. (2012). Apremilast mechanism of action and application to psoriasis and psoriatic arthritis. *Biochemical Pharmacology*, 83(12), 1583–1590. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2012.01.001>
- [78] Brück, J., Dringen, R., Amasuno, A., Pau-Charles, I., & Ghoreschi, K. (2018). A review of the mechanisms of action of dimethylfumarate in the treatment of psoriasis. *Experimental Dermatology*, 27(6), 611–624. <https://doi.org/10.1111/exd.13548>
- [79] Dogra, S., Jain, A., & Kanwar, A. J. (2013). Efficacy and safety of acitretin in three fixed doses of 25, 35 and 50 mg in adult patients with severe plaque type psoriasis: a randomized, double blind, parallel group, dose ranging study. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 27(3), e305–e311. <https://doi.org/10.1111/j.1468-3083.2012.04644.x>
- [80] Rønholt, K., & Iversen, L. (2017). Old and New Biological Therapies for Psoriasis. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(11), 2297. <https://doi.org/10.3390/ijms18112297>
- [81] Singh, R., Koppu, S., Perche, P. O., & Feldman, S. R. (2021). The Cytokine Mediated Molecular Pathophysiology of Psoriasis and Its Clinical Implications. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23), 12793. <https://doi.org/10.3390/ijms222312793>
- [82] Menter, A., Tying, S. K., Gordon, K., Kimball, A. B., Leonardi, C. L., Langley, R. G., Strober, B. E., Kaul, M., Gu, Y., Okun, M., & Papp, K. (2008). Adalimumab therapy for moderate to severe psoriasis: A randomized, controlled phase III trial. *Journal of the*



*American Academy of Dermatology*, 58(1), 106–115.  
<https://doi.org/10.1016/j.jaad.2007.09.010>

[83] Leonardi, C. L., Powers, J. L., Matheson, R. T., Goffe, B. S., Zitnik, R., Wang, A., & Gottlieb, A. B. (2003). Etanercept as Monotherapy in Patients with Psoriasis. *New England Journal of Medicine*, 349(21), 2014–2022. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa030409>

[84] Reich, K., Nestle, F. O., Papp, K., Ortonne, J.-P., Evans, R., Guzzo, C., Li, S., Dooley, L. T., & Griffiths, C. E. (2005). Infliximab induction and maintenance therapy for moderate-to-severe psoriasis: a phase III, multicentre, double-blind trial. *The Lancet*, 366(9494), 1367–1374. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)67566-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)67566-6)

[85] Griffiths, P., & Reeves, M. (2021). Pathogenesis of human cytomegalovirus in the immunocompromised host. *Nature Reviews Microbiology*, 19(12), 759–773. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00582-z>

[86] Plosa, E. J., Esbenschade, J. C., Fuller, M. P., & Weitkamp, J.-H. (2012). Cytomegalovirus Infection. *Pediatrics in Review*, 33(4), 156–163. <https://doi.org/10.1542/pir.33-4-156>

[87] Zuhair, M., Smit, G. S. A., Wallis, G., Jabbar, F., Smith, C., Devleesschauwer, B., & Griffiths, P. (2019). Estimation of the worldwide seroprevalence of cytomegalovirus: A systematic review and meta-analysis. *Reviews in Medical Virology*, 29(3). <https://doi.org/10.1002/rmv.2034>

[88] Boeckh, M., & Geballe, A. P. (2011). Cytomegalovirus: pathogen, paradigm, and puzzle. *Journal of Clinical Investigation*, 121(5), 1673–1680. <https://doi.org/10.1172/JCI45449>

[89] Griffiths, P., Baraniak, I., & Reeves, M. (2015). The pathogenesis of human cytomegalovirus. *The Journal of Pathology*, 235(2), 288–297. <https://doi.org/10.1002/path.4437>

[90] Tomas Shenk, Mark F Stinski, (2008). Human Cytomegalovirus, Chapter 11: Structure and Formation of the Cytomegalovirus virion, Current Topics In microbiology and immunology. Springer Verlag Berlin Heidelberg, Volume 325, p.187-204

