
REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Factorul hormonal în patogeneza psoriazisului vulgar

Doctorand: **Iulia-Ioana Roman**

Conducător de doctorat: **Prof. Dr. Remus-Ioan Orăsan**



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

CUPRINS

INTRODUCERE	1
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	3
1. PSORIAZISUL VULGAR	5
1.1. DEFINIȚIE.....	5
1.2. EPIDEMIOLOGIE.....	5
1.3. ETIOPATOGENIE.....	5
1.3.1. Factori declanșatori.....	5
1.3.2. Factori genetici.....	6
1.3.3. Rolul keratinocitelor.....	6
1.3.4. Modificările vasculare.....	7
1.3.5. Rolul celulelor inflamatorii și al citokinelor.....	7
1.4. AFECȚIUNI ASOCIATE CU PSORIAZISUL VULGAR.....	8
1.5. ASPECTE CLINICE.....	8
1.6. OPȚIUNI TERAPEUTICE.....	10
2. TEGUMENTUL: ORGAN ȚINTĂ ȘI DE SINTEZĂ A HORMONILOR	13
2. 1. STRUCTURA ȘI FUNCȚIILE PIELII.....	13
2. 2. SISTEMUL NEUROENDOCRIN AL PIELII.....	14
2. 3. HORMONI SINTETIZAȚI LA NIVEL CUTANAT ȘI RECEPTORI HORMONALI CUTANAȚI.....	15
3. ROLUL HORMONILOR ÎN PSORIAZIS.....	19
3.1. HORMONII SEXUALI ȘI PSORIAZISUL.....	19
3.1.1. Sarcina.....	20
3.1.2. Menopauza.....	21
3.1.3. Androgenii.....	21
3.2. HORMONII DE STRES.....	21
3.3. PROLACTINA.....	23
3.4. HORMONII TIROIDIENI.....	24
3.5. LEPTINA, GHRELINA, INSULINA ȘI OBEZITATEA.....	24
CONTRIBUȚIA PERSONALĂ	27
1. OBIECTIVELE STUDIULUI.....	29
2. METODOLOGIE GENERALĂ.....	31
2.1. CONSIDERAȚII ETICE.....	31
2.2 CRITERII GENERALE DE INCLUDERE ȘI EXCLUDERE.....	31
2.3 EVALUAREA CLINICĂ.....	31
2.4 EVALUAREA BIOCHIMICĂ.....	32
2.5 ANALIZA STATISTICĂ.....	32
3. STUDIUL 1. DETERMINAREA NIVELULUI HORMONILOR SEXUALI LA PACIENȚII CU PSORIAZIS VULGAR	
3.1. INTRODUCERE.....	33
3.2. IPOTEZA DE LUCRU.....	33
3.3. MATERIAL ȘI METODĂ.....	34
3.4. REZULTATE.....	35
3.5. DISCUȚII.....	44
3.6. CONCLUZII.....	46
4. STUDIUL 2. TRATAMENTUL CU ETANERCEPT ȘI FUNCȚIA TIROIDIANĂ LA PACIENȚII CU PSORIAZIS VULGAR	
4.1. INTRODUCERE.....	49
4.2. IPOTEZA DE LUCRU.....	49
4.3. MATERIAL ȘI METODĂ.....	49
4.4. REZULTATE.....	51
4.5. DISCUȚII.....	61
4.6. CONCLUZII.....	64

5. STUDIUL 3. PROLACTINA - INDICATOR AL SEVERITĂȚII PSORIAZISULUI VULGAR.....	67
5.1. INTRODUCERE.....	67
5.2. IPOTEZA DE LUCRU.....	67
5.3. MATERIAL ȘI METODĂ.....	67
5.4. REZULTATE.....	68
5.5. DISCUȚII.....	78
5.6. CONCLUZII.....	80
6. STUDIUL 4. EVALUAREA IMUNOHISTOCHEMICĂ A PREZENȚEI TNF ALFA ȘI A RECEPTORILOR PENTRU PROLACTINĂ ȘI VEGF LA PACIENȚII CU PSORIAZIS VULGAR	
6.1. INTRODUCERE.....	81
6.2. IPOTEZA DE LUCRU.....	81
6.3. MATERIAL ȘI METODĂ.....	81
6.4. REZULTATE.....	83
6.5. DISCUȚII.....	89
6.6. CONCLUZII.....	90
7. CONCLUZII GENERALE.....	93
8. ORIGINALITATEA ȘI CONTRIBUȚIILE INOVATIVE ALE TEZEI.....	95
REFERINȚE.....	97
ANEXA 1	109

Cuvinte cheie: psoriazis vulgar, patogeneză, hormoni, terapie anti TNF-alfa, imunohistochimie

Introducere

Descrierea patogenezei unei boli este o muncă în continuă desfășurare, ținând cont de caracterul dinamic al cercetării științifice. Noi și noi ipoteze apar în încercarea de a stabili cu exactitate cauza și de a oferi soluții în rezolvarea problemei.

Etiopatogenia psoriazisului vulgar nu a fost pe deplin elucidată. Cercetările efectuate în urmășii ani aduc în prim-plan caracterul multifactorial al acestei afecțiuni. Numeroși factori interni și externi, acționând pe un teren cu predispoziție genetică, duc la apariția unor procese mediate imun, al căror răsunset se regăsește la nivel cutanat și/sau articular.

Un element important în declanșarea bolii îl reprezintă stresul, fapt confirmat de apariția unor perturbări la nivelul axului hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenalian, dar și de modificarea nivelului hormonilor de stres la pacienții cu psoriazis. Nu doar acești hormoni sunt responsabili pentru activarea bolii. O incidență crescută a afecțiunii se găsește în perioadele cu modificări hormonale importante, cum ar fi pubertatea, gravitatea sau menopauza. Mai mult, la nivel cutanat, există o serie de receptori ai hormonilor sexuali, și nu numai, prin care aceștia își exercită proprietățile imunomodulatoare. Declanșarea psoriazisului a fost asociată și cu alte afecțiuni endocrine, a căror tratament a dus la remisia patologiei cutanate.

Tratamentul medicamentos în psoriazis este unul de lungă durată, menit să țină sub control boala, fără a oferi o vindecare completă. Pentru formele moderate sau severe, care nu răspund la tratamentele convenționale, singura opțiune terapeutică rămâne tratamentul biologic, o variantă costisitoare, ale cărei efecte adverse pe termen lung nu sunt încă pe deplin cunoscute.

