

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ  
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ  
КАТЕДРА ПО ДЕРМАТОЛОГИЯ И ВЕНЕРОЛОГИЯ

---

Д-Р ИННА РУМЕНОВА ПОПОВА – СТАТЕВА

**РОЛЯ НА ХОМОЦИСТЕИНА В КОМОРБИЛИТЕТА НА  
ПСОРИАЗИС**

ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД ЗА ПРИСЪЖДАНЕ НА  
ОБРАЗОВАТЕЛНА И НАУЧНА СТЕПЕН „ДОКТОР”

НАУЧЕН РЪКОВОДИТЕЛ: ПРОФ. ЛЮБКА МИТЕВА, Д.М.  
НАУЧЕН КОНСУЛТАНТ: ДОЦ. ВАЛЕНТИН ЛОЗАНОВ, Д.М.

НАУЧНА СПЕЦИАЛНОСТ:  
ДЕРМАТОЛОГИЯ И ВЕНЕРОЛОГИЯ

СОФИЯ, 2022 г.

# СЪДЪРЖАНИЕ:

<b>ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ .....</b>	<b>4</b>
<b>1. ВЪВЕДЕНИЕ .....</b>	<b>5</b>
<b>2. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР.....</b>	<b>6</b>
2.1. ПСОРИАЗИС.....	6
2.1.1. ЕПИДЕМИОЛОГИЯ .....	6
2.1.2. ПАТОГЕНЕЗА .....	7
2.1.3. КЛИНИЧНА КАРТИНА .....	10
2.1.4. КЛИНИЧНИ ФОРМИ.....	11
2.1.5. СКАЛИ ЗА ОЦЕНКА ТЕЖЕСТТА НА ПСОРИАЗИС.....	17
2.1.6. ДИАГНОЗА .....	22
2.1.7. ТЕРАПИЯ .....	24
2.2. ПСОРИАЗИС И ХРАНИТЕЛЕН РЕЖИМ.....	29
2.3. ПСОРИАЗИС И КОМОРБИЛИТЕТ .....	31
2.4. ХОМОЦИСТЕИН .....	32
2.4.1. РЕГУЛАЦИЯ НА МЕТАБОЛИЗМА НА ХОМОЦИСТЕИН: .....	35
2.5. МЕТИОНИН .....	39
2.6. SAM.....	41
2.7. ПОЛИАМИНИ .....	42
2.8. ЕФЕКТ НА ВИТАМИНИТЕ ОТ ГРУПА В.....	45
<b>3. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ.....</b>	<b>46</b>
<b>4. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ.....</b>	<b>47</b>
4.1. МАТЕРИАЛ .....	47
4.1.1. НАБИРАНЕ НА ПАЦИЕНТИ .....	47
4.1.2. ВЗЕМАНЕ НА БИОПСИЧЕН МАТЕРИАЛ .....	48
4.1.3. ВЗЕМАНЕ НА КРЪВНИ ПРОБИ .....	48
4.1.4. ВЗЕМАНЕ НА ПРОБА ОТ СЛЮНКА .....	48
4.2. МЕТОДИ .....	49
4.2.1. ПРОБИ ОТ СЕРУМ И СЛЮНКА .....	49
4.2.2. КОЖНИ ПРОБИ .....	49
4.2.3. ДЕРИВАТИЗАЦИОННА ПРОЦЕДУРА .....	49
4.2.4. LC-MS/MS АНАЛИЗ .....	49
4.2.5. СТАТИСТИЧЕСКИ АНАЛИЗ .....	50
4.3. ЕТИЧНИ НОРМИ .....	51
<b>5. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЯ .....</b>	<b>52</b>
5.1. ИЗСЛЕДВАНЕ НА HCY, MET, PUT, SPD И SPM В СЕРУМ.....	54
5.2. ИЗСЛЕДВАНЕ НА HCY, MET, PUT, SPD И SPM В СЛЮНКА .....	55

5.3.	ИЗСЛЕДВАНЕ НА Hcy, Met, Put, Spd и Spm в лезия и нелезионална кожа	56
5.4.	КОРЕЛАЦИИ МЕЖДУ НИВАТА НА ИЗСЛЕДВАНИТЕ МЕТАБОЛИТИ .....	58
5.5.	КОРЕЛАЦИИ МЕЖДУ ОТДЕЛНИТЕ ПРОБИ НА ЕДИН И СЪЩИ МЕТАБОЛИТ .....	69
<b>6.</b>	<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....</b>	<b>79</b>
<b>7.</b>	<b>ПРИНОСИ.....</b>	<b>80</b>
<b>8.</b>	<b>БИБЛИОГРАФИЯ.....</b>	<b>80</b>

## ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

ПС.....	псориазис
АМПи.....	антимикробни пептиди
ПДК.....	плазмоцитни дендритни клетки
IFN.....	интерферони
МДК.....	миелоидни дендритни клетки
IL.....	интерлевкин
TNF.....	тумор некрозис фактор
ПА.....	псориатичен артрит
NF.....	нуклеарен фактор
КС.....	кортикостероиди
Met.....	метионин
Hcy.....	хомоцистеин
Spm.....	спермин
Spd.....	спермидин
Put.....	путресцин
РА.....	полиамини
GSH.....	глутатион
ДНК.....	дезоксирибонуклеинова киселина
РНК.....	рибонуклеинова киселина
SAM.....	S-аденозилметионин
SAM-DC.....	S-аденозилметионинамин
SAH.....	S-аденозилхомоцистеин
CRP.....	C-реактивен протеин
Ig.....	имуноглобулин
CBS.....	цистатион β-синтазата

# 1. ВЪВЕДЕНИЕ

Псориазисът – от гръцки “psora” – сърбеж, е заболяване на кожата известно още от древността. Прогнозата му зависи в значителна степен от клиничната форма, локализацията и тежестта на протичане. Най-често заболяването се представя от еритемо-сквамозни плаки с ламелозно залющване, разположени по лакти, колене и капилицуум. Може да се появи във всяка възраст, при двата пола и във всички географски региони, с известна предилекция в районите с по-ограничено слънцегреене. Психоемоционалният статус на пациента има важно отношение към индукцията и тригерирането на псориазиса. Социалната среда, начинът на живот, включително диетичният режим и склонността към обезитет, също корелират значително с тежестта на протичане и прогнозата на заболяването

Първите изследвания за коморбидни заболявания сред пациентите с псориазис са направени през 1897год., когато Н. Strauss описва асоциация между псориазис и диабет. През 1961год Reed и съавтори описват висок процент на сърдечни заболявания, като тромбози и миокарден инфаркт, при дисекции на псориазици с псориазичен артрит. Впоследствие, през 1978год. McDonald и съавтори наблюдават повишена честота на венозни и артериални съдови заболявания при хоспитализирани пациенти с псориазис. Сега, много години по-късно, бързо напредващите епидемиологични данни, показват, че псориазисът, особено тежко протичащите форми, са свързани с повишена смъртност и съпътстващи заболявания, като се предполага, че една от причините е хроничното възпаление [1].

При биохимични изследвания се установяват отклонения в нивата на хомоцистеин при пациенти с псориазис. Повишените нива на хомоцистеина увеличават риска за развитие на атеросклероза и сърдечни – съдови

заболявания. Обръща се внимание на повишени нива на метионина, прекурсор на хомоцистеина. Повишените стойности на полиамините – спермин, спермидин, путресцин от своя страна могат да дадат една различна гледна точка в лечението на псориазис.

## **2. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР**

### **2.1. Псориазис**

#### **2.1.1. Епидемиология**

Разпространението на псориазиса варира между 0.6% и 4.8% от популацията на земята. За България, по данни на Н. Ботев са засегнати 1.8% от населението. Разпространението му е еднакво при мъжете и жените, с лек превес на мъжкия пол. Може да се появи във всяка възраст, средна възраст около 30г. Наблюдават се два възрастови пика – преди 40 годишна възраст, засягащ около 75% от болните, предимно при фамилно обременени лица, често се съпътства с по-тежък ход на болестта. Късният псориазис се появява след 40-годишна възраст и може да има по-лек клиничен курс [2].

Пс е комплексно мултифакторно заболяване, при което е доказана генетична предиспозиция, както и множество фактори на средата, способни да отключат или влошат заболяването.

Пс е полигенно заболяване. Първите проучвания, които се опитват да изяснят генетичните основи на Пс се основават на анализа на връзката. Тези анализи са изключително подходящи за моногенните заболявания, но тези методи не са подходящи за анализ на мултифакторни условия. Установено е, че различните гени се намират в 9 генни локуса (Psoriasis-susceptibility locus (PSORS) 1-9). От тях само PSORS1 е надеждно валидиран във всички кохорти. PSORS1 е локализиран в хромозома 6p21 [3]. Намира се между гените HLA B и HCG22. Генетично проучване доказва, че HLA Cw6 е най-вероятният рисков алел при псориазис с ранно начало [4].

В последните години проучвания доказваха и потенциалната връзка на Пс с дефектни хаплотипове на гена IL12B, кодиращ субединицата IL12p40, която е обща за IL12 и IL23, както и с дефектни хаплотипове на IL23R. Според проучването при индивиди, хомозиготни на двата алела, вероятността за развитие на псориазис е значително по-голяма. Тези данни, както и фактът, че биологични средства, насочени срещу IL12 и IL23, имат значителен ефект при псориазис, доказват голямото значение на тези гени за развитието на псориазис [4].

Проучванията при близнаци доказват връзката на Пс с ранно начало с гените на HLA Cw6 и DR7 и въпреки това при едноячните близнаци конкордантността е едва 67%. Това доказва, че освен генетична предиспозиция, за появата на заболяването играят роля и предразполагащи фактори, най-честите от които са травми, инфекции, стрес, лекарства и други [4].

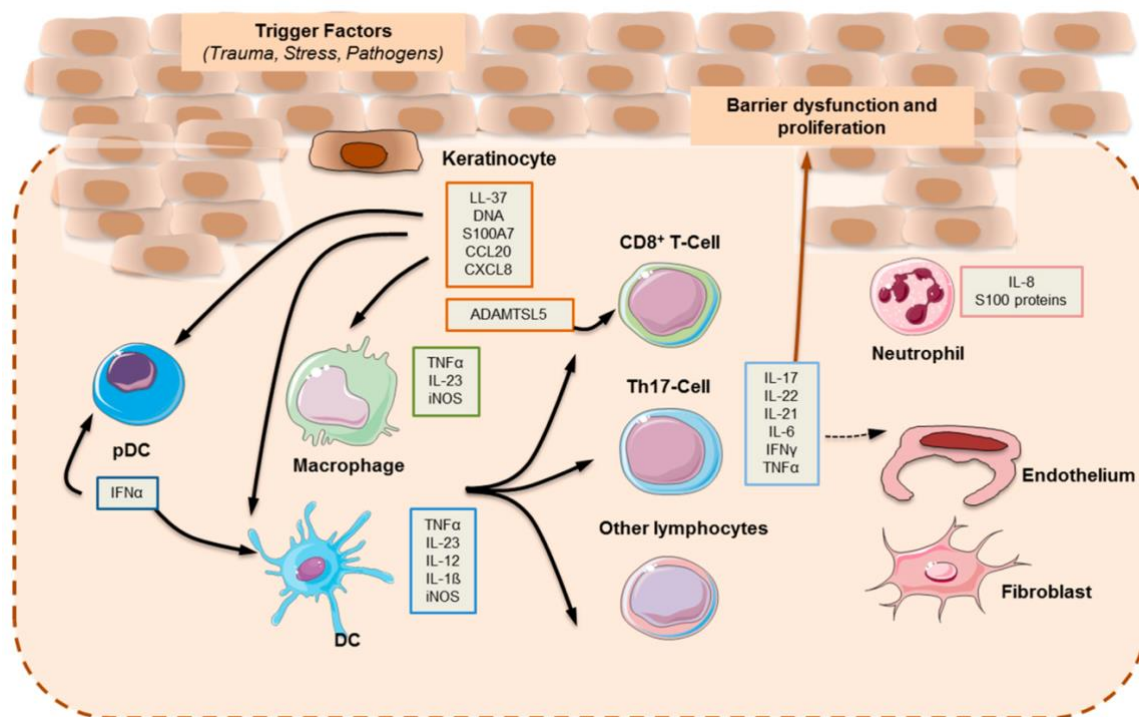
### **2.1.2. Патогенеза**

Отличителна черта в патогенезата на псориазиса е възпалението, което води до неконтролируема пролиферация на кератиноцитите и дисфункционална диференциация. Хистопатологията на псориазиса показва акантоза, под нея възпалителните инфилтрати от дермални дендритни клетки, макрофаги, Т-клетки, и неутрофили. Неоваскуларизацията е друга отличителна черта. Възпалителните пътища, активни при псориазиса и останалите варианти се припокриват, но съществуват и дискретни различия, които отчитат различните фенотипни и лечебни резултати [5].