- [91] Crough, T., & Khanna, R. (2009). Immunobiology of Human Cytomegalovirus: from Bench to Bedside. *Clinical Microbiology Reviews*, 22(1), 76–98. <https://doi.org/10.1128/CMR.00034-08>
- [92] Varani, S., & Landini, M. (2011). Cytomegalovirus-induced immunopathology and its clinical consequences. *Herpesviridae*, 2(1), 6. <https://doi.org/10.1186/2042-4280-2-6>
- [93] Penkert, R. R., & Kalejta, R. F. (2011). Tegument protein control of latent herpesvirus establishment and animation. *Herpesviridae*, 2(1), 3. <https://doi.org/10.1186/2042-4280-2-3>
- [94] Connolly, S. A., Jardetzky, T. S., & Longnecker, R. (2021). The structural basis of herpesvirus entry. *Nature Reviews Microbiology*, 19(2), 110–121. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00448-w>
- [95] Vanarsdall, A. L., & Johnson, D. C. (2012). Human cytomegalovirus entry into cells. *Current Opinion in Virology*, 2(1), 37–42. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2012.01.001>
- [96] Sánchez-Ponce, Y., & Fuentes-Panana, E. M. (2022). Molecular and immune interactions between  $\beta$ - and  $\gamma$ -herpesviruses in the immunocompromised host. *Journal of Leukocyte Biology*, 112(1), 79–95. <https://doi.org/10.1002/JLB.4MR1221-452R>
- [97] Tomtishen III, J. P. (2012). Human cytomegalovirus tegument proteins (pp65, pp71, pp150, pp28). *Virology Journal*, 9(1), 22. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-9-22>
- [98] Sinclair, J. (2008). Human cytomegalovirus: Latency and reactivation in the myeloid lineage. *Journal of Clinical Virology*, 41(3), 180–185. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2007.11.014>
- [99] Berry, R., Watson, G. M., Jonjic, S., Degli-Esposti, M. A., & Rossjohn, J. (2020). Modulation of innate and adaptive immunity by cytomegaloviruses. *Nature Reviews Immunology*, 20(2), 113–127. <https://doi.org/10.1038/s41577-019-0225-5>
- [100] Landolfo, S., Gariglio, M., Gribaudo, G., & Lembo, D. (2003). The human cytomegalovirus. *Pharmacology & Therapeutics*, 98(3), 269–297. [https://doi.org/10.1016/S0163-7258\(03\)00034-2](https://doi.org/10.1016/S0163-7258(03)00034-2)
- [101] Cannon, M. J. (2009). Congenital cytomegalovirus (CMV) epidemiology and awareness. *Journal of Clinical Virology*, 46, S6–S10. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2009.09.002>



- [102] Garrett Nichols, W., & Boeckh, M. (2000). Recent advances in the therapy and prevention of CMV infections. *Journal of Clinical Virology*, 16(1), 25–40. [https://doi.org/10.1016/S1386-6532\(99\)00065-7](https://doi.org/10.1016/S1386-6532(99)00065-7)
- [103] Gugliesi, F., Pasquero, S., Griffante, G., Scutera, S., Albano, C., Pacheco, S. F. C., Riva, G., Dell'Oste, V., & Biolatti, M. (2021). Human Cytomegalovirus and Autoimmune Diseases: Where Are We? *Viruses*, 13(2), 260. <https://doi.org/10.3390/v13020260>
- [104] Sener, A. G., & Afsar, I. (2012). Infection and autoimmune disease. *Rheumatology International*, 32(11), 3331–3338. <https://doi.org/10.1007/s00296-012-2451-z>
- [105] Sfriso, P., Ghirardello, A., Botsios, C., Tonon, M., Zen, M., Bassi, N., Bassetto, F., & Doria, A. (2009). Infections and autoimmunity: the multifaceted relationship. *Journal of Leukocyte Biology*, 87(3), 385–395. <https://doi.org/10.1189/jlb.0709517>
- [106] Halenius, A., & Hengel, H. (2014). Human Cytomegalovirus and Autoimmune Disease. *BioMed Research International*, 2014, 1–15. <https://doi.org/10.1155/2014/472978>
- [107] Bjornevik, K., Cortese, M., Healy, B. C., Kuhle, J., Mina, M. J., Leng, Y., Elledge, S. J., Niebuhr, D. W., Scher, A. I., Munger, K. L., & Ascherio, A. (2022). Longitudinal analysis reveals high prevalence of Epstein-Barr virus associated with multiple sclerosis. *Science*, 375(6578), 296–301. <https://doi.org/10.1126/science.abj8222>
- [108] Cusick, M. F., Libbey, J. E., & Fujinami, R. S. (2012). Molecular Mimicry as a Mechanism of Autoimmune Disease. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, 42(1), 102–111. <https://doi.org/10.1007/s12016-011-8294-7>
- [109] JOHNSTON, A., GUDJONSSON, J. E., SIGMUNDSDOTTIR, H., LOVE, T. J., & VALDIMARSSON, H. (2004). Peripheral blood T cell responses to keratin peptides that share sequences with streptococcal M proteins are largely restricted to skin-homing CD8+ T cells. *Clinical and Experimental Immunology*, 138(1), 83–93. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2004.00600.x>
- [110] Kirby, O. A.-J. R. J. C., B. (2000). Investigation of Cytomegalovirus and Human Herpes Viruses 6 and 7 as Possible Causative Antigens in Psoriasis. *Acta Dermato-Venereologica*, 80(6), 404–406. <https://doi.org/10.1080/000155500300012738>