Ținând cont de aceste lucruri, ne-am dorit să facem o evaluare a pacienților cu psoriazis vulgar, care să includă dozarea hormonilor sexuali (estradiol, progesteron, testosteron liber), a prolactinei, dar și o evaluare a funcției tiroidiene la această populație. Totodată, am dorit să vedem în ce măsură tratamentul biologic cu anti TNF-alfa influențează nivelul acestor hormoni sau funcția tiroidiană. În lucrarea de față am efectuat și o analiza imunohistochimică a probelor de biopsie, în vederea evidențierii unor molecule din tegumentul afectat comparativ cu tegumentul perilezional.

Contribuția personală

Cercetarea de față este structurată în patru părți:

1. Studiu de evaluare a nivelului hormonilor sexuali la pacienții cu psoriazis vulgar
2. Studiu de evaluare a funcției tiroidiene la pacienții cu psoriazis vulgar
3. Studiu de evaluare a relației dintre severitatea bolii și nivelul seric al prolactinei la pacienții cu psoriazis vulgar
4. Studiu de evaluare imunohistochimică a nivelului de TNF-alfa și a receptorilor pentru prolactină și VEGF la pacienții cu psoriazis vulgar

Metodologia generală de studiu

Protocolul studiului a fost aprobat de către Comisia de Etică a Universității de Medicină și Farmacie Iuliu-Hațieganu Cluj Napoca, Romania (300/28.07.2014). Toți participanții și-au dat acordul și au semnat consimțământul informat de includere în studiu, desfășurat la Clinica de Dermatologie a Spitalului Clinic Județean de urgență Cluj

În studii au fost incluși doar pacienții cu vârsta peste 18 ani, cu psoriazis vulgar în plăci, cu leziuni prezente, care erau fie sub tratament cu etanercept, fie nu au mai folosit tratamente sistemice anterioare. Pacienții cu alte forme de psoriazis decât forma sau pacienții aflați sub tratament cu alt preparat biologic nu au fost incluși în studiu. Printre criteriile generale de excludere s-au numărat alte afecțiuni cutanate, prezența neoplaziilor, afecțiunile hepatice sau renale severe, infecția cu HIV/SIDA, prezența tratamentelor hormonale sau antidepresive, femeile însărcinate sau aflate în perioada de lactație.

Datele colectate în vederea evaluării clinice au cuprins vârsta, sexul, vârsta la debutul bolii, durata bolii, prezența antecedentelor heredo-colaterale, perioada fertilă în cazul femeilor, determinarea IMC, durata tratamentului (dacă a fost cazul), scorul PASI.

Probele biochimice au fost recoltate a jeun și prelucrate în colaborare cu laboratorul Bioclinica. Dozarea hormonilor TSH(hormon tireostimulant) FT4, PRL, *estradiol*, *progesteron* a fost realizată prin tehnica de chemiluminiscentă; testosteronul liber a fost determinat prin metode imunoenzimatic (EIA); pentru dozarea nivelului AcAntiTPO și a TNF- α a fost folosită chemiluminiscentă; dozarea T3 a fost realizată prin electrochemiluminiscentă (ECLIA).

Determinările histopatologice și imunohistochimice au fost realizate în colaborare cu departamentul de Anatomie patologică al UMF Cluj-Napoca și USAMV Cluj-Napoca.

Studiul 1. Determinarea nivelului hormonilor sexuali la pacienții cu psoriazis vulgar

Scopul studiului a fost de a evalua nivelul hormonilor sexuali (estradiol, progesteron și testosteron liber) la pacienții cu psoriazis vulgar, pornind de la ipoteza că o incidență crescută a bolii se regăsește în perioade cu modificări hormonale importante, iar severitatea bolii ar fi mai crescută la bărbați. Pentru aceasta, am stabilit mai multe obiective:

1. Determinarea nivelului seric al estradiolului, progesteronului și testosteronului liber la pacienții cu psoriazis vulgar și compararea rezultatelor cu valorile obținute la lotul martor
2. Compararea nivelului seric al hormonilor între pacienții aflați sub tratament biologic și cei fără tratament în antecedente
3. Evaluarea severității bolii prin calcularea scorului PASI (Psoriasis Area Severity Index)
4. Stabilirea procentului în care valorile hormonale situate peste limita superioară a normalului influențează severitatea bolii
5. Stabilirea factorilor care contribuie la creșterea peste valoarea normală a hormonilor
6. Stabilirea unei corelații între debutul bolii și apariția menarhăi/menopauzei la femei
7. Stabilirea unei corelații între tipul de psoriazis și prezența antecedentelor heredocolaterale

Material și metodă

Studiul de față este un studiu observațional transversal, desfășurat între anii 2014-2016 în care au fost incluși pacienți cu psoriazis vulgar, având vârsta peste 18 ani, aflați fie sub tratament cu anti TNF- α , fie fără un tratament sistemic în antecedente. Pentru pacienții aflați sub tratament local cu corticoizi, acesta s-a întrerupt cu 4 săptămâni înaintea investigațiilor, fiind permise doar cremele emoliente. Datele generale au fost colectate conform Metodologiei generale, cu mențiunea că pentru paciente s-a înregistrat și data ultimei menstruații pentru stabilirea fazei ciclului menstrual.

O serie de criterii de excludere suplimentare au fost adăugate: cicluri menstruale neregulate, tratament cu anticoncepționale, ovare polichistice și hirsutism în cazul pacientelor, tratamente cu preparate care pot influența nivelul hormonilor cum ar fi diazepam, spironolactonă, corticoizi, dopamină, ketoconazol.

Rezultate

În studiu au fost incluse 91 de persoane cu vârsta cuprinsă între 18-77 ani, aparținând unor loturi omogene de subiecți din punct de vedere al vârstei ($p=0.320$) și sexului ($p=0.923$): lotul pacienților cu psoriazis vulgar alcătuit din 49 de subiecți (25 femei și 24 bărbați) și lotul martor constituit din 42 de persoane (21 femei și 21 bărbați). La evaluarea nivelului seric al hormonilor nu au fost găsite diferențe semnificative statistice ale mediei acestora între pacienți și lotul martor. În ceea ce privește rezultatele analizelor situate peste limita superioară a normalului, procentul acestora nu a diferit semnificativ între loturile studiate.

La nivelul lotului de pacienți cu psoriazis s-a observat un debut mai precoce al afecțiunii în cazul femeilor, diferența fiind statistic semnificativă ($p=0.008$). Severitatea bolii, evaluată prin scorul PASI, a fost semnificativ mai mare în rândul pacientelor ($p=0.036$). În lotul de femei, nu am găsit o corelație semnificativă între debutul bolii și apariția menstruației sau vârsta de instalare a menopauzei. O asociere semnificativă am găsit între tipul de psoriazis și prezența antecedentelor heredocolaterale de psoriazis. Tipul I de psoriazis apare cu preponderență la cei care prezintă antecedente familiale de boală, legătura fiind una de intensitate medie ($r=0.416$, $p=0.001$).

În lotul de femei nivelul seric mediu pentru testosteronul liber, a fost semnificativ mai scăzut la pacientele aflate sub tratament anti TNF-alfa, comparativ cu cele netratate ($p=0.019$). În lotul pacienților de sex masculin, un nivel seric mediu semnificativ mai crescut al estradiolului a fost întâlnit la subiecții tratați, comparativ cu cei netratați ($p=0.012$). Un procent semnificativ mai crescut al situației peste valoarea superioară a normalului a fost găsit în cazul estradiolului, la pacienții de sex masculin tratați, comparativ cu bărbații netratați ($p=0.028$).

Concluzii

1. Nu am găsit diferențe semnificative între nivelul hormonilor evaluați la pacienții cu psoriazis vulgar și lotul martor.
2. Un nivel semnificativ mai scăzut al testosteronului liber a fost găsit la pacientele aflate sub tratament cu anti TNF-alfa, comparativ cu pacientele netratate; un nivel semnificativ mai crescut al estradiolului la pacienții aflați sub tratament cu anti TNF-alfa comparativ cu pacienții netratați.
3. La evaluarea severității bolii, scorul PASI a fost mai ridicat în lotul de femei, dar durata tratamentului a fost mai mare în lotul pacienților de sex masculin, acest aspect corelându-se negativ cu severitatea bolii.
4. Nu am găsit o corelație între nivelul hormonilor și severitatea bolii (scorul PASI). Mai mult, valorile hormonale situate peste limita superioară a normalului nu influențează acest scor.

5. Tratamentul anti TNF-alfa influențează creșterea peste valoarea normală a estradiolului în lotul pacienților de sex masculin.
6. În lotul de femei nu am găsit o corelație între debutul bolii și apariția menarhăi/debutul menopauzei.
7. Prezența antecedentelor heredocolaterale de psoriazis e semnificativ mai mare în lotul pacienților, unde tipul I de boală e mai frecvent întâlnit comparativ cu pacienții de sex masculin.

Studiul 2. Tratamentul cu etanercept și funcția tiroidiană la pacienții cu psoriazis vulgar

Acest studiu a avut ca scop evaluarea funcției tiroidiene la pacienții cu psoriazis vulgar cu și fără tratament cu etanercept, pornind de la ipoteza că, o ameliorare a patologiei cutanate a fost observată după utilizarea agenților antitiroidieni sau tiroidectomie. În vederea acestei evaluări, am stabilit mai multe obiective:

1. Determinarea nivelului seric al hormonilor TSH, T3, FT4
2. Determinarea nivelului anticorpilor AntiTPO
3. Evaluarea ultrasonografică a glandei tiroide
4. Determinarea nivelului seric al TNF- α
5. Stabilirea unei corelații între nivelul TNF- α și ceilalți parametri sanguini
6. Stabilirea unei corelații între severitatea bolii (PASI) și parametrii sanguini

Material și metodă

Acest studiu observațional transversal s-a desfășurat în perioada iulie 2014-decembrie 2015 și a inclus pacienți cu vârsta peste 18 ani care se aflau sub tratament cu etanercept sau care nu au mai urmat un tratament sistemic. Severitatea bolii a fost stabilită folosind scorul PASI, evaluarea fiind realizată de aceeași persoană, pentru a exclude orice diferență între determinări. Criterii de excludere suplimentare: pacienți cu disfuncții tiroidiene cunoscute aflați sub tratament specific, medicație concomitentă cu preparate care pot afecta funcția tiroidiană: iod, litiu, antipsihotice, antidepresive, anticonvulsivante, steroizi, dopamină. În vederea evaluării ecografice s-a folosit un aparat Samsung RS80A echipat cu transductori de tip LA3-16-AL Thyroid, cu frecvența de 89 MHz.

Rezultate

În studiu au fost incluși 44 pacienți cu vârste cuprinse între 18-77 ani, vârsta medie fiind de 45.52 ± 16.3 ani. Majoritatea a fost încadrată în intervalul 40-60 ani. 24 de pacienți (55%) nu au urmat niciun tratament sistemic până la momentul evaluării, iar 20 (45%) de pacienți se aflau sub tratament cu etanercept.

Nu am găsit diferențe semnificative în ceea ce privește valorile medii ale TSH și T3 între cele 2 loturi. Un singur pacient a prezentat valori ale TSH peste limita superioară, în asociere cu AcAntiTPO pozitivi, iar un alt doilea pacient a prezentat o scădere izolată a TSH. Nivelul mediu al FT4 a fost semnificativ mai ridicat la pacienții fără tratament ($p=0.02$). Un nivel crescut al AcAntiTPO, situat în afara intervalului normal de referință, a fost găsit la 2 pacienți (2%) din lotul aflat sub tratament biologic și la 3 pacienți (12.5%) din lotul fără tratament. Nivelul mediu al anticorpilor nu a fost semnificativ mai ridicat la lotul fără tratament ($p=0.32$).

Evaluarea ultrasonografică a evidențiat prezența de micronoduli la 12 pacienți (60%) din lotul aflat sub tratament și la 9 pacienți (37.5%) din lotul fără tratament. Diferența nu a fost statistic semnificativă ($p=0.13$). Durata bolii nu influențează prezența modificărilor ecografice, după cum arată analiza statistică a datelor ($p=0.079$).

Nivelul seric mediu al TNF- α s-a situat peste limita superioară a normalului la ambele loturi de pacienți. Nivelul a fost însă mai ridicat la pacienții aflați sub tratament cu etanercept, diferența fiind statistic semnificativă ($p < 0.01$). O corelație negativă semnificativă ($p = 0.015$), de intensitate medie ($r = -0.366$) a fost descoperită între TNF- α și TSH la nivelul întregului lot de studiu, corelația menținându-se doar la pacienții aflați sub etanercept ($p = 0.043$, $r = -0.456$). O corelație negativă semnificativă a fost evidențiată între nivelul TNF- α și scorul PASI ($p = 0.015$, $r = -0.366$).

Concluzii

1. Nivelul mediu al TSH, T3 și AcAntiTPO nu diferă semnificativ între cele două loturi.
2. Nivelul mediu al FT4 a fost semnificativ mai scăzut la pacienții aflați sub tratament cu etanercept.
3. Nivelul TNF- α a fost paradoxal, semnificativ mai crescut la pacienții tratați cu etanercept, un preparat anti TNF- α .
4. Severitatea bolii, evaluată prin scorul PASI, a fost corelată negativ cu nivelul TNF- α .
5. Între nivelul TNF- α și nivelul TSH am găsit o corelație negativă semnificativă, de intensitate medie la nivelul întregului lot de pacienți, care s-a menținut la un nivel și mai puternic doar la nivelul lotului aflat sub tratament.

Studiul 3. Prolactina - indicator al severității psoriazisului vulgar

Studiul a avut ca scop evaluarea relației între nivelul prolactinei și psoriazisul vulgar la pacienți tratați versus pacienți fără tratament, pornind de la ipoteza că la această populație nivelul seric al hormonului este mai crescut, el scăzând după tratamente corespunzătoare afecțiunii cutanate. În vederea acestei evaluări, am stabilit mai multe obiective.

1. Determinarea nivelului seric al prolactinei la pacienții cu psoriazis vulgar și la populația din lotul martor
2. Compararea rezultatelor obținute între cele două loturi
3. Compararea rezultatelor obținute în cadrul lotului cu psoriazis, între cele două categorii de pacienți: cu tratament, respectiv fără tratament
4. Stabilirea unei corelații între nivelul prolactinei și severitatea bolii

Material și metodă

Studiul a fost efectuat pe 45 de pacienți cu psoriazis vulgar (20 dintre aceștia se aflau sub tratament biologic, iar 25 dintre ei nu au urmat niciun tratament sistemic) în perioada 2014-2016. Lotul martor a fost alcătuit din 42 de subiecți, potriviți ca sex și vârstă cu lotul de studiu. Nu au fost diferențe în ceea ce privește perioada fertilă în cazul subiecților de sex feminin. Tratamentele topice cu corticosteroizi au fost întrerupte cu 4 săptămâni înainte de evaluare. Au fost permise doar preparatele emoliente.

Severitatea bolii a fost stabilită folosind scorul PASI, evaluarea fiind realizată de aceeași persoană, pentru a exclude orice diferență între determinări. O formă ușoară a fost considerată sub un scor de 10.1, o formă moderată între 10.1-20.9 și o formă severă peste 20.9. Criterii suplimentare de excludere: subiecți cu afecțiuni endocrine cunoscute aflați sub tratament specific, medicație concomitentă cu preparate care pot afecta nivelul seric al PRL: antipsihotice, antidepressive, blocante ale canalelor de calciu, antihistaminice H2, metildopa, metoclopramid, estrogeni.

Rezultate

Valoarea medie a IMC a fost mai mare la pacienți comparativ cu lotul martor ($p = 0.014$). Această diferență semnificativă s-a menținut și între IMC la pacienții tratați comparativ cu lotul

martor ($p=0.011$). În cadrul lotului de pacienți, cei aflați sub tratament biologic au avut un IMC mediu mai mare decât cei fără tratament, dar statistic ne semnificativ. Majoritatea pacienților evaluați au prezentat un scor PASI cuprins între 10.1-20.9, ceea ce indică o afectare moderată.

Nivelul seric mediu al prolactinei a fost semnificativ mai scăzut în lotul pacienților comparativ cu lotul martor ($p=0.029$). Diferența semnificativă s-a păstrat între pacienții fără tratament și lotul martor ($p=0.016$). Nivelul PRL a fost de asemenea mai crescut la pacienții cu terapie biologică față de cei fără tratament, dar ne semnificativ statistic. Pacienții aflați sub tratament au prezentat un nivel mai scăzut decât subiecții din lotul martor, dar diferența nu a fost semnificativă din punct de vedere statistic. În funcție de sex, nivelul PRL a fost mai scăzut atât la paciente, cât și la pacienți, comparativ cu lotul martor, dar diferența a fost semnificativă statistic doar în cazul femeilor ($p=0.027$). Nivelul seric al PRL a fost mai crescut la persoanele cu forme severe ale bolii, comparativ cu cele moderate sau ușoare, diferența fiind statistic semnificativă ($p=0.034$). Nivelul PRL a fost mai scăzut la subiecții cu un IMC mai mare, dar în rândul pacienților diferența nu a fost semnificativă statistic ($p=0.236$), cum s-a întâmplat în cazul subiecților din lotul martor, unde $p=0.027$. O corelație pozitivă semnificativă ($p=0.007$), de intensitate medie ($r=0.399$), a fost obținută între nivelul PRL și severitatea bolii.

Concluzii

1. Nivelul prolactinei a fost semnificativ mai scăzut la pacienții, comparativ cu lotul martor.
2. Diferența semnificativă s-a păstrat și în rândul subiecților de sex feminin, dar nu și la subiecții de sex masculin,
3. Lotul pacienților netratați a prezentat un nivel al prolactinei serice semnificativ mai scăzut față de cel înregistrat la lotul martor.
4. Nivelul seric al prolactinei a fost semnificativ mai crescut la pacienții cu formele severe de boală (scor PASI crescut).
5. Prolactina a fost singurul factor corelat semnificativ cu severitatea bolii (scorul PASI).
6. Relația între nivelul prolactinei și indicele de masă corporală nu a fost subiectul central al studiului, deși prevalența obezității în populația cu psoriazis este un fapt dovedit. Rezultatele obținute sugerează o asociere inversă între acești parametri.

Studiul 4. Evaluarea imunohistochimică a prezenței TNF alfa și a receptorilor pentru prolactină și VEGF la pacienții cu psoriazis vulgar

Pornind de la ipoteza că la nivel tegumentar se sintetizează TNF-alfa, PRL și VEGF, iar receptorii acestor produși se regăsesc de asemenea în straturile pielii, scopul studiului de față a fost acela de a cerceta prezența lor la pacienții cu psoriazis vulgar. Astfel, am stabilit mai multe obiective:

1. Evaluarea distribuției moleculei de TNF-alfa prin metode imunohistochimice la pacienții cu psoriazis vulgar, fără tratament concomitent, în placa de psoriazis și tegumentul perilezional.
2. Evaluarea distribuției receptorilor pentru PRL și VEGF prin metode imunohistochimice la pacienții cu psoriazis vulgar, fără tratament concomitent, în placa de psoriazis și tegumentul perilezional.
3. Stabilirea unei corelații între nivelul cutanat al TNF-alfa și nivelul receptorilor pentru VEGF și PRL
4. Stabilirea unei corelații între prezența acestor produși la nivel cutanat și vârsta pacienților, durata bolii și severitatea bolii evaluată prin scorul PASI (Psoriasis Area and Severity Index).

Material și metodă

În studiu au fost incluși 19 pacienți cu psoriazis vulgar, cu vârsta peste 18 ani. Criterii suplimentare de excludere: pacienți cu tratamente sistemice sau topice administrate în ultimele 3 luni, pacienți cu alergii la anestezice locale.

De la fiecare pacient au fost prelevate 2 biopsii de tip punch: de la nivelul plăcii de psoriazis și din tegumentul perilezional. Acestea au fost prelucrate în vederea determinărilor histopatologice și imunohistochimice. Pentru examinarea imunohistochimică, 3 secțiuni/biopsie din blocurile de parafină, au fost incubate și preparate pentru fiecare dintre moleculele investigate: TNF-alfa, receptor de PRL receptor de VEGF.

Pentru fiecare preparat microscopic au fost examinate 5 câmpuri microscopice și s-a realizat o înregistrare semicantitativă atât a numărului de celule imunomarcate cât și a intensității imunomarcării. Pentru fiecare pacient a fost calculat ulterior un scor maxim, un scor mediu și un scor minim pentru imunomarcare.

Rezultate

La examinarea histopatologică a biopsiilor recoltate s-au observat diferențe evidente între tegumentul perilesional și tegumentul psoriazic, caracterizat prin hiperkeratoză marcată, acantoză, infiltrat inflamator abundent. Numărul celulelor pozitive pentru TNF-alfa a fost mai mare la nivelul plăcii de psoriazis. Expresia TNF-alfa în placa de psoriazis a fost crescută la nivelul dermului superficial, în special perivascular, dar și la nivelul keratinocitelor epidermale. La nivelul epidermului, în tegumentul perilezional imunomarcarea a fost mai evidentă la nivelul stratului keratinocitelor bazale. În tegumentul afectat, toate straturile au fost marcate, dar expresia moleculei a fost mai puternică în straturile bazale cu tendință la descreștere în straturile superioare. Celule marcate pozitiv pentru receptorii VEGF și PRL au fost identificate în 2 cazuri, la nivelul celulelor keratinocitelor stratului bazal pentru VEGF-R2 și la nivelul glandelor sudoripare sau tecii externe a firului de păr pentru PRLR, fără existența unor diferențe semnificative între cele 2 tipuri de tegument.

Prelucrarea statistică a scorurilor calculate a fost posibilă doar pentru TNF-alfa, numărul probelor marcate pozitiv pentru VEGF-R2 și PRLR fiind insuficient.

Astfel, analiza statistică a datelor a relevat existența unei diferențe semnificative între intensitatea imunomarcării celor 2 tipuri de țesuturi ($p < 0.05$). La testarea corelației cu scorul PASI a diferențelor dintre valorile maxime, medii și minime ale celor 2 tipuri de tegument, un rezultat statistic semnificativ a fost obținut în cazul pacienților cu forme moderate de boală, cu un scor PASI < 15 și a celor cu psoriazis tip 2 (debut peste vârsta de 40 ani) ($p < 0.05$).

Concluzii

1. O imunomarcare mai intensă și mai larg distribuită a fost evidențiată la nivelul plăcii de psoriazis comparativ cu tegumentul perilezional, fiind în concordanță cu modificările histopatologice.
2. Diferența scorurilor maxime, medii și minime ale imunomarcării între cele 2 tipuri de țesut se corelează cu severitatea bolii pentru pacienții cu PASI < 15 și pentru pacienții cu debut al bolii peste vârsta de 40 de ani, studii mai ample fiind necesare pentru evaluarea altor factori care intervin în constituirea leziunilor.
3. Diferența scorurilor maxime, medii și minime ale imunomarcării între cele 2 tipuri de țesut nu se corelează nici cu vârsta pacienților și nici cu durata bolii.
4. Contrar așteptărilor, nu s-a putut stabili un patern al imunomarcării pentru cei doi receptori investigați, VEGF-R2 și PRLR. Totuși, rolul lor în patogeneza psoriazisului trebuie avut în vedere, studii pe un număr mai mare de pacienți fiind necesar în acest scop.

PhD THESIS SUMMARY

The hormonal factor in the pathogenesis of psoriasis vulgaris

PhD Candidate: **Iulia-Ioana Roman**

PhD Supervisor: **Prof. Dr. Remus-Ioan Orăsan**



SUMMARY

INTRODUCTION.....	1
CURRENT STATE OF KNOWLEDGE	3
1. PSORIASIS VULGARIS.....	5
1.1. DEFINITION.....	5
1.2. EPIDEMIOLOGY.....	5
1.3. ETHIOPATOGENY.....	5
1.3.1. TRIGGER FACTORS.....	5
1.3.2. GENETIC FACTORS.....	6
1.3.3. THE ROLE OF KERATINOCYTES.....	6
1.3.4. VASCULAR CHANGES.....	7
1.3.5. THE ROLE OF INFLAMMATORY CELLS AND CYTOKINES.....	7
1.4. DISEASES ASSOCIATED WITH PSORIAS ISVULGARIS.....	8
1.5 CLINICAL ASPECTS.....	8
1.6 THERAPEUTIC OPTIONS.....	10
2. THE SKIN: TARGET ORGAN AND SOURCE OF HORMONES.....	13
2. 1. STRUCTURE AND FUNCTIONS OF THE SKIN.....	13
2. 2. THE NEUROENDOCRINE SYSTEM OF THE SKIN.....	14
2. 3. HORMONES SYNTHESIZED AT THE SKIN LEVEL AND THEIR HORMONES.....	15
3. THE ROLE OF HORMONES IN PSORIASIS.....	19
3.1. THE SEXUAL HORMONES AND PSORIASIS.....	19
3.1.1. PREGNANCY.....	20
3.1.2. MENOPAUSE.....	21
3.1.3. ANDROGENS.....	21
3.2. STRESS HORMONES.....	21
3.3. PROLACTINE.....	23
3.4. THYROID HORMONES.....	24
3.5. LEPTIN, GHRELIN, INSULIN AND OBESITY.....	24
PERSONAL CONTRIBUTION.....	27
1. OBJECTIVES.....	29
2. GENERAL METHODOLOGY.....	31
2.1. ETHICAL CONSIDERATION.....	31
2.2. GENERAL CRITERIA OF INCLUSION AND EXCLUSION.....	31
2.3. CLINICAL EVALUATION.....	31
2.4. LABORATORY EVALUATION.....	32
2.5. STATISTIC ANALYSIS.....	32
3. STUDY 1. DETERMINATION OF THE SEXUAL HORMONE LEVEL IN PATIENTS WITH PSORIASIS VULGARIS	
3.1. INTRODUCTION.....	33
3.2. HYPOTHESIS.....	33
3.3. MATERIAL AND METHOD.....	34
3.4. RESULTS.....	35
3.5. DISCUSSIONS.....	44

3.6. CONCLUSIONS.....	46
4. STUDY 2. ETANERCEPT TREATMENT AND THYROID FUNCTION IN PATIENTS WITH PSORIASIS VULGARIS	
4.1. INTRODUCTION.....	49
4.2. HYPOTHESIS.....	49
4.3. MATERIAL AND METHOD.....	49
4.4. RESULTS.....	51
4.5. DISCUSSIONS.....	61
4.6. CONCLUSIONS.....	64
5. STUDY 3. PROLACTIN - INDICATOR OF PSORIASIS VULGARIS SEVERITY	
5.1. INTRODUCTION.....	67
5.2. HYPOTHESIS.....	67
5.3. MATERIAL AND METHOD.....	67
5.4. RESULTS.....	68
5.5. DISCUSSIONS.....	78
5.6. CONCLUSIONS.....	80
6. STUDIUL 4. IMMUNOHISTOCHEMICAL EVALUATION OF TNF-ALFA, PROLACTIN RECEPTORS AND VEGF RECEPTORS IN PATIENTS WITH PSORIASIS VULGARIS	
6.1. INTRODUCTION.....	81
6.2. HYPOTHESIS.....	81
6.3. MATERIAL AND METHOD.....	81
6.4. RESULTS.....	83
6.5. DISCUSSIONS.....	89
6.6. CONCLUSIONS.....	90
7. GENERAL CONCLUSIONS.....	93
8. ORIGINALITY AND INOVATIVE CONTRIBUTIONS OF THE THESIS.....	95
REFERENCES.....	97
ANEX 1	109

Key words: psoriasis vulgaris, pathogenesis, hormones, anti TNF-alfa therapy, immunohistochemistry

Introduction

Describing the pathogenesis of a disease is an ongoing work, taking into account the dynamic nature of scientific research. New and new hypotheses occur in an attempt to accurately determine the cause and provide solutions to solve the problem.

The etiopathogenesis of psoriasis vulgaris has not been fully elucidated. However, the research carried out over the last few years has brought to light the multifactorial character of this condition. Numerous internal and external factors, acting on genetically predisposed field, lead to the emergence of immune-mediated processes, which resonate at the skin and / or articular level.

An important element in triggering the disease is stress, which is confirmed by the occurrence of disturbances in the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, but also by the change in stress hormone levels in patients with psoriasis. Not only these hormones are responsible for activating the disease. An increased incidence of affection is found in periods with significant hormonal changes such as puberty, pregnancy or menopause. Moreover, at the skin level, there are a number of sexual hormone receptors, and not only, through which they exert their

immunomodulatory properties. The triggering of psoriasis has also been associated with other endocrine disorders, the treatment of which has led to the remission of cutaneous pathology.

Drug treatment in psoriasis is a long-term treatment designed to control the disease without providing complete healing. For moderate or severe forms that do not respond to conventional treatments, the only therapeutic option remains biological treatment, a costly variant whose long-term adverse effects are not yet fully known.

Taking these things into account, we wanted to make an assessment of patients with psoriasis vulgaris, including sex hormones (estradiol, progesterone, free testosterone), prolactin and an evaluation of thyroid function in this population. At the same time, we wanted to see to what extent the biological treatment with anti-TNF-alpha influences the level of these hormones or thyroid function. In this paper we also performed an immunohistochemical analysis of the biopsy samples in order to highlight some molecules from the damaged skin as compared to the perilesional skin.

Personal contribution

This research consists of four parts:

1. Evaluation study of sex hormone levels in patients with vulgar psoriasis
2. Evaluation study of thyroid function in patients with vulgar psoriasis
3. Evaluation of the relationship between disease severity and serum levels of prolactin
4. Immunohistochemical evaluation of TNF-alpha, prolactin receptors and VEGF receptors in patients with vulgar psoriasis

General study methodology

The study protocol was approved by the Ethics Committee of the University of Medicine and Pharmacy Iuliu-Hațieganu Cluj Napoca, Romania (300 / 28.07.2014). All participants agreed and signed their informed consent for inclusion in the study, performed in the Dermatology Clinic of the Emergency County Hospital Cluj-Napoca.

Only patients aged over 18 years with plaque psoriasis vulgaris, who were either on etanercept treatment or no previous systemic treatments were included in the studies. Patients with other forms of psoriasis or patients being treated with another biological treatment were not included in the study. Among the general exclusion criteria were other skin conditions, the presence of neoplasia, severe liver or kidney disease, HIV/AIDS infection, the presence of hormonal or antidepressant treatments, pregnant or lactating women.

Clinical evaluation included age, gender, age at onset of disease, duration of the disease, presence of psoriasis family history, fertile period for women, BMI determination, duration of treatment (if applicable), PASI score.

Biochemical samples were collected in fasting conditions and processed in collaboration with the Bioclinica Laboratory. Dosage of TSH hormones (thyreostimulant hormone) FT4, PRL, estradiol, progesterone was performed by the chemiluminescent technique; Free testosterone was determined by immunoenzymatic methods (EIA); For the AcAntiTPO and TNF- α levels, chemiluminescence was used; T3 dosing was performed by electrochemiluminescence (ECLIA).

Histopathological and immunohistochemical determinations were carried out in collaboration with the Department of Pathological Anatomy of UMF Cluj-Napoca and USAMV Cluj-Napoca.

Study 1. Determination of sex hormone levels in patients with vulgar psoriasis

The aim of the study was to evaluate the level of sex hormones (estradiol, progesterone and free testosterone) in patients with psoriasis vulgaris. We have established several objectives:

1. Determination of the serum level of estradiol, progesterone and free testosterone in patients with psoriasis vulgaris and comparison of the results with the values obtained in the control group

2. Comparison of serum levels of hormones between patients undergoing biological treatment and those without a previous treatment
3. Assessing the severity of the disease by calculating the Psoriasis Area Severity Index (PASI)
4. Determining the percentage in which hormonal values above the upper limit of normal affect the severity of the disease
5. Determining the factors that contribute to the increase over the normal value of hormones
6. Establishing a correlation between the onset of the disease and the occurrence of menarche/ menopause in women
7. Establishing a correlation between the type of psoriasis and the presence of family history

Material and method

This transversal observational study was conducted between 2014-2016, involving patients with psoriasis vulgaris, age over 18, who were either on anti-TNF- α treatment or without a history of systemic treatment. For patients undergoing topical corticosteroid treatment, it was discontinued 4 weeks before investigations, with only emollient creams being allowed. The general data were collected according to the General Methodology. For the female patients the phase of the menstrual cycle was registered.

A number of additional exclusion criteria have been added: irregular menstrual cycles, contraceptive treatment, polycystic ovaries and hirsutism in female patients, treatments with preparations such as diazepam, spironolactone, corticoids, dopamine, ketoconazole.

Results

The study included 91 subjects aged 18-77, belonging to homogeneous groups of subjects in terms of age ($p = 0.320$) and sex ($p = 0.923$): 49 subjects with psoriasis vulgaris (25 women and 24 males) and 42 controls (21 women and 21 men). No statistically significant difference was found in the mean levels of hormones between the patients and the control group. The percentage of values above the upper limit of normal did not differ significantly between the studied groups.

In patients with psoriasis, an earlier onset of disease was observed in women, the difference being statistically significant ($p = 0.008$). The severity of the disease, assessed by the PASI score, was significantly higher among female patients ($p = 0.036$). In the group of women, we did not find a significant correlation between the onset of the disease and the occurrence of menstruation or the age of menopause. A significant association was found between the type of psoriasis and the presence of a family history of psoriasis. Type I psoriasis occurs predominantly in those with a family history of disease, the relationship being of medium intensity ($r = 0.416$, $p = 0.001$).

In women, the mean serum free testosterone level was significantly lower in anti-TNF- α treated patients compared to untreated patients ($p = 0.019$). In the male patient group, a significantly higher mean serum level of estradiol was seen in the treated subjects compared to the untreated subjects ($p = 0.012$). A significantly higher percentage of values higher than normal was found for estradiol in treated male patients compared to untreated men ($p = 0.028$).

Conclusions

1. We found no significant differences between the level of hormones in patients with psoriasis vulgaris and the control group.
2. We found a significantly lower level of free testosterone in anti-TNF- α treated female patients compared to untreated patients; a significantly higher level of estradiol was found in male patients treated with anti-TNF- α compared to untreated male patients.
3. The PASI score was higher in women, but the duration of treatment was higher in male patients population, this being negatively correlated with the severity of the disease.

4. We found no correlation between hormone level and disease severity (PASI score). Moreover, hormonal values above the upper limit of normal do not affect this score.
5. Anti-TNF-alpha treatment affects the increase of estradiol above normal in male patients.
6. In the group of women, we found no correlation between the onset of the disease and the occurrence of the menarche/onset of menopause.
7. The presence of family history of psoriasis is significantly higher in the group of female patients, where type I psoriasis is more common compared to male patients.

Study 2. Etanercept treatment and thyroid function in patients with psoriasis vulgaris

The aim of the study was to assess the thyroid function in patients with psoriasis vulgaris with and without etanercept treatment. We have established several objectives:

1. Determination of serum levels of hormones TSH, T3, FT4
2. Determination of AntiTPO antibody level
3. Ultrasound evaluation of the thyroid gland
4. Determination of serum TNF- α level
5. Establishing a correlation between TNF- α level and other blood parameters
6. Establishing a correlation between disease severity (PASI) and blood parameters

Material and method

This transversal observational study was conducted between July 2014 and December 2015, and included patients over the age of 18 years who were receiving etanercept or with no previous systemic treatment. The severity of the disease was determined using the PASI score, the evaluation being performed by the same person, in order to exclude any differences between determinations. Additional exclusion criteria: Patients with known thyroid dysfunction under specific treatment, undergoing concomitant medication with preparations that may affect thyroid function: iodine, lithium, antipsychotics, antidepressants, anticonvulsants, steroids, dopamine. For the ultrasonographic evaluation, a Samsung RS80A device equipped with LA3-16-AL Thyroid type transducers with a frequency of 89 MHz was used.

Results

In the study were included 44 patients, aged 18-77 years, with an average age of 45.52 ± 16.3 years. Most were in the 5th and 6th decades. Twenty-four patients (55%) did not receive any systemic treatment until the trial and 20 (45%) patients were treated with etanercept.

We found no significant differences in the mean values of TSH and T3 between the two groups. One patient showed TSH above the upper limit in combination with positive AntiTPOAb, and another patient experienced an isolated decrease in TSH. The mean FT4 level was significantly higher in untreated patients ($p=0.02$). A high level of AntiTPOAb, outside the normal reference range was found in 2 patients (2%) of the group under biological treatment and 3 patients (12.5%) of the untreated group. The mean antibody level was not significantly higher in the untreated group ($p=0.32$).

The ultrasonographic evaluation revealed the presence of micronodules in 12 patients (60%) of the treated group and 9 patients (37.5%) of the untreated group. The difference was not statistically significant ($p=0.13$). The duration of the disease does not influence the presence of the echographic changes ($p = 0.079$).

The mean serum level of TNF- α was above the upper limit of normal in both patients' groups. However, the level was higher in patients undergoing etanercept, the difference being statistically significant ($p < 0.01$). A significant negative correlation ($p=0.015$) of mean intensity ($r=-0.366$) was found between TNF- α and TSH in overall group, the correlation being maintained only in patients under etanercept ($p = 0.043$, $r = -0.456$). A significant negative correlation was noted between the TNF- α level and the PASI score ($p=0.015$, $r=-0.366$).

Conclusions

1. The mean level of TSH, T3 and AntiTPOAb does not differ significantly between the two groups.
2. The mean level of FT4 was significantly lower in patients treated with etanercept.
3. The TNF- α level was paradoxical, significantly higher in patients treated with etanercept
4. The severity of the disease, was negatively correlated with the TNF- α level.
5. Between the TNF- α level and the TSH level, we found a significant negative correlation of mean intensity in the overall group, which was maintained at an even stronger level only in the treated group.

Study 3. Prolactin - an indicator of the severity of psoriasis vulgaris

The study aimed to evaluate the relationship between prolactin and psoriasis vulgaris in treated patients versus untreated patients. We have established several objectives:

1. Determination of serum level of prolactin in patients with psoriasis vulgaris and in controls
2. Comparison between mean level of PRL in the two groups
3. Comparison between mean level of PRL in the two categories of patients: with treatment, respectively without treatment
4. Establishing a correlation between the level of prolactin and the severity of the disease

Material and method

The study was performed in 45 patients with vulgar psoriasis (20 patients under biological treatment and 25 of them with no previous systemic treatment) during 2014-2016. The control group consisted of 42 subjects, matched by gender and age with the study group. There were no differences regarding fertile period for female subjects. Topical corticosteroid treatments were discontinued 4 weeks before evaluation. Only emollient preparations were allowed.

The severity of the disease was determined using the PASI score. The assessment was performed by the same person, in order to exclude any difference between determinations. A mild form was considered under a 10.1 score, a moderate form between 10.1-20.9 and a severe form over 20.9. Additional exclusion criteria: Subjects with known endocrine disorders undergoing specific treatment, concomitant medication with preparations that may affect serum levels of PRL: antipsychotics, antidepressants, calcium channel blockers, H₂ antihistamines, methyldopa, metoclopramide, estrogens.

Results

The mean BMI was higher in patients compared to the control group ($p=0.014$). This significant difference was also maintained between BMI in the treated patients compared to the control group ($p=0.011$). Patients, undergoing biological treatment had a higher BMI than those without treatment, but statistically insignificant. Most patients evaluated had a PASI score of 10.1-20.9, indicating moderate impairment.

The mean serum level of prolactin was significantly lower in the patient group compared to the control group ($p=0.029$). The significant difference was maintained between untreated patients and the control group ($p=0.016$). PRL was also higher in patients with biological therapy, compared to those without treatment, but not statistically significant. Treated patients showed a lower level than subjects in the control group, but the difference was not statistically significant. By gender, PRL was lower in both female patients and male patients compared to the control group, but the difference was statistically significant only for women ($p=0.027$). The serum PRL was higher in people with severe disease than moderate or mild forms, with a statistically significant difference ($p=0.034$). PRL was lower in subjects with a higher BMI, but among patients the difference was not statistically significant ($p=0.236$), as for the control group, where $p=0.027$. A significant positive correlation ($p=0.007$), of average intensity ($r=0.399$), was obtained between the PRL level and the severity of the disease.

Conclusions

1. The prolactin level was significantly lower in patients compared to controls.
2. The significant difference was also observed among female subjects but not in male subjects,
3. The group of untreated patients showed a significantly lower level of serum prolactin compared to controls.
4. Serum prolactin levels were significantly higher in patients with severe forms of disease (elevated PASI score).
5. Prolactin was the only factor significantly correlated with the severity of the disease.
6. The relationship between the prolactin level and the body mass index was not the central subject of the study, although the prevalence of obesity in the psoriatic population is a proven fact. The results obtained suggest an inverse association between these parameters.

Study 4. Immunohistochemical evaluation of the presence of TNF alpha and prolactin receptors and VEGF in patients with vulgar psoriasis

The aim of the present study was to investigate the presence of TNF-alfa, PRL receptors and VEGF receptors in patients with psoriasis vulgaris. We have established several objectives:

1. Evaluation of the distribution of the TNF-alpha molecule by immunohistochemical methods in patients with psoriasis vulgaris without concomitant treatment in the plaque psoriasis and perilesional skin.
2. Evaluation of receptor distribution for PRL and VEGF by immunohistochemical methods in patients with psoriasis vulgaris in psoriasis plaque and perilesional skin.
3. Establishing a correlation between TNF-alpha cutaneous level and level of VEGF and PRL receptors.
4. Establishing a correlation between the presence of these products at the skin level and the age of the patients, the duration of the disease and the severity of the disease.

Material and method

In the study were included 19 patients with psoriasis vulgaris, age over 18. Additional exclusion criteria: Patients with systemic or topical treatments administered over the last 3 months, patients with allergy in local anesthetic.

Two punch biopsies were taken from each patient: from the psoriasis plaque and the perilesional skin. They were processed for histopathological and immunohistochemical determinations. For immunohistochemical examination, 3 sections/biopsy from each paraffin block were incubated and prepared for each of the investigated molecules: TNF-alpha, VEGF receptor, PRL receptor.

For each microscopic preparation, 5 microscopic fields were examined and a semi-quantitative recording of the number of immunomarcated cell and the intensity of the immunostaining was performed. For each patient, a maximum score, an average score and a minimum score for immunomarcation were subsequently calculated.

Results

The histopathological examination of the biopsies revealed significant differences between the perilesional skin and the psoriatic skin, characterized by marked hyperkeratosis, acanthosis, increased inflammatory infiltration. The number of positive cells for TNF-alpha was higher in the psoriasis plaque. The expression of TNF-alpha in the lesion was increased in the superficial dermis, especially perivascular, but also in the epidermal keratinocytes. In the epidermis of the perilesional skin the immunostaining was more evident in the layer of basal keratinocytes. In the affected skin, all the layers were marked, but the expression of the molecule was stronger in the basal layers with a tendency to decrease in the upper layers. Positive marked cells for VEGF and PRL receptors were identified in 2 cases in the keratinocyte cell of the basal

layer for VEGF-R2 and in the sweat glands or external hair strain for PRLR, without significant differences between the two types of tegument.

The statistical analysis of the calculated scores was possible only for TNF-alpha, the number of positive samples for VEGF-R2 and PRLR being insufficient.

Thus, the statistical analysis of the data revealed a significant difference between the intensity of immunostaining of the two types of tissues ($p < 0.05$). When testing the correlation with the PASI score of the differences between the maximum, the average and the minimum values of the two types of skin, a statistically significant result was obtained in patients with moderate disease, with a PASI < 15 score and in those with type 2 psoriasis (onset over 40 years of age) ($p < 0.05$).

Conclusions

1. A more intense and wider distribution of immunostaining was found in psoriasis plaque compared to perilesional skin, consistent with histopathological changes.
2. The difference in the maximum, the average and the minimum scores of immunostaining between the two types of tissue correlates with the severity of the disease for patients with PASI < 15 and for patients with onset of the disease over the age of 40, with larger studies being needed to evaluate other factors that interfere with the formation of lesions.
3. The difference in the maximum, the average and the minimum scores of immunostaining between the two types of tissue does not correlate with either the age of the patients or the duration of the disease.
4. Contrary to our expectations, it was not possible to establish an immunostaining pattern for the two investigated receptors, VEGF-R2 and PRLR. However, their role in the pathogenesis of psoriasis should be considered, studies on a larger number of patients being necessary for this purpose.