Нарушението във вродения и придобития имуен отговор са отговорни за възникването и поддържането на псориазиса [6]. Активацията на вродената имунна система задвижвана от нетипични

ендогенни сигнали и цитокини, характерно съществува едновременно с аутоимунно обезсмъртяване при едни пациенти, и Т-клетъчно медирани реакции при други. По този начин псориазисът показва черти на аутоимунно заболяване на фона на (авто)възпаление, като двата механизма се припокриват, дори усилват един друг [7].

Основната клинична находка при псориазис са измененията в областта на кератиноцитите. Въпреки това измененията в псориазисната плака не са само ограничени до възпаление в епидермалния слой, също така се наблюдават взаимодействия на кератиноцитите с много клетъчни типове (клетки на вродения, придобит имунитет съдовата система) обхващащи дермалния слой. Патогенезата на псориазиса може да се схематизира в инициална фаза, която е възможно да се тригерира от травма (Кьобнер феномен), инфекции, или лекарства и поддържаща фаза, характеризираща се с хронична клинична прогресия (фиг. 1) [8].



Фигура 1. Патогенеза на псориазис

Добре известно е, че дендритните клетки играят основна роля в началната фаза на заболяването. Въпреки това, не е точно изяснено кое активира псориазиса. Една от хипотезите е разпознаването на АМПи, които се секретират от кератиноцитите, в отговор на травма и са характерно свръхекспресирани в псориазисната кожа. Между най-проучваните псориазис-асоциирани АМПи LL37,  $\beta$ -дефензините и S100 протеините [8]. LL37 или кателицидин има патогенна роля при псориазиса. Свързва се с разрушаването на кератиноцитите, и образуването на последващи комплекси от материал на другите разрушени клетки. LL37 се свързва с ДНК стимулираните тол-рецептори на плазмоцитните дендритни клетки (ПДК) [9]. Активирането на ПДК е “пусковия” механизъм за развитието на псориазисните плаки, и се характеризира с производството на I тип IFN (IFN- $\alpha$  и IFN- $\beta$ ). I тип IFN активират фенотипното съзряване на МДК, и е замесен в диференциацията и функцията на Th1 и Th17, включвайки респективно продукцията на IFN- $\gamma$  и IL-17 [10–12].

Докато LL37-DNK комплексите стимулират ПДК чрез TLR9, LL37 свързано с РНК стимулира ПДК чрез TLR7. В допълнение LL37-РНК комплексите действат върху МДК чрез TLR8 [8,9]. Активираните МДК мигрират в дрениращите лимфни възли и секретират TNF- $\alpha$ , IL-23, и IL-12, като последните две модулират респективно диференциацията и пролиферацията на Th17 и Th1 клетъчните субтипове [13].

Активирането на придобития имунен отговор чрез отделните субтипове на Т-клетките води до развитие на поддържащата фаза на псориазисното възпаление [14]. Th17 цитокините – IL-17, IL-21 и IL-22, активират кератиноцитната пролиферация в епидермиса.

Възпалителния път TNF- $\alpha$  - IL-23 – Th-17 характеризира плакатния псориазис. Лекарствените средства, атакуващи TNF- $\alpha$ , IL-23, и IL-17 са ефективни в лечението на псориазиса.

Докато придобитият имунитет играе водеща роля в патогенезата на плакатния псориазис, вродената имунна система играе водеща роля в патогенезата на пустулозния псориазис [7].

Смята се, че стрептококовите суперантигени водят до увеличаване на Т клетките в кожата при гутатния псориазис [13]. Наблюдава се значителна хомоложна последователност между стрептококовите М протеини и човешките 17 кератинови протеини [15].

Пустулозния псориазис се характеризира с увеличена експресия на IL-1 $\beta$ , IL-36 $\alpha$ , IL-36 $\gamma$  транскрипти, сравнено с псориазис вулгарис [16]. Въпреки това, IL-17A сигнализацията е също включена в пустулозния псориазис, затова пациенти с генерализиран пустулозен псориазис без IL-36RN мутации отговарят на анти-IL-17 лечение [15,17] .

### **2.1.3. Клинична картина**

Според времето на изява на заболяването, Пс се разделя на Пс с ранно начало (средно на 16 год. при жените и на 22 год. при мъжете) и Пс с късно начало (средно на 60год. при мъжете и на 57год. при жените). Ранният Пс има нестабилен ход и по-голяма склонност към генерализиране. При него значително по-често се наблюдават близки родственици с псориазис. Началото и обострянето на заболяването са значително по-често свързани с фактори като стрес , инфекции на горните дихателни пътища и травма. Честотата на спонтанна ремисия е по-висока при пациенти с ранно начало на заболяването. При пациентите с ранно начало, значително по-често се засяга емоционалното и психическото състояние.

Пс с късно начало има стабилен ход, по-малка склонност към генерализация и по-често се асоциира с псориатичен артрит и псориазис на ноктите [4].

#### 2.1.4. Клинични форми

Клинично псориазиса може да се класифицира в две групи: пустулозни и непустулозни лезии [18]:

- Непустулозен псориазис:
  - Псориазис вулгарис (с ранно и късно начало)
  - Psoriasis gutatta
  - Еритродермичен Пс
  - Палмплантарен Пс
  - Псориатичен артрит(ПсА)
  - Psoriasis inversa
- Пустулозен псориазис
  - Генерализиран пустулозен Пс (von Zumbusch)
  - Impetigo herpetiformis
  - Локализиран пустулозен Пс
    - Палмоплантарен пустулозен Пс (Barber type)
    - Acrodermatitis continua of Hallopeau

#### **Псориазис вулгарис:**

Най-честата форма. Засяга почти 90% от случаите. Клинично се наблюдават еритемни плаки с ясни граници и сребристо-бели сквами. Обикновено са разположени симетрично, най-често се засягат коленете, лактите, скалпа и сакрума. Лезии могат да се появят след травма (Кобнер феномен).

### **Psoriasis guttata(psoriasis eruptiva):**

Най-често се наблюдава при деца и млади хора. Възниква внезапно, изглеждат като малка капчици, по-рядко като сквамозни псориаатични папули. Като цяло се появява след прекарана стафилококова инфекция. Тази форма най-често се асоциира с HLA-Cw6 ген. С излекуването на инфекцията, лезиите преминават спонтанно. Обикновено преминава за 3-4 месеца, рядко лезиите се разрастват и придобиват формата на псориаатични плаки.

### **Еритродермичен Пс:**

Генерализирана форма, при която псориаатичните лезии обхващат около 80% и повече от кожната повърхност. Лезиите губят типичния си изглед, десквамацията не е така отчетлива. Десквамацията може да доведе до загуба на протеин и свързаните с това системни прояви, като едем на долните крайници, сърдечни, чернодрони и бъбречни увреждания. В допълнение се нарушава протективната функция на кожата, което може да доведе до развитието на системни реакции. Може да бъде усложнение на псориазис вулгарис или състоянието да започне самостоятелно, без история за предшестващ Пс. Може да има лимфаденопатия и интензивен сърбеж. Съществува риск от кардиоваскуларен или септичен шок. Живото-застрашаваща форма, с тежко протичне и резистентна на терапия.

### **Палмоплантарен Пс:**

Засягат се симетрично дланите и стъпалата. Обикновено не се открива еритем, но когато го има, изглежда като розово-жълтеникави лезии.

Преобладават сквамите. Дебелите сквами могат да наподобяват кератодерма.

### **Псориатичен артрит:**

Засяга 5.4-7% от псориатиците, като може да се наблюдава и без наличие на лезии по кожата. В 75% от случаите кожните лезии предшестват ПсА, а в 15% от случаите се появяват заедно с него, в 10% от случаите ПсА се появява преди кожното засягане. При тежко протичане на псориазиса се наблюдава в 30-40% от случаите. При нормално протичащ псориазис се появява около 20-30 декада от живота на пациентите. В 80% от случаите с ПсА се наблюдава засягане на ноктите.

Форми на ПсА:

- Класически ПсА: засягат се дисталните интерфалангеални стави на ръцете и краката. Обикновено се наблюдават изменения по ноктите.
- Асиметричен олигоартрит: най-характерната форма на ставно засягане. Засягат се главно асиметрично коленни, дистални и проксимални интерфалангеални стави, метакарпофалангеални, метатарзофалангеални. В 11% от случаите. Може да се развие дактилит.
- Симетричен полиартрит: напомня на ревматоиден артрит(РА). Но за разлика от РА, по-често се засягат интерфалангеалните стави, и има тенденция за развитие на костна анкилоза в ставите.
- Мутилиращ артрит: характеризира се с прогресираща остеолиза на фалангеалните и метакарпалните кости. Често се асоциира с сакроилиит. Описаната картина е характерна за ръцете, но могат да се засегнат и краката.
- Спондилит: рядко се наблюдава самостоятелно(в 2-4% от случаите). По-често се асоциира с периферен артрит. Напомня анкилозиращ

спондилит, засяга се симетрично или асиметрично сакроилиачната става. В резултат на по-леката ставна анкилоза, прогнозата е по-лека отколкото на анкилозиращия спондилит.

### **Psoriasis inversa:**

Засяга гънките. Не се образуват сквамозни лезии в резултат на триенето и влажния терен в областта на кожните гънки. Характеризира се с появата на червени, симетрични, инфилтрирани плаки с ясни граници. По-често се наблюдава при хора с обезитас, има тенденция да се развиват себорейни лезии. По-резистентна на терапия форма.

### **Генерализиран пустулозен Пс:**

Рядка форма, при която прогресивно се появяват пустули. По-често при млади индивиди. Може да се развие самостоятелно или като усложнение на Пс вулгарис, вторично – след неправилна употреба на системни кортикостероиди, прилагане на тригериращи фактори, хипокалциемия, или иритираща терапия. Началото е внезапно върху еритемна основа, в асоциация със системни прояви, като висока температура, отпадналост, артралгия. Пустулите преминават за няколко дни, последвани от появата на нови такива. Перипустуларния еритем има тенденция да се разпространява, като това може да доведе до развитие на еритродермия. Ако дисеминираните форми не се лекуват, това може да доведе до фатален край.

### **Impetigo herpetiformis:**

Рядка форма, известна още като генерализиран пустулозен Пс на бременността. Характерисира се с еритемни плаки покрити с пустули, които

започват и се разпространяват от флексуралните области и имат тенденция да агломерират. Могат да имат вегетиращ характер в областта на кожните гънки. В процеса може да се включат лигавиците, в областта на ноктите може да се развие онихолиза до субунгвални пустули. Лезиите са сърбящи, може да има чувство на парене, и неприятна миризма. В допълнение на влошаващото се общо състояние могат да се появят умора, повишена температура, гадене и повръщане. Като цяло е в асоциация с хипокалциемия. Проявява се в трети триместър на бременността или послеродовия период. Често се появява отново при последваща бременност.

### **Локализиран пустулозен Пс:**

Има 2 форми: палмоплантарна пустулоза(Barber type) и acrodermatitis continua of Hallopeau

- Палмоплантарна пустулоза(Barber type): хронична форма, по-честа при жени и при хора с фамилна анамнеза за палмоплантарна пустулоза. Клинично се наблюдават пустули 2-4мм в диаметър по палмоплантарната повърхност, върху еритемна основа. Етиологията не е напълно изяснена, но се наблюдава характерна подлежаща контактна чувствителност. Тютюнопушенето, тонзилитите, високата температура, влажността, могат да активират заболяването.
- Acrodermatitis continua of Hallopeau: прогресивно кожно заболяване, характеризиращо се с развитие на асептични пустули по пръстите, водещо до загуба на нокти и дисталните фаланги в тежките случаи. Пустулите се сливат, образувайки в малки, полициклични, пурулентни лезии [18].

### **Псориазис на капилициума:**

Според някои автори е най-честата форма. Типичните псориазисни плаки са разположени в скалпа или на границата на окосмената с неокосмената част на главата (*corona psoriatica*). В случаите, когато псориазисът засяга само капилициума, отдиференцирането му от себореен дерматит е затруднено. В тези случаи се използва терминът себопсориазис. При някои пациенти може да се развие цикатрициална алопеция [19].

### **Псориазис по ноктите:**

Нокътните промени се срещат в около 20% от пациентите с псориазис и често се асоциират с наличие на артрит. Най-характерни изменения са точковидните депресии (симптом на “напръстника”). Други промени по ноктите са: “мазни петна”, субунгвална хиперкератоза, точковидно червени хеморагии в границата на нокътната лулула, левконихия, липса на епонихиум (симптом на Любен Попов). Псориазисът на нокътното ложе може да причини онихолиза или отделяне на нокътната плочка от матрикса [19].

Редки клинични форми и някои специфични локализации на псориазис:

- географски език – известен още като доброкачествен мигриращ глосит, често се среща при пациенти с псориазис, особено при тези с генерализиран пустулозен псориазис. Характеризира се с еритемни плаки, заобиколени от белезникави ивици и загуба на филиформените папили по гърба на езика.
- псориазисен хейлит – засягане на устните
- генитално засягане

- псориазиформени лезии при синдром на Reiter
- псориагичен блефарит и кератит [19].

### 2.1.5. Скали за оценка тежестта на псориазис

За определяне тежестта на псориазиса и влиянието му върху качеството на живот на пациента, се използват няколко скали: PASI ( Psoriasis Area Severity Index), BSA (Body Surface Area), PAGA (Psoriatic Arthritis Global Assessment), NAPSI (Nail Psoriasis severity index) и DLQI (Dermatology Life Quality Index).

#### **PASI ( Psoriasis Area Severity Index):**

Най-често използваната скала. Прието е да се изчислява преди, по време на и в края на лечението. Представя се като цифрова стойност от 0 до 72, която отразява степента на еритем (E), инфилтрация (I), десквамация (D), и площта на засягане (A) в четири области на човешкото тяло: глава (h), трункус (t), горни (u) и долни крайници (l). Степента на еритем, инфилтрация и десквамация се оценяват с точки от 0 до 4, а процентът на засегнатата площ се оценява с точки от 0 до 6. Тъй като главата, горните крайници, трункусът и долните крайници отговарят съответно на 10%, 20%, 30% и 40% от телесната повърхност, PASI се изчислява по следната формула:

$$\text{PASI} = 0,1(\text{Eh}+\text{Ih}+\text{Dh})\text{Ah} + 0,2(\text{Eu}+\text{Iu}+\text{Du})\text{Au} + 0,3(\text{Et}+\text{It}+\text{Dt})\text{At} + 0,4(\text{El}+\text{Il}+\text{Dl})\text{Al} \text{ (табл. 1)}$$

	СТЕПЕН НА ТЕЖЕСТ	ТОЧКИ	ГЛАВА (H)	ГОРНИ КРАЙНИЦИ (U)	ТРУНКУС (T)	ДОЛНИ КРАЙНИЦИ (L)
<b>ЕРИТЕМ (E)</b>	Липса на симптоми	0				
<b>ИНФИЛТРАЦИЯ (I)</b>	Лек	1				
<b>ДЕСКВАМАЦИЯ (D)</b>	Умерен	2				
	Изразен	3				
	Силно изразен	4				
<b>ПЛОЩ НА ЗАСЯГАНЕ (A)</b>	0%	0				
	<10%	1				
	10-29%	2				
	30-49%	3				
	50-69%	4				
	70-89%	5				
	90-100%	6				

$$PASI = 0.1(Eh+Ih+Dh)Ah + 0.2(Eu+Iu+Du)Au + 0.3(Et+It+Dt) + 0.4(El+Il+Dl)Al$$

Таблица 1. Изчисляване на PASI

Колкото по-високо е PASI, толкова по-тежко е състоянието. Главен недостатък на PASI е ниската чувствителност при пациенти с малка площ на засягане, особено при засягане на области с голямо влияние върху качеството на живот (глава и шия, гениталии, длани и ходила). В случаите, когато PASI е неприложим (например пустулозен псориазис), трябва да се вземе под внимание процентът на засегнатата кожна повърхност – BSA [20].

### **BSA (Body Surface Area):**

Съществуват два метода за определяне на площта на засегнатата кожна повърхност – методът на длановия отпечатък и правилото на деветките. Съгласно първия метод около 1% от телесната повърхност се равнява на отпечатъка на дланта (от китката до върха на пръстите), при напълно разгънат длан със събрани един до друг пръсти и палец, разположен леко встрани. Според правилото на деветките, всяка част от тялото е процент от BSA, делим на девет. Това правило е надежден метод за определяне на процента на кожно засягане при пациенти с тегло от 10 до 80 kg (табл. 2) [20].

	ВЪЗРАСТНИ (%) BSA	ДЕЦА (%) BSA
Глава	9	18
• предна повърхност	4.5	9
• задна повърхност	4.5	9
Трункус	36	36
• предна повърхност	18	18
• задна повърхност	18	18
Ингвинална област	1	1
Горен крайник	9	9
• предна повърхност	4.5	4.5
• задна повърхност	4.5	4.5
Долен крайник	18	13.5
• предна повърхност	9	
• задна повърхност	9	

Таблица 2. Правило на деветките за определяне на BSA

### **NAPSI (Nail Psoriasis Severity Index)**

При оценяване на тежестта на нокътното засягане при псориазис посредством NAPSI индекса нокътната плочка се разделя на четири квадранта с помощта на две въображаеми (надлъжна и напречна) линии. Всеки нокът се оценява за наличие на промени в нокътния матрикс (0–4 точки) и нокътното легло (0–4 точки). При оценяване на нокътния матрикс всеки квадрант се оценява за наличие на някои от следните промени: точковидни депресии, левконилия, еритемни макули в лулулата и

онихорексис. При оценяване на нокътното легло всеки квадрант се оценява за наличие на някои от следните промени: онихолиза, ивицовидни хеморагии, субунгвална хиперкератоза и „мазни петна“. Всеки нокът получава обща оценка, която представлява сбора от оценките на нокътния матрикс и нокътното легло (0–8 точки). Всеки нокът се оценява по този начин, като сборът от общите оценки на всички нокти определя NAPSИ индекса – 0–80)или 0–160, ако се включат и ноктите на краката [20].

### **PAGA (Psoriatic Arthritis Global Assessment)**

Дава се обща оценка (от 0 до 4) за състоянието на псориатичния артрит, съответно асимптоматичен, лек, средно тежък, тежък и много тежък.

### **DLQI (Dermatology Life Quality Index)**

Системата за оценка на качеството на живот на болния представлява въпросник, който съдържа 10 въпроса, отнасящи се до симптомите (1 въпрос), чувствата (1 въпрос), ежедневните занимания (2 въпроса), свободното време за отдих и развлечения (2 въпроса), работата/училището (1 въпрос), взаимоотношенията с другите хора (2 въпроса) и лечението (1 въпрос) за последните седем дни. Всеки въпрос се оценява с точка от 0 до 3, като стойността на индекса може да варира от 0 (липса на нарушение в качеството на живот) до 30 (максимално нарушение на качеството на живот).  $DLQI > 10$  е критерий за тежко протичане на заболяването. Валидността на този индекс може да бъде компрометирана поради езикови или други комуникативни нарушения. При лечение с биологични продукти за адекватен терапевтичен отговор се приема подобрене в DLQI с 5 и повече точки [20].

### 2.1.6. Диагноза

Диагнозата псориазис най-често се поставя клинично. Съществуват клинични белези, които могат да помогнат при поставянето на диагнозата:

- симптом на “стеариновото петно” – сквамите лесно се разпадат на бял прах при опит да бъдат отстранени
- симптом на “кървавата роса” (Auspitz) – при излющване на сквамите се появяват точковидни кръвоизлизи
- симптом на Воронов – наличие на бледа ареола около плаката
- симптом на Любен Попов – липса на епонихиум

При необходимост може да се вземе биопсичен материал за хистологично изследване. По правило хистологията е диагностична, само когато биопсията е взета в ранните стадиини развитие на лезиите или в близост до ръба на нарастващата плака. Хистологичните белези, характерни за псориазис са хиперкератоза и паракератоза, загуба на грануларния клетъчен слой, равномерна акантоза(равномерно удължение на епидермалните гребени), формирането на спонгиозформени пустули на Kogoj и микроабцеси на Munro [19].

Диференциална диагноза на различните клинични варианти се прави със следните заболявания (табл. 3):

<b>Клиничен вариант на псориазис</b>	<b>Диференциална диагноза</b>
Гутатен псориазис	Pityriasis versicolor, Pityriasis rosea, Вторичен сифилис
Псориазис на плаки, засягащ дланите и стъпалата	Хронична екзема на ръцете, Контактен дерматит, Дерматофитози
Палмоплантарна пустулоза	Дисхидротична екзема, дерматофитози
Генерализиран пустулозен псориазис	Остра генерализирана екзантемна пустулоза (AGEP)
Еритродермичен псориазис	Медикаментозна еритродермия, атопичен дерматит, Т-клетъчен лимфом, ихтиози
Псориазис на ноктите	Дерматофитози, Медикаментозни реакции, фототоксични реакции
Инверсен псориазис	Кандидозна инфекция, Еритразма, Себореен дерматит, Контактен дерматит, Доброкачествен фамилен пемфигус (болест на Hailey-Hailey)
Псориазис на капилицума	Себореен дерматит, Контактен дерматит, Tinea capitis

Таблица 3. Диференциална диагноза на клиничните варианти на псориазис [18]

### 2.1.7. Терапия

Локални средства:

- Емолиенти: неизменна част от локалната терапия на Пс. Прилагат се от 1 до 3 пъти дневно. Не са известни странични ефекти. Препоръчва се ежедневната им употреба, успоредно с друго локално и системно лечение [21].
- Кератолитици: Салицилова киселина, урея, алфа – хидрокси киселини (все още не се използват в лечението на Пс [22]), локални кортикостероиди, аналози на витамин Д3 за локално приложение (Калципотриол), калциневринови инхибитори (Пимекрулимус крем и Такролимус маз) [21].
- Дитранол - при хоспитализирани пациенти се препоръчва терапия с дитранол в концентрация от 0,1– 0,5%.
- Катрани – класически средства. Въпреки безспорния им терапевтичен ефект се използват все по-рядко, поради факта, че имат специфичен мирис, оцветяват кожата и зацапват дрехите.
- Локални ретиноиди – тазаротен (в България препаратът не се предлага във фармацевтичната мрежа) [20].

Фототерапия:

Методите включват: тесноспектърна УВ-Б (311 нм) фототерапия, комбинирана УВ-А и УВ-Б фототерапия и PUVA (локална PUVA, балнео-PUVA и системна PUVA) фототерапия. Кварцови източници не се прилагат за лечение на П.

Метотрексат:

Показан за лечение на средна до тежка степен на протичнае на Пс. Препоръчва се да се започне с доза от 5 mg еднократно седмично. След като се изключи остра миелотоксичност на медикамента, дозата може да се увеличи на 25 mg седмично [21].

**Системни ретиноиди:**

Основният препарат от групата, използван за лечение на псориазис, е ацитретин. Препоръчва се начална доза от 0,3–0,5 mg/kg дневно за около 4 седмици, след което по 0,5– 0,8 mg/kg дневно [20].

**Циклоспорин:**

Ефикасен за лечение на тежки форми на псориазис. Началната доза на препарата е 2,5–3 (максимум 5) mg/kg дневно. Максималната продължителност на курса на лечение е две години [21].

**Рифампицин:**

Рифампицина е полусинтетичен макроцикличен антибиотик, който е показан за лечение на еруптивните форми на Пс. Препоръчва се в доза от 300 mg два пъти дневно за минимум 60 дни, като курсът на лечение може да продължи до една година. Установено е, че ефектът му при псориазис се дължи на умереното му имуносупресивно действие [20].

**Климатолечение:**

Климатолечението е един от най-старите лечебни методи, използван при псориазис. Българската дерматологична школа има значителен принос за развитието на климатолечението на кожните заболявания. Първите си наблюдения и изводи за таласотерапията на псориазис на Черно море, Н. Балеvsка и съавтори правят още през 1964г. [19].

### Пелоидотерапия:

Направление на климатотерапията, което се използва с успех в лечението на псориазис и псориаатичен артрит. Пелоидотерапията е лечение, профилактика и рехабилитация с лечебна кал, която представлява природен продукт, съдържащ органични и неорганични съединения, образувани под въздействието на геологични, химични, биологични, микробиологични и климатични процеси. Различават се следните видове лечебна кал: минерална, лиманна, сапронелна (гниеща), торфена, нафталанска и изкуствена кал [19]. Има данни, че калта на Анхиало (Поморие) е използвана с лечебна цел преди много векове [23].

### Балнеотерапия:

Неспецифична, реактивна, регулираща терапия, дължаща се на общите действия на минералната вода и курорта като цяло върху организма. Минералната вода има почистващ, охлаждащ и противосърбежен ефект. Минералните води оказват специфично действие чрез съдържащите се в тях специфични елементи и биологично активни вещества като сероводород, радон, сяра, въглероден двуокис, йод, арсен, желязо, органични вещества и др. Балнеолечението се състои в прилагането на минерални бани, пиене на вода, промивки, компреси, инхалации и други [19].

### Таласотерапия:

Терапевтичен метод, принос на Българската дерматологична школа. С много добра ефективност и постигане на дълги периоди на ремисия. Този ефект се дължи от комбинацията от няколко климатични фактора, които се съчетават на морския бряг: естествена слънчева светлина, морска вода, чист и беден на алергени морски въздух, малки денонощни температурни амплитуди. Към предимствата на този вид терапия е и извеждането на

пациента от болничната обстановка, отпадане на нуждата от провеждане на системна терапия, физиотерапия или прилагане на локални кортикостероиди и дитранол. Има много малко странични ефекти и поради това много малко противопоказания [19].

Комбинирана климатотерапия:

Морелечението би могло да се комбинира и с други форми на климатолечение, където има условия за това. На територията на България по крайбрежието на Черно море има няколко минерални извора, чиято вода би могла да се използва за балнеолечение на псориазис. Таласотерапията би могла да се комбинира и с пелоидотерапия около лиманните езера, където има находища на лиманна кал. Комбинирането на няколко вида климатотерапия поради интензивността на лечението, скъсява сроковете за постигане на резултат, спомага за по-продължителна ремисия, има определен терапевтичен ефект върху някои по-резистентни на лечение форми като псориаатричен артрит [19].

Биологични средства:

Биологичните средства представляват молекули, блокиращи специфични етапи в молекулярната патогенеза на заболяването [24]. Към настоящия момент в България са регистрирани шест биологични препарата. Биологичните средства се препоръчват при пациенти със средни до тежки по степен на протичане форми на псориазис, които отговарят на следните критерии :

1. Пациенти, при които BSA, PASI и DLQI е повече от 10.
2. Пациенти, които спадат към някоя от следните категории:

- Невъзможност за провеждане на фототерапия или стандартно системно лечение поради опасност от развитие на сериозни странични ефекти и токсичност, свързани с употребата на това лечение.
- Непоносимост към стандартното системно лечение.
- Липса на отговор на стандартното системно лечение.
- Наличие на други сериозни заболявания, при които е контраиндицирано използването на стандартната системна терапия.
- Наличие на тежки, нестабилни или животозастрашаващи заболявания [21].

#### Биологични средства използвани в България:

- Adalimumab – TNF- $\alpha$  инхибитор. Първото пълно човешко моноклонално TNF- $\alpha$  антитяло и се използва от 2003 год. [24].
- Etanercept – TNF- $\alpha$  инхибитор.
- Infliximab – TNF- $\alpha$  инхибитор. Единственият препарат, който се прилага венозно в болнични условия поради риска от реакции, свързани с вливането.
- Ustekinumab – IL 12/23 IG1 човешко моноклонално антитяло [25].
- Secukinumab – Рекомбинантно моноклонално (IgG1) човешко антитяло, което селективно таргетира IL17A и блокира връзката му с IL17-рецептора [26].
- Ixekizumab – човешко моноклонално антитяло (IgG), което селективно се свързва с IL-17A [27].
- Guselkumab – човешко моноклонално антитяло, което селективно се свързва с IL-23 [28].

- Risankizumab-rzaa – човешко моноклонално антитяло, което селективно се свързва с IL-23 [29].
- Certolizumab pegol – рекомбинантно хуманизирано антитяло, фрагмент от антитяло, което се свързва с TNF-  $\alpha$  [30].

## 2.2. Псориазис и хранителен режим

Важен фактор от околната среда, който оказва влияние върху протичането на псориазиса е хранителния режим. Има множество препоръки относно хранителните навици на пациентите с Пс, но клиничните проучвания са малко [31]. Има доказателства, че диетата може да окаже положителен ефект както по отношение на тежестта на протичане на псориазиса, така и на ефикасността от провежданото лечение [32]. Наблюдавано е подобряване в състоянието на пациентите след прием на витамин D, витамин B12 и ненаситени мастни киселини [31–33]. Диета целяща редукция на теглото, безглутенова диета, спирането на алкохола, захарта, домати, картофи, чушки, патладжан оказват благоприятен ефект върху протичането на заболяването [31,32].

Нископротеиновата диета оказва благоприятен ефект върху протичането на псориазис. Правени са проучвания с намаляване приема на таурин, и значително подобряване в състоянието на пациентите. Друго проучване доказва благоприятен ефект при пациенти с псориазис при ограничаване приема на храни богати на триптофан [34].

В проучване се доказва, че 16% от пациентите с Пс имат IgA и IgG антитела срещу глиадин. Резултатите са показали, че при почти всички пациенти с такъв тип антитела, след приложение на безглутенова диета има значително подобряване в състоянието [34].

Витамин В12 е коензим в две биохимични реакции. Едната от реакциите изисква метилкобаламин за реметилирането на хомоцистеина до метионин, катализираща се от метионин синтетазата. Аденозилкобаламина е необходим като коензим на метилмалонил-СоА мутаза, който катализира превръщането на метилмалонил-СоА в сукцинил-СоА, метаболит от цикъла на лимонената киселина. Това е важна биохимична реакция при разграждането на неверижните мастни киселини и аминокиселините с разклонена верига. Кобаламините се синтезират изключително от бактерия. Богати на кобаламин са животинските вътрешности (особено черен дроб и бекбери), рибата, яйцата, млечните продукти [33].

Тежко протичащият Пс се асоциира с хранителни дефицити, в резултат на загуба на хранителни вещества чрез хиперпролиферацията и десквамацията на епидермиса. Сред 50 хоспитализирани пациенти с Пс 18% имат понижен тотален протеин, 16% имат понижен серумен албумин, 38% имат повишен среден корпускулярен (corpusculare) обем и 39% имат намален хематокрит. Това доказва, че пациентите с тежък псориазис могат да развият тежък протеинов и фолатен дефицит [33].

Пациентите с тежко протичащ Пс често са на системна терапия. Едно от средствата за системна терапия е Метотрексат. Той е антагонист на фолиевата киселина. Пациенти, приемащи ниски дози Метотрексат (25mg) имат значително повишени плазмени концентрации на хомоцистеин и занижени плазмени концентрации на фолиева киселина. В нормални условия хомоцистеина се разгражда по два пътя: реметилиращ и трансулфуриращ. При реметилиращия хомоцистеина се превръща в метионин, като реакцията се катализира от метионин синтетазата. В тази реакция 5-метилтетрахидрофолиевата киселина е донор на метилови групи, докато витамин В12 е акцептор на метилови групи. При дефицит на фолиева киселина, концентрацията на хомоцистеин се увеличава. Увеличената концентрация на хомоцистеин е рисков фактор за развитие на

съспътстващи заболявания. При трансулфуризиращия път, хомоцистеина образува цистеин, но този път на разграждане не е достатъчен, за да се нормализира повишеното плазмено ниво при фолатен дефицит. Хомоцистеина може да се използва, като маркер за фолатния статус на пациенти, приемащи Метотрексат. Фолиевата киселина е препоръчително да се предписва рутинно при тези пациенти, за да се избегнат страничните реакции, 5mg фолиева киселина два до пет пъти седмично могат да бъдат изписвани на пациенти, приемащи Метотрексат, като не се дава в деня на прием на Метотрексат [33].

### **2.3. Псориазис и коморбилитет**

Световният регистър за псориазис (PSOLAR), включил почти 12 000 болни от Европа, Северна Америка и Латинска Америка до 2014г., показва, че най-честите съпътстващи заболявания при пациенти с псориазис са псориатичен артрит (35.5%), сърдечно – съдови заболявания (общо 38.2%) – най-често хипертония, хиперлипидемия, атеросклероза, коронарна болест на сърцето, инфаркт на миокарда и др., психични заболявания (20.7%) – най-често депресия и тревожност, и едокринни болести (18.8%) – най-често диабет тип 2, последван от нарушена функция на щитовидната жлеза [35]. Данни за болните в България показват, че най-висока е честотата на сърдечно-съдовата коморбидност, последвана от псориатичен артрит и захарен диабет тип 2. При един болен е възможно наличието на повече от една съпътстваща болест. При проведени у нас анализи е установено, че при половината от пациентите с псориазис е регистрирана поне една съпътстваща болест [2].

Натрупват се доказателства за положителната зависимост между тежестта на псориазиса и риска от развитие на метаболитен синдром [36,37]. Neimann et al. доказват, че пациентите с тежък псориазис имат повишен риск от

нарушен глюкозен толеранс, диабетус мелитус и обезитет[38]. Prodanovich et al. демонстрират, че пациентите с псориазис развиват по-често исхемична болест на сърцето, инфаркт на миокарда, церебро-вакуларни тромботични епизоди и периферна съдова болест [39]. Тези асоциации, наред с широко известните рискови фактори за атеросклероза, вероятно се опосредстват и от промени в метаболизма на хомоцистеина и фолиевата киселина, които често се откриват сигнификантно променени в серума на пациенти с псориазис [40,41].

Множество метаболитни дисфункции се асоциират с псориазиса, като хипотиреидизъм, проблеми с дебелото черво, ускоряване на липидната пероксидация и редукция на тоталната антиоксидантна активност. В последните години фокус в изследванията на псориазиса са метилиращия цикъл[42], полиамините [43,44], фолатите, витамин В12 [45,46], и хомоцистеиновите нива [45–47]. Освен това няколко проучвания разкриват връзката между псориазиса и увеличения риск от кардиоваскуларни заболявания, диабет, и атеросклероза [48,49]. Подчертава се ролята на метиониновия метаболизъм в патогенезата на псориазиса. Въпреки това точната етиология на тази връзка остава неясна.

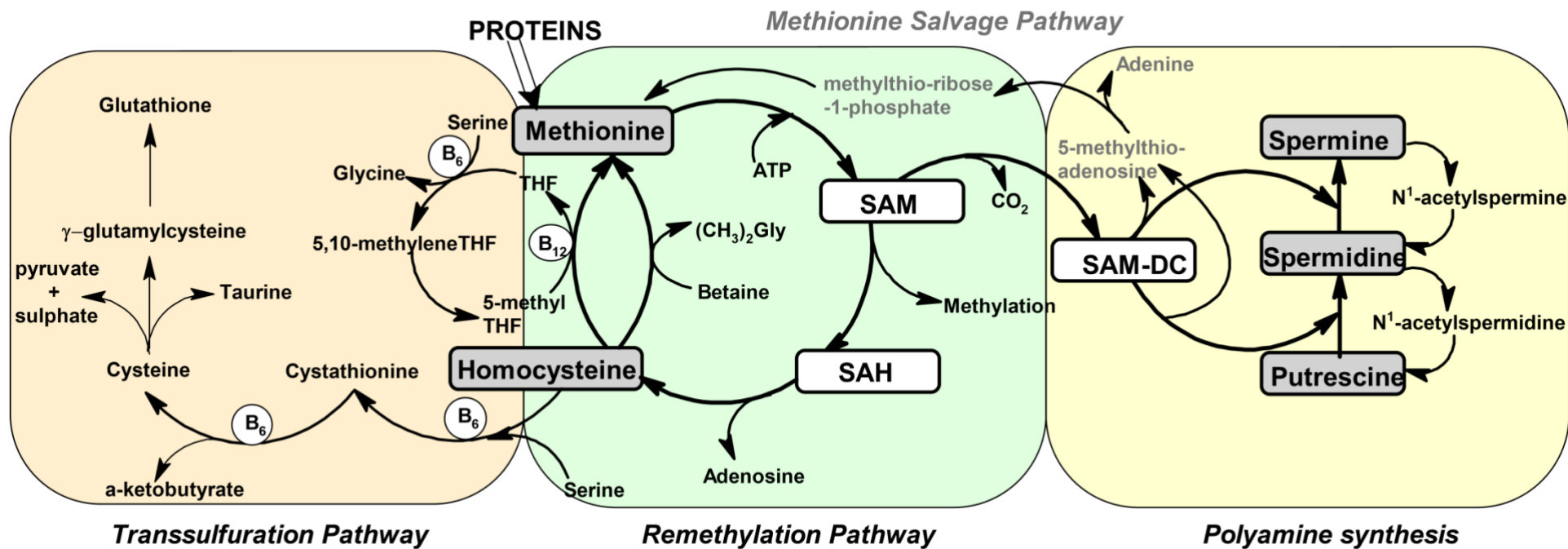
## **2.4. Хомоцистеин**

Хомоцистеинът (Hcy) е непротеиногенна, сяросъдържаща аминокиселина, чиито нормални нива се поддържат от два метаболитни пътя: реметилизация и транссулфуризация (схема 1). Чрез реметилизацията, Hcy се превръща в метионин (Met) приемайки метилова група от 5-метилтетрахидрофолата, активната форма на фолиевата киселина, или бетаин. Извън митохондрия реакцията зависи много от ензима метионин синтетаза и изисква витамин В12 като кофактор. Докато в митохондрия ензимът бетаин-хомоцистеин S-метилтрансфераза изисква бетаин.

Значителна част от Met се активира от АТР и ензимът метионин аденозилтрансфераза, което води до образуване на S-аденозилметионин (SAM) [50–52]. SAM е основен субстрат в две основни метаболитни реакции. Може да служи като универсален донор на разнообразни метилни акцептори или да се декарбоксилира под действието на ензима S-аденозилметионин-декарбоксилаза, след което да се включи в синтеза на полиамините (PA) [52,53]. Продукт на реакциите на метилиране е S-аденозилхомоцистеин (SAH), който впоследствие се хидролизира до Hcy от ензима SAH-хидролаза [51,52]. По този начин се регенерира хомоцистеин, който след това отново може да се реметилира или да се метаболизира по транссулфуриращият път. Тази хидролиза е обратима реакция, която благоприятства синтеза на SAH, и повишените клетъчните концентрации на този метаболит вероятно се предхождат и придружават от всички форми на хиперхомоцистенимията.

При транссулфуриращият път, хомоцистеина се кондензира със серин до цистатионин чрез необратима реакция, катализирана от цистатионин- $\beta$ -синтаза, ензим изискващ витамин B<sub>6</sub> като кофактор. Цистатионина се хидролизира цистатионин- $\gamma$ -лиаза и образува цистеин и  $\alpha$ -кетобутират. Цистеинът участва в синтеза на протеини и е лимитиращ субстрат при синтеза на глутатион (GSH). Излишният цистеин се окислява до таурин или неорганични сулфати и се екскретира в урината [54,55]. Синтезата на GSH от цистеин се извършва на два АТР-зависими етапа, като в първия цистеинът се конюгира с глутамат и образува  $\gamma$ -глутамил-цистеин, който след това с глицин образува GSH. Ензимът катализиращ първата реакция е  $\gamma$ -глутамил-цистеин синтетеза, а при втората е глутатион синтетеза [55].

При здрави хора нивата на хомоцистеина са полово и възрастово зависими. Плазмените нива на хомоцистеина са по-високи при мъжете, отколкото при жените, и се увеличават от 10.8  $\mu\text{mol/L}$  във възрастта 40-42 год до 12.4  $\mu\text{mol/L}$  във възрастта 65-67 год. [56].



Фигура 2. Метаболизъм на хомоцистеин

### 2.4.1. Регулация на метаболизма на хомоцистеин:

Проучванията относно регулацията на метаболизма на хомоцистеина показва, че пътища транссулфуриране и реметилиране са хранително регулирани. При метионинова диета, хомоцистеина се метаболизира през пътя на реметилиране около 1.5-2.0 пъти, преди да бъде катаболизиран през транссулфуриращият път. Този капацитет на тялото да разпределя излишъка между пътищата на реметилиране и транссулфуриране, като начин да се адаптира към различни количества на метионин, предполага съществуването на координирана регулация между тези два пътя [50,51]. Според данни получени от измервания на ензимните активности *ин витро*, тази координация се постига чрез най-малко два механизма. Първият механизъм е функция на склонността на SAM да действа като алостеричен инхибитор на метилентетрахидрофолат редуктаза и като активатор на цистатионин  $\beta$ -синтаза. Като ефектор SAM потиска синтеза на важен субстрат (N-5-метилтетрахидрофолат), необходими за реметилирането и насърчава първоначалната реакция на транссулфуриране (синтез на цистатионин). По този начин, концентрацията на вътреклетъчния SAM е важна за определянето на съдбата на хомоцистеина. Вторият механизъм, чрез който се координират реметилирането и транссулфурирането се състои от регулирането на вътреклетъчната концентрация на SAM. В черния дроб, синтезът на SAM се катализира чрез два ензима. Единият ензим, тетрамер с високо молекулно тегло, показва висок афинитет към метионин и се смята, че работи при нормални физиологични условия. Другият е димер с по-ниско молекулно тегло, има нисък афинитет към метионин, и се смята, че функционира при условия на висок прием на метионин. Така промените във вътреклетъчния метионин, особено породени от различия в метиониновия прием, ще се отразят на скоростта

на синтез на SAM и дейността на SAM синтетазните ензими. Също така използването на SAM се регулира специфично от реакция, при която метилната група на SAM се прехвърля на аминокиселина глицин, образувайки саркозин. Тази реакция се катализира от глицин N-метилтрансфераза, която е в изобилие в черния дроб и силно се инхибира от N-5-метилтетрахидрофолат полиглутамати. Така, заедно с вътреклетъчния метионин, N-5-метилтетрахидрофолат участва в регулацията на вътреклетъчните концентрации на SAM [50,57].

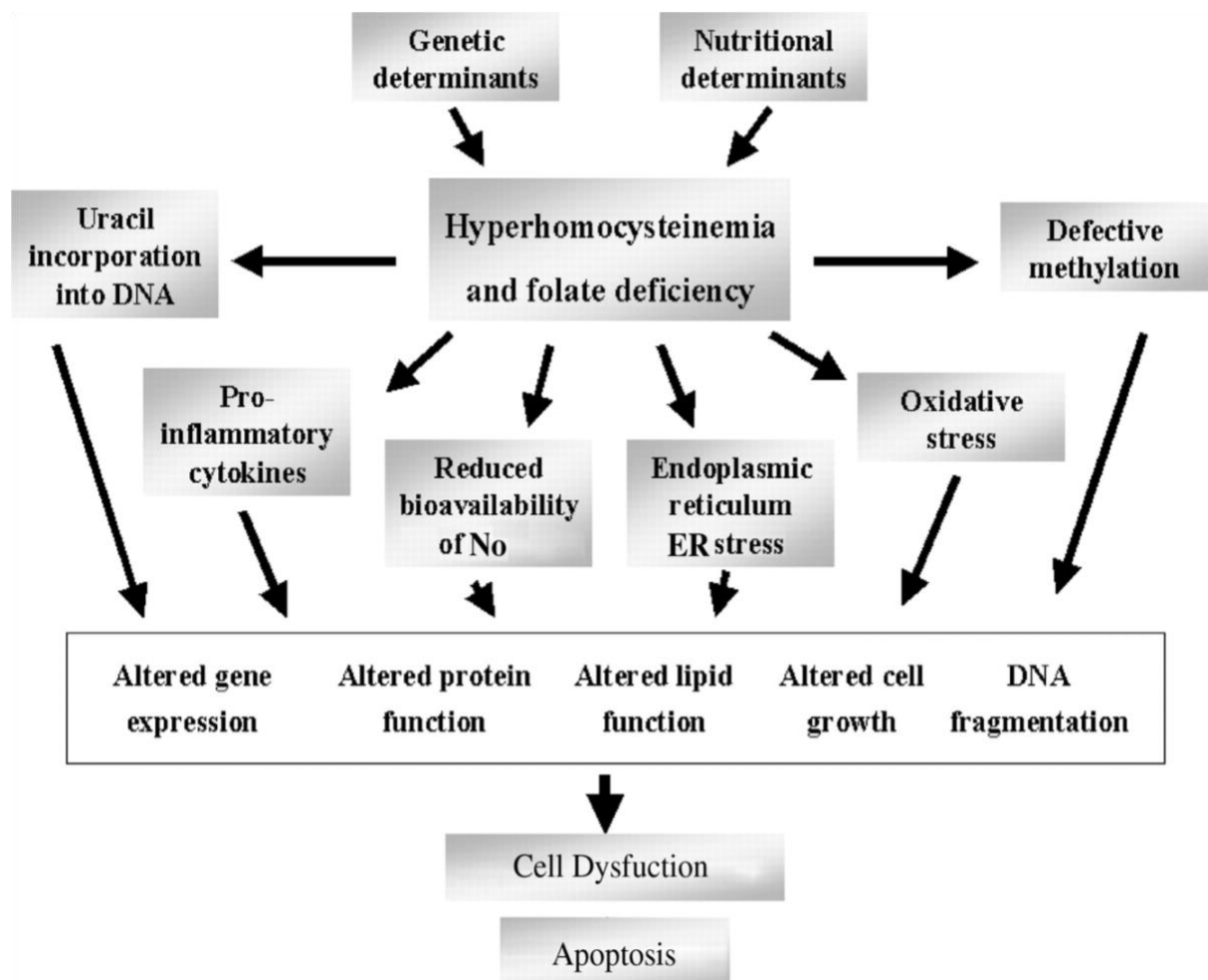
При здрави хора нивата на хомоцистеина са полово и възрастово зависими. Плазмените нива на хомоцистеина са по-високи при мъжете, отколкото при жените, и се увеличават от 10.8 $\mu\text{mol/L}$  във възрастта 40-42 год до 12.4 $\mu\text{mol/L}$  във възрастта 65-67год [56].

Нормалните нива на тоталния хомоцистеин са 5-15 $\mu\text{mol/L}$  (средно 10 $\mu\text{mol/L}$ ). Kang и съавтори класифицират няколко типа на хиперхомоцистеинемията: лека форма – 15-30 $\mu\text{mol/L}$ , средна – 30-100 $\mu\text{mol/L}$ , и тежка – над 100 $\mu\text{mol/L}$  [49]. Причините за хиперхомоцистеинемията могат да бъдат:

- генетични фактори – ензимни дефекти
- грешки в диетата – липса на вит. B12, вит. B6, фолати, прекомерен прием на богата на метионин животинска храна
- физиологични фактори – възраст, мъжки пол, менопауза, раса
- патологични фактори – тютюнопушене, алкохолизъм, намалена бъбречна функция, псориазис, ракови заболявания, сърдечна или бъбречна трансплантация
- ятрогенни фактори – орални контрацептиви, метотрексат, азотен оксид, антиконвулсанти, сулфасалазин [49].

Хиперхомоцистеинемията при пациентите с псориазис може да се дължи и на други причини като обезитет, хипертензия, тютюнопушене и повишена алкохолна консумация [58]. При опити за намаляване на серумните нива на хомоцистеина чрез повишаване на приема на витамин В12 и фолиева киселина при пациенти с миокарден инфаркт не редуцира атеросклеротичния риск и не превантира евентуалните тежки сърдечно-съдови инциденти [59]. Тези данни показват, че нивата на хомоцистеин в кръвта на пациенти с псориазис също може да не е директно следствие на повишения кератиноцитен синтез и следователно контролът върху плазменото съдържание на хомоцистеин да не води до ограничаване на кожното заболяване. Концепцията за това в каква степен тежестта на псориазиса повишава сърдечно-съдовата смъртност, се свързва най-вече с генетична предиспозиция и хронично-възпалителния ко-морбидитет. Може би точно хроничното възпаление и инсулиновата резистентност обуславят ендотелната дисфункция и засилената атеросклероза при пациентите с псориазис. Налични са множество данни за значителна корелация между хиперхомоцистеинемията и сърдечно-съдовите заболявания, както и техните усложнения – инфаркт и инсулт. Смята се, че повишените нива на хомоцистеина водят до увреда на ендотелните клетки, намаляване на гъвкавостта на съдовете и промяна в процеса на хемостаза.

Хиперхомоцистеинемията предизвиква: урацилно инкрпориране в ДНК, повишаване нивата на проинфламаторните цитокини, намалена бионаличност на азотен оксид, оксидативен стрес и неправилно метилиране. Тези патологични процеси водят до развитието на клетъчна дисфункция и апаптоза на ендотелните клетки (фигура 2) [60].



Фигура 3. Клетъчен и молекулярен механизъм на хомоцистеинемията, индуцираща клетъчна дисфункция

Редица прочувания доказват, че при пациенти с псориазис се наблюдават понижаване стойностите на фолиева киселина и повишени стойности на хомоцистеин, което увеличава риска от съпътстващи заболявания при тези болни. Нивата на хомоцистеин директно корелират с тежестта на псориазиса, което доказва повишения риск от наличието на повече от една придружаващи заболявания при пациенти с тежък псориазис [36,40,46,61–65].

Витамин В12 и фолиевата киселина са субстанции, които широко се използват в лечението на псориазис, както самостоятелно, така и в комбинация с метотрексат. Неясно е, обаче, доколко заместителното лечение с тези ортомолекулярни вещества се опосредства от влияние върху метаболизма на хомоцистеина и респективно неговото отношение към кардио-васкуларния риск. Елиминирането на другите рискови фактори за хиперхомоцистеинемия, а именно затлъстяването, тютюнопушенето, дислипидемията и високото артериално налягане, може да даде отговор на въпроса каква е самостоятелната тежест на завишения в серума на псориазиците хомоцистеин и доколко той е обвързан с клиничната картина и прогнозата на кожното страдание.

## **2.5. Метионин**

Метионинът е сяро-съдържаща, протеиногенна аминокиселина, една от осемте есенциални аминокиселини, които организмът не може да ги произвежда и те трябва да се доставят с храната. Неговият метаболизъм има ключова роля в нормалната хомеостаза на клетката, като донор на сярни, полиаминни групи, и метиленови групи за биосинтезата на различни фосфолипиди, антиоксиданти, и съединения включени в транскрипцията на дезоксирибонуклеиновата киселина(ДНК) и трансляцията на рибонуклеиновата киселина(РНК).

По-голямата част от Met остатъци в глобуларните протеини се намира във вътрешната част на протеините. Остатъците, които са повърхностно разположени са податливи на окисление и се превръщат в метионин сулфоксидни остатъци, които могат да се превърнат отново в метионин под действието на ензима метионинсулфоксин редуктаза. Има предположения, че тези остатъци при нормални нива имат функцията на вътрешни антиоксиданти, докато при високите се асоциират с възрастово

асоциираните заболявания (невродегенеративни заболявания) [66]. Поради метаболитното превръщане на Met в SAM, той се явява важен прекурсор за реакциите на метилиране. Той е и междинен продукт в биосинтезата на цистеин, карнитин, таурин, лецитин, фосфатидилхолин и други фосфолипиди и представлява един от основните градивни елементи за някои критични протеини и хормони, например, L-карнитин, адреналин, холин и мелатонин. Също така е иницираща аминокиселина при синтеза на еукариотни протеини. Основният токсичен ефект на Met се асоциира с метаболитното му превръщане в хомоцистеин, което води до нарастване на хомоцистеинът в плазма и индуцира ендотелна дисфункция [67]. Неправилното метаболизиране на метионин може да доведе до атеросклероза [68].

Съществуват данни, че ограничаване консумацията на метионин може да доведе до удължаване на живота животните [67]. Има проучвания, които доказват, че ограничаването на метиониновото потребление води до намаляване канцерогенезата на дебелото черво при плъхове и подтиска застаряването при мишки [69,70]. От друга страна дефицитът на метионин в организма може да доведе до задържане на течности, податливост към инфекции и тенденция към косопад. Също така, може да предизвика или да обостри депресивните състояния, алергиите и да доведе до излишък на токсини [71]. По-ниските нива на метионин водят и до старческо побеляване на косата. Това се дължи на натрупването на водороден пероксид във фоликулите, намаляване на активността на тирозиназата и последваща загуба на цвета на косата [72]. В изследване е установено, че плъхове подложени на диета без метионин, развиват стеатоза, анемия и загубват две трети от телесното си тегло за 5 седмици. Включването на метионин води до подобряване на патологичните последствия от метиониновия дефицит [73]. Met участва в регулацията на киселинно-алкалното равновесие, поради което неговият подтиска растежа на

бактерии при цистит, тъй като повечето бактерии не могат да оцелеят в кисела среда [74]. Участва в метаболитните процеси на мозъка, поради което се използва в лечението на депресии, дегенеративноневрологични състояния и болест на Паркинсон [75].

Нейният метаболизъм има ключова роля за нормалната хомеостаза на клетките, като тя доставя сяра, пропиламинови групи и метиленови групи за биосинтезата на различни фосфолипиди, антиоксиданти, и съединения включени в ДНК транскрипцията и РНК транслацията (схема 1). В изследване на Garlick и екип е установено, че приемът на метионин води до влошаване на психологичното състояние на пациенти с шизофрения, но такива ефекти не се наблюдават при здрави хора [76].

## 2.6. SAM

SAM се образува при активирането на метионин, получен с храната от АТФ под действието на ензима S-метионин аденозилтрансфераза. Той участва в три важни типа реакции: трансметиране, транссулфуриране и аминокпропиране. При реакциите на трансметиране, SAM служи основно като универсален донор на метилови групи на редица акцептори включващи нуклеинови киселини, протеини, фосфолипиди и биологични амини. Въпреки, специфичните ензими катализиращи всяка една от тези реакции, общ продукт на метилиращите реакции е S-аденозилхомоцистеин (SAH). Повечето от SAM-зависимите реакции на метилиране са силно инхибирани при увеличаване нивото на SAH и понижаване на нивото на SAM. Следователно, отстраняването на SAH е жизнено важно. Той се хидролизира до хомоцистеин и аденозин чрез ензима SAH-хидролаза. Важно е да се отбележи, че тази хидролиза е обратима реакция, но с предпочетена синтеза на SAH. *In vivo*, реакцията върви в посока на

хидролиза само ако продуктите, аденозин и хомоцистеин се отстраняват бързо от клетката [71].

Чрез декарбоксилазната реакция SAM се включва в синтеза на полиамините като аминопропилов донор. Полиамините спермидин и спермин образуват от включването на аминопропиленови групи, доставени от SAM-DC, путресцин и спермидин, респективно. Тези две реакции се медираат от синтезите на спермина и спермидина [53,77,78].

През последните години е установено, че промените в нивата на SAM и SAH са свързани с няколко болестни състояния. Промени в нивата на тези два метаболита в цереброспиналната течност са били открити при ХИВ-позитивни пациенти [79]. Също така, понижени нива на SAM са били установени при пациенти, страдащи от дефицит на 10-метилентетрахидрофолат редуктаза, кобаламин и метионин аденозилтрансфераза [80]. Съществуват доказателства в литературата, че SAM е необходим за поддържането на миелиновата обвивка на невроните и че при пациенти със значителна демиелинизация, пероралното лечение със SAM води до значително подобрене [81]. Благоприятен ефект от приемът на SAM също е наблюдаван и при лечение на заболявания на централната нервна система, като депресия [71].

Полиамините се включват в множество физиологични процеси като клетъчния растеж, пролиферацията, диференциацията, имунитета, миграцията, генната регулация, както и в синтеза на протеини, и нуклеинови киселини [82].

## **2.7. Полиамини**

Полиамините са известни от много години, като първата, спермин, е открита през 1678год от Antony van Leeuwenhoek чрез микроскопско изследване на човешка сперма [83]. Намират се във всички еукариоти и

повечето прокариоти. Полиамините са поликатиони и една от основните им черти е да взаимодействат с негативно заредени молекули, като ДНК, РНК и протеини. Известна е тяхната безразборност при свързването, те взимат участие в редица функции на клетката, най-вече в клетъчния растеж, оцеляването и пролиферацията. Три полиамина – путресцин (Put), спермин (Spd) и спермидин (Spm), са част от много добре регулирания полиаминов метаболитен път[84]. Множество научни доказателства свидетелстват за централната роля на полиамините в процеса на кератиноцитна пролиферация, диференциация и регулация [43].

РА се синтезират от орнитин и са взаимнопревърщащи се. В нормалните клетки, нивата на полиамините са сложно контролирани от биосинтетични и катаболни ензими. Биосинтетичните ензими са орнитидин декарбоксилазата, S-аденозилметионин декарбоксилазата, спермидин синтаза и спермин синтаза. Катаболните ензими включват: спермидин/спермин ацетилтрансфераза, флавин съдържащ полиамин оксидаза, мед съдържащ диамин оксидаза, и вероятно други амин оксидази. Множество нарушения в контрола на полиаминния метаболизъм могат да бъдат отговорни за увеличения синтез на полиамини [85].

Полиамините са разпределени по различен начин в епидермалните и дермалните компоненти на нормалната кожа [86]. Концентрацията на полиамините варира значително в епидермиса и дермата, количествено и качествено: нивата на Spm и Spd са значително по-високи в епидермиса отколкото в дермата, а съотношението на Spd/Spm е много по-ниско в епидермиса. Налице е постоянно повишаване на Put от горната към долната част на епидермиса [87]. Тези различия показват, че РА играят специфична роля в епидермалния метаболизъм [88].

Ниските нива на РА водят до понижена клетъчна пролиферация и миграция, дефекти в развитието на ембриона. Повишените им нива водят апоптоза и клетъчна трансформация [53]. В активно пролифериращи клетки и при

патологични състояния - рак, инфекции, псориазис, уремия, хроничен нефрит, чернодробна цирроза, кистозна фиброза, инсулино-зависим диабет и Алцхаймер, са открити завишени стойности на РА [89,90]. Кръвни проби от пациенти с псориазис показват два пъти повишени нива на Spd и Spm в сравнения с контролната група. Нивата на полиамините в кръв, урина и други биологични течности флукутират в зависимост от активността на заболяването [91]. Установено е увеличаване на Put, Spd и Spm в псориазична лезия. Съотношението на Spd/Spm, което се разглежда като индикатор за пролиферативната активност, е установено, че е увеличено в псориазичните лезии, сравнено със здрава кожа от хора със заболяването [92].

В проучвания върху метаболити на хомоцистеина, получаващи се по реметилизацият път, показват завишаване на техните стойности в псориазични лезии. По аналогия може да се предположи, че е възможна положителна корелация между количеството на хомоцистеина в кожни проби, серум и слюнка на пациентите с псориазис. Установяването на такава зависимост би била от голям патогенетичен интерес, допълнително верифицирайки важното значение на полиамините в индукцията на бенигнената кератиноцитна пролиферация. Също така, тя би дала възможност за въвеждането на хомоцистеина като допълнителен диагностичен и прогностичен критерий при пациентите с хронично-рецидивиращо протичане на псориазис вулгарис. Не на последно място, такава корелация би пояснила фармакодинамичния механизъм на отдавна използваните в практиката на дерматолога субстанции – фолиева киселина и витамин В12 - за успешно купиране на рецидивите на псориазис.

## 2.8. Ефект на витамините от група В

Активните форми на витамини от група В (вит. В12, фолиева киселина, вит. В6 и рибофлавин) заедно с бетаин, участват в регулацията на ензимите на метаболизма на сяра съдържащата аминокиселина хомоцистеин [52,93–95]. Метаболизма на хомоцистеин е свързващ между цикъла на метионин с фолатния цикъл (схема 1). В голяма част тъкани и клетки основен или единствен за превръщането на хомоцистеина до метионин е трансферът на метилна група от 5-метилтетрахидрофалата до хомоцистеин, катализиран от ензима метионин синтаза, който е вит. В12 зависещ ензим. Продукт на тази реакция е тетраhydrofolat, който се превръща в 5-метилтетрахидроfolat чрез фолатния цикъл. Редукцията на 5,10-метилентетрахидроfolat до 5-метилтетрахидроfolat във фолатния цикъл, катализираща се от метилентетрахидроfolat редуктаза, изискващ FAD (доставен от рибофлавин) като простетична група [96]. В алтернативната реакция, при която се метаболизира хомоцистеин до метионин, като в нея донор на метилна група е бетаин. Метаболитно активната форма на вит. В6 (пиридоксал фосфат) е необходима за ензимите цистатионин- $\beta$ -синтаза и цистатионин- $\gamma$ -лиаза, участващи в катаболизма на хомоцистеин до сулфати по транссулфуриращия път. Тези витамини, действащи като кофактори, коензими и простетични групи са тясно свързани с нивата на хомоцистеин. Приложението витамините от група В е широко използвана с цел понижаване новата на хомоцистеин. Прилагат се вит. В6, В12, фолиева киселина и бетаин [51,52,94,95].

Провеждани са множество проучвания относно добавки на витамини от групата В в превенцията на сърдечно-съдовите заболявания, но те не са показали положителен ефект. Различни са резултатите по отношение на способността на В-витамините да предотвратяват сърдечно-съдовите инциденти при пациенти, които вече имат установени сърдечно-съдови

заболявания. Проведеното клинично проучване от Vazzano и колеги (2006) проследява влиянието на фолиевата киселина при пациенти с установени сърдечно-съдови заболявания и не е открит ефект от приложението [97]. В проучване проведено през 2008 са изследвани ефекта на фолиева киселина, вит. В12 и вит. В6 върху риска от смъртност вследствие сърдечно-съдови инциденти при пациенти, при които е провеждана ангиография. Не е наблюдавано подобрене. В проучване от 2016 е оценен цялостния ефект на добавка на фолиева киселина върху риска сърдечно-съдови заболявания, исхемична болест на сърцето и инсулт. Наблюдавани са 10% редукция на риска от инсулт, 4% редукция на риска от сърдечно-съдови заболявания, няма сигнификантна полза от добавката на фолиева киселина върху исхемичната болест на сърцето [98].

### **3. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ**

- Цел на настоящият труд е да се изследват нивата на хомоцистеин и негови метаболити в кожни лезии, слюнка и серум, и да се провери евентуална връзка между тях при пациенти с хронично – рецидивираща форма на псориазис вулгарис, неасоцииран с други заболявания в контекста на метаболитния синдром.

Бяха поставени следните задачи:

- Изследване нивата на метионин, хомоцистеин, путресцин, спермидин и спермин в серум, слюнка, лезия и незасегнатата кожа при пациенти с псориазис
- Сравняване нивата на изследваните метаболити в лезия и здрава кожа от пациенти с псориазис

- Да се изследва възможната връзка между нивата на изследваните метаболити в кожни проби
- Да се оцени корелацията от нивата на всеки един анализ между отделните типове проби
- Изследване на евентуална връзка между нивата на хомоцистеин и повишения синтез на полиамини

## **4. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ**

### **4.1. Материал**

#### **4.1.1. Набиране на пациенти**

В проучването взеха участие 24 пациенти с хронично-рецидивиращ псориазис вулгарис, плакатна форма. Критериите за включване в изследването бяха:

1. възраст > 18 години;
2. заболяемост > 1 година;
3. преустановено системно или локално лечение, включително фототерапия, минимум 2 седмици преди провеждане на изследването;
4. клинични форми на заболяването – еруптивен, хронично-рецидивиращ, еритродермичен.

Критерии за изключване:

1. обезитет /BMI>22/;
2. прием на лекарства, предизвикващи хомоцистеинемия;
3. прием на системна анти-псориатична терапия, включително метотрексат, фолиева киселина, ацитретин;

4. метаболитен синдром, бъбречна или чернодробна недостатъчност, системен лупус еритематозус, хипотиреоидизъм, централен или периферен съдов инцидент.

#### **4.1.2. Вземане на биопсичен материал**

При стерилни хирургични условия по предварително описан и въведен в практиката протокол бяха проведени повърхностни шейв биопсии от лезионална кожа при пациенти с псориазис. Тъканните проби бяха взети от лумбалната зона на пациентите за осигуряване на относително еднакви условия в дебелината на епидермалната компонента. Пробите от здрава кожа бяха взети от гърба на пациента, на минимум 5см разстояние от псориазичните лезии.

#### **4.1.3. Вземане на кръвни проби**

Вземат се венозни кръвни проби от всички участници на гладно и се събират в хепаринизирани епруветки.

#### **4.1.4. Вземане на проба от слюнка**

За събиране на проби от слюнка участниците бяха помолени да предоставят проба от 2 ml. Бяха инструктирани да събират материала в пластмасови полиетиленови контейнери.

Всички взети проби в това число кожни проби, серум и слюнка са съхранявани при  $-80^{\circ}\text{C}$  до момента на провеждане на съответните анализи.

## **4.2. Методи**

### **4.2.1. Проби от серум и слюнка**

Приблизително 0,5 ml проби от серум и слюнка се центрофугират при 13000 об / мин и 4 ° C в продължение на 10 минути. Към аликвота от 50 µl супернатанта бяха добавен 20 µl TCEP.HCl (10 g / l във вода). Реакционната смес се инкубира в продължение на 20 минути при 45 ° C и се добавят 50 µl 0,1 M перхлорна киселина. След това, пробите се центрофугират при 13500 об / мин и 4 ° C в продължение на 10 минути.

### **4.2.2. Кожни проби**

Кожните плаки бяха хомогенизирани в 300 µl 1M HClO<sub>4</sub> с помощта на миксер (MICCRA 1, ART, Germany) при 26 000 rpm. След което пробоподготовката продължава по процедурата описана за серум и слюнка.

### **4.2.3. Дериватизационна процедура**

Към 70 µl от супернатантата бяха добавени 20 µl 8M акриламид и пробата беше инкубирана 20 мин. при температура 45° C, след което бяха добавени 120 µl буфер (0.5M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/NaHCO<sub>3</sub>, 5 mM EDTA) и 200 µl FAESC (5 mM в ACN). След инкубиране в продължение на 1 час при стайна температура пробата беше подкислена с 30 µl HCl. Преди анализ пробата беше разредена 1:1 с ACN:H<sub>2</sub>O (50:50).

### **4.2.4. LC-MS/MS анализ**

Хроматографският анализ на дериватите на хомоцистеин, метионин, спермидин и спермин беше извършен на система за BETX Surveyor® Plus,

която се състои от бинарна градиентна помпа, аутосемплер и PDA детектор (ThermoScientific Co, USA). Хроматографското разделяне беше извършено на колона XTerra C18 (I.D. 2.1 mm x 150 mm, 3,5  $\mu$ m размер на частиците) при поток 250  $\mu$ l/min и използване на следните подвижни фази: А- 10 mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> във вода (pH=7.3); В - (90:10) ACN : Фаза А. Градиентът, който беше използван е следният: 18 % В за 2 min; 18-50 % В за 3 min; 50-100 % В за 11 min; 100 % В за 2 min; 100-18 % В за 1 min и 18 % В за 3 min.

Определянето беше извършено на LTQ Orbitrap® Discovery мас спектрометър (ThermoScientific Co, USA) оборудван с модул за електро спрей йонизация IonMax® (ThermoScientific Co, USA). Пълният спектър на всяка проба беше снет в обхвата m/z 150-1500 в режим на положителна йонизация. Разделителната способност, при която беше извършен анализът на Orbitrap е 15000. Всички мас параметри на Orbitrap бяха оптимизирани за постигане на максимална чувствителност по отношение на изследваните анализи. Мас параметрите на Orbitrap бяха следните: напрежение на спрея 3.8 kV, Spray current 100  $\mu$ A, Sheath gas flow rate 40, Auxiliary gas flow rate 15, Sweep gas flow rate 2, напрежение на капилярата 36 V, температура на капилярата 280°C, и tube lens 125 V. Преходите избрани за количествено определяне бяха: Hcy m/z 490.10→m/z 339.1139, Met m/z 433.10→m/z 339.1139, Spd m/z 995.30→m/z 738.2730 и Spm m/z 1335.40→m/z 1078.3950. Колизионната енергия също беше оптимизирана и стойността и за всички деривати бе CID 35 %. Събирането и обработката на получените данни беше извършено на XCalibur® software package (ThermoScientific Co, USA). Количественото определяне беше извършено на базата на външна калибрация.

#### **4.2.5. Статистически анализ**

Статистиката се осъществяват с помощта на Sigma Plot 12.0 (Systat Software, Inc, Сан Хосе, Калифорния, САЩ). Данните са представени като средна

стойност  $\pm$  SEM (стандартна грешка на средната стойност). За да се оценят разликите в средните стойности между отделните групи се използват student two tailed t-test. Разликите в нивото на  $P < 0.05$  се считат за статистически значими. Количествените зависимости между отделните променливи бяха оценени чрез корелационни коефициенти на Pearson.

Статистическа значимост на получените корелационни коефициенти:

$0 < R < 0.3$  – слаба

$0.3 < R < 0.5$  – умерена

$0.5 < R < 0.7$  – значителна

$0.7 < R < 0.9$  – висока

$0.9 < R < 1$  – много висока

Средна стойност  $\pm$  SEM.

- \* индикира значителна разлика  $P < 0.05$  сравнено със здравата кожа;
- \*\* индикира значителна разлика  $P < 0.01$  сравнено със здравата кожа;
- \*\*\* индикира значителна разлика  $P < 0.001$  сравнено със здравата кожа;

### **4.3. Етични норми**

Проучването, при което е взет материал от човешка кожа, е проведено след получаване на одобрение от местната етична комисия-Комисия по етика на научните изследвания в Медицински университет – Сосия (КЕНИМУС). Всички участници получиха информация за целта на изследването и бяха включени в изследването след информирано съгласие.

## 5. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЯ

В проучването бяха включени 24 пациенти (13 мъже и 11 жени) с потвърдена клинично и хистологично диагноза псориазис вулгарис. Средно PASI е 15.5. пациентите бяха на възраст от 21 до 67 год. (средна възраст 44.1). Тежестта на заболяването се измерваше спрямо Psoriasis Area and Severity Index(PASI). Заболяване с PASI<10 се категоризира като леко, 10-20 средно-тежко, и >20 като тежък псориазис.

Бяха измерени нивата на Hcy, Met, Put, Spd и Spm в серум, слюнка, лезия и незасегнатата кожа. Всеки метаболит по отделно беше измерен във всички проби, корелацията на отделните метаболити във всяка отделна проба беше статистически оценена. Оценена е и разликата в нивата на метаболитите в лезия и незасегнатата кожа. Получените данни бяха нетипично разпределени и за оценка на разликите в определените нива бяха използвани медиани и непараметрични тестове за сравнение. Всички резултати, получени за изследваните показатели в пробите от серум, слюнка и кожа, изразени като средни стойности  $\pm$  SEM, и медиани (min & max) са дадени в таблица 4.

	<b>Serum</b> <b>[<math>\mu</math>M]</b>	<b>Saliva</b> <b>[<math>\mu</math>M]</b>	<b>Non-affected</b> <b>skin [<math>\mu</math>mol/g]</b>	<b>Lesional skin</b> <b>[<math>\mu</math>mol/g]</b>
	Specimen=24	Specimen=24	Specimen=24	Specimen=24
<b>Homocysteine</b>				
Mean $\pm$ SEM	37.849 $\pm$ 3.815	2.180 $\pm$ 0.358	0.129 $\pm$ 0.020	0.104 $\pm$ 0.013
Median	42.472	1.940	0.103	0.092
Min and max	7.748-66.765	0.333-6.720	0.017-0.397	0.012-0.278
Literature data of healthy subjects	9.99 $\pm$ 1.04 [20]	2.92 $\pm$ 2.27 [21]	-	
<b>Methionine</b>				
Mean $\pm$ SEM	23.473 $\pm$ 1.986	2.920 $\pm$ 0.726	0.731 $\pm$ 0.150	1.253 $\pm$ 0.211
Median	20.920	1.222	0.493	0.955
Min and max	8.582-48.304	0.161-13.052	0.023-2.379	0.060-3.433
Literature data of healthy subjects	25 $\pm$ 4 [22]	8.81 $\pm$ 5.94 [21]	-	
<b>Putrescine</b>				
Mean $\pm$ SEM	0.562 $\pm$ 0.024	243.501 $\pm$ 38.535	0.112 $\pm$ 0.016	0.124 $\pm$ 0.015
Median	0.582	222.124	0.087	0.123
Min and max	0.319-0.742	30.939-548.977	0.026-0.284	0.020-0.309
Literature data of healthy subjects	0.05 $\pm$ 0.03 [20] 0.24 $\pm$ 0.09 [23]	136.76 $\pm$ 111.97 [21]	0.19 $\pm$ 0.07 [5]	
<b>Spermidine</b>				
Mean $\pm$ SEM	0.556 $\pm$ 0.056	5.812 $\pm$ 0.842	0.747 $\pm$ 0.124	0.914 $\pm$ 0.106
Median	0.553	5.779	0.619	0.838
Min and max	0.208-1.292	0.711-14.922	0.137-2.971	0.109-1.938
Literature data of healthy subjects	0.07 $\pm$ 0.04 [20] 0.20 $\pm$ 0.05 [23]	3.21 $\pm$ 6.80 [21]	0.87 $\pm$ 0.14 [5]	
<b>Spermine</b>				
Mean $\pm$ SEM	3.875 $\pm$ 0.917	47.606 $\pm$ 9.651	0.856 $\pm$ 0.112	1.511 $\pm$ 0.141
Median	2.491	34.436	0.732	1.358
Min and max	0.001-12.257	10.641-188.986	0.276-1.841	0.354-3.193
Literature data of healthy subjects	0.03 $\pm$ 0.04 [20]	0.63 $\pm$ 0.67 [21]	0.69 $\pm$ 0.08 [5]	

Таблица 4. Изследвани нива на Hcy, Met, Put, Spd и Spm в серум, слюнка, лезия и здрава кожа от пациенти с псориазис, и нивата на тези метаболити в здрави хора от литературната справка.

## 5.1. Изследване на Hcy, Met, Put, Spd и Spm в серум

Стойностите на тоталния серумен Hcy са  $37.849 \pm 3.815 \mu\text{M}$ , стойности отговарящи на хиперхомоцистеинемия ( $\text{Hcy} > 15 \mu\text{M}$ ).

В проучване от 2006 год. на Malebra et al. са изследвани пациенти с псориазис без рискови фактори за покачване нивата на хомоцистеин и контролни пациенти. Изследването е установило покачване на нивата на хомоцистеина и понижаване на нивата на фолиевата киселина в серума на болните. Тези резултати се обясняват с факта, че ускорената пролиферация на кератиноцитите води до прекомерна консумация на фолива киселина, която се използва за метилирането на активно делящите се клетки. Понижените нива на фолиевата киселина водят до повишаване нивата на хомоцистеина [40].

В японско проучване от 2011 год. на Richetta et al. са изследвани 70 пациенти с псориазис и 30 души контролна група. Резултатите показали, че пациентите със средно тежък до тежък псориазис имат по – високи стойности на хомоцистеин от контролната група ( 56% от пациентите с псориазис срещу 20% от контролната група имат хиперхомоцистеинемия ( $\geq 15 \text{ mol/L}$ )). Установено е също така, че при пациентите с псориазис стойностите на хомоцистеин директно корелирали с тежестта на псориазиса, и в частност със стойностите на PASI (таблица 5). Контролната група са показали нормални стойности на хомоцистеина с изключение на 6/30, които са показали минимално покачване на нивата на хомоцистеин (между 15 и 20 mol/L) [61].

	PASI	MID homocysteine
Mild psoriasis	<10	8.6 $\mu\text{mol/L}$
Moderate psoriasis	10-20	17.5 $\mu\text{mol/L}$
Severe psoriasis	>20	21.6 $\mu\text{mol/L}$

Таблица 5. Пациенти с хиперхомоцистеинемия

Нашите резултати са в съответствие с документираните до настоящия момент данни за завишени стойности на хомоцистеина ( $\text{Hcy} > 15 \mu\text{M}$ ) при пациенти с псориазис [45,46,49,62–65]. От това може да се предположи, че една от причините за повишения коморбилитет при тези пациенти е тази хиперхомоцистеинемия.

Нивото на Met в серума е  $23.473 \pm 1.986 \mu\text{M}$ . Нивото на Met в серум при псориазис не се различава от това на здрави хора  $25 \pm 4 \mu\text{M}$  [99].

Нивата на полиамините в серума са  $0.562 \pm 0.024 \mu\text{M}$  за Put,  $0.556 \pm 0.056 \mu\text{M}$  за Spd и  $3.875 \pm 0.917 \mu\text{M}$  за Spm. Получените резултати са по-високи от нормалните концентрации за тези метаболити в литературата ( $0.24 \pm 0.09 \mu\text{M}$  за Put,  $0,20 \pm 0,05 \mu\text{M}$  за Spd и  $0,03 \pm 0,04 \mu\text{M}$  за Spm [100,101]. Възниква въпроса дали повишените нива на полиамините стоят в етиологията на Пс, или са в резултат на засилената епидермална пролиферация (те се отделят в големи количества в системната циркулация). За потвърждаване на последното твърдение свидетелства повишеното серумно ниво на полиамините при неопластични процеси [91].

## 5.2. Изследване на Hcy, Met, Put, Spd и Spm в слюнка

Нивата на Hcy, Met и Spd в слюнка са  $2.180 \pm 0.358 \mu\text{M}$ ,  $2.920 \pm 0.726 \mu\text{M}$  и  $5.812 \pm 0.842 \mu\text{M}$ . Получените резултати са в нормата (Hcy  $2.92 \pm 2.27$  [100][102], Met  $2.920 \pm 0.726$  [100][102] и Spd  $5.812 \pm 0.842$  [100][102]). Резултатите за Put и Spm в слюнка са  $243.501 \pm 38.535 \mu\text{M}$  и съответно  $47.606 \pm 9.651 \mu\text{M}$ , които са значително по-високо от документираните

стойности при здрави хора Put  $136.76 \pm 111.97 \mu\text{M}$  и Spm  $0.242 \pm 0.568 \mu\text{M}$  [100] [102].

Наблюдаваната разлика в нивото на Spm и Put в слюнка би могла да се използва като биомаркер при псориазис. В множество проучвания са изследвани компоненти на слюнката при пациенти с псориазис, като слюнчен тотален протеин, IgA, IgG, лизозим, С-реактивен протеин (CRP), и хаптоглобин. Слюнчените биомаркери биха могли да бъдат полезни за проследяване на тежестта на псориазиса, прогнозата и да бъдат ценни диагностични методи в бъдеще [103].

### **5.3. Изследване на Hcy, Met, Put, Spd и Spm в лезия и нелезионална кожа**

Тъканните нива на Hcy определени в лезия и здрава кожа са илюстрирани на Фигура 4. В сравнение с нивото на Hcy в здравата кожа, в лезията се наблюдава леко понижение (здрава кожа  $0.129 \pm 0.020 \mu\text{M/g}$  и лезия  $0.104 \pm 0.013 \mu\text{M/g}$ ). Наблюдаваното понижение не е статистически значимо ( $p = 0.587$ ). До колкото ни е известно в литературата няма данни за нивата на Hcy нито в биопсичен материал от пациенти с псориазис, нито от здрави лица. Получените резултати индикират, че изследването на тъканните нива на Hcy нямат диагностична стойност и не могат да служат като показател за степента на коморбилитет при засегнатите лица.

В сравнение с нивото на Met в здравата кожа, в лезията се наблюдава значително повишение (здрава кожа  $0.731 \pm 0.150 \mu\text{M/g}$  и лезия  $1.253 \pm 0.211 \mu\text{M/g}$ ). Разликата между наблюдаваните нива е статистически значима ( $p = 0.047$ ). До този момент в литературата не са известни данни за изследване на нивото на Met в материал от биопсична проба от пациенти с псориазис, както и от здрави такива. Получените резултати предполагат, че метаболизма на Met е засегнат в лезиите. Това предположение се подкрепя

и от факта, че вит. В12 и фолиева киселина, които играят ключова роля в метаболизма му, са ключови и при псориазис [104].

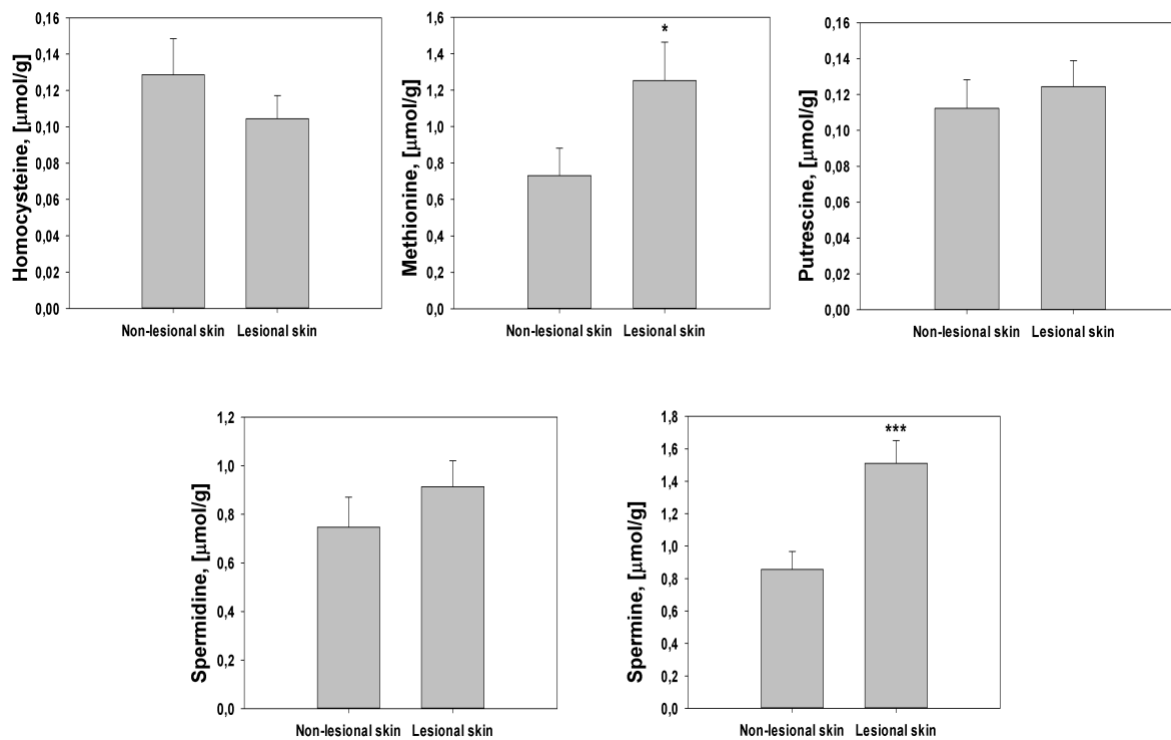
Нивата на Put в здрава кожа и лезия е статистически незначима (здрава кожа  $0.112 \pm 0.06 \mu\text{M/g}$  и лезия  $0.124 \pm 0.015 \mu\text{M/g}$ ;  $p=0.410$ ).

В сравнение с нивото на Spd в здравата кожа, в лезията се наблюдава статистически не значимо повишение (здрава кожа  $0.747 \pm 0.124 \mu\text{M/g}$  и лезия  $0.914 \pm 0.106 \mu\text{M/g}$ ;  $p = 0.125$ ) [43,44].

В сравнение с нивото на Spm в здравата кожа, в лезията се наблюдава повишение (здрава кожа  $0.856 \pm 0.112 \mu\text{M/g}$  и лезия  $1.511 \pm 0.141 \mu\text{M/g}$ ).

Наблюдаваната разлика е статистически значима с  $p = 0.002$ . Получените резултати са в съответствие с данните декларираны в литературата [43,44].

Поради наблюдаваните повишени нива на Met и Spm бихме могли да предположим, че метаболизма на Met е изтеглен в посока синтеза на полиамини и в частност Spm. Това предположение се потвърждава и от факта, че в клиничната практика се препоръчва ниско протеинова диета, която би повлияла на Met и от там на полиамините.



Фигура 4. Сравнение нивата на Hcy, Met, Put, Spd и Spm в незасегнатата кожа и лезионална кожа от пациенти с псориазис

#### 5.4. Корелации между нивата на изследваните метаболити

Беше оценена корелацията между нивата на всички изследвани метаболити във всички видове анализирани проби. Целта на това проучване беше да се провери евентуалната връзка между нивата на метаболитите в отделните проби, както и помежду им.

При сравняване на корелацията между Spd и Spm (табл. 6A) в серум се наблюдава слаба пропорционална корелация, която е следствие метаболизма на полиамините – Spd е прекурсор на Spm и те са взаимопревръщащи се [53].

Корелацията между Spd и Met в серум (табл. 6B) е значителна ( $r = 0.650$  и  $p = 0.002$ ). Полученият резултат показва, че в серума има връзка между нивата на Met и Spd.

Между нивата на Met и Spt (табл. 6C) в серум не се наблюдава корелация ( $r = 0.396$  и  $p = 0.091$ ).

Между нивата на Hcy и Met (табл. 6D) в серум се наблюдава умерена корелация ( $r = 0.498$  и  $p = 0.034$ ).

Не се наблюдава корелация между нивата на Hcy и Spt (табл. 6E) в серум ( $r = 0.202$  и  $p = 0.401$ ).

Не се наблюдава корелация между нивата на Hcy и Spd (табл. 6F) в серум ( $r = 0.439$  и  $p = 0.067$ ).

Не се наблюдава корелация между нивата на Put и