- [111] Asadullah, PRÖsch, Audring, BÜttnerova, Volk, Sterry, & DÖcke. (1999). A high prevalence of cytomegalovirus antigenaemia in patients with moderate to severe chronic plaque psoriasis: an association with systemic tumour necrosis factor ? overexpression. *British Journal of Dermatology*, *141*(1), 94–102. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2133.1999.02926.x>
- [112] Weitz, M., Kiessling, C., Friedrich, M., Prösch, S., Höflich, C., Kern, F., Volk, H.-D., Sterry, W., Asadullah, K., & Döcke, W.-D. (2011). Persistent CMV infection correlates with disease activity and dominates the phenotype of peripheral CD8+ T cells in psoriasis. *Experimental Dermatology*, *20*(7), 561–567. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0625.2011.01250.x>
- [113] Marou, E., Liaskos, C., Efthymiou, G., Dardiotis, E., Daponte, A., Scheper, T., Meyer, W., Hadjigeorgiou, G., Bogdanos, D. P., & Sakkas, L. I. (2017). Increased immunoreactivity against human cytomegalovirus UL83 in systemic sclerosis. *Clinical and Experimental Rheumatology*, *35 Suppl 106*(4), 31–34.
- [114] Namboodiri, A. M., Rocca, K. M., Kuwana, M., & Pandey, J. P. (2006). Antibodies to human cytomegalovirus protein UL83 in systemic sclerosis. *Clinical and Experimental Rheumatology*, *24*(2), 176–178.
- [115] Marou, E., Liaskos, C., Simopoulou, T., Efthymiou, G., Dardiotis, E., Katsiari, C., Scheper, T., Meyer, W., Hadjigeorgiou, G., Bogdanos, D. P., & Sakkas, L. I. (2017). Human cytomegalovirus (HCMV) UL44 and UL57 specific antibody responses in anti-HCMV-positive patients with systemic sclerosis. *Clinical Rheumatology*, *36*(4), 863–869. <https://doi.org/10.1007/s10067-017-3553-5>
- [116] Efthymiou, G., Dardiotis, E., Liaskos, C., Marou, E., Scheper, T., Meyer, W., Daponte, A., Daoussis, D., Hadjigeorgiou, G., Bogdanos, D. P., & Sakkas, L. I. (2019). A comprehensive analysis of antigen-specific antibody responses against human cytomegalovirus in patients with systemic sclerosis. *Clinical Immunology*, *207*, 87–96. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2019.07.012>
- [117] Biolatti, M., Dell’Oste, V., de Andrea, M., & Landolfo, S. (2018). The human cytomegalovirus tegument protein pp65 (pUL83): a key player in innate immune evasion. *The New Microbiologica*, *41*(2), 87–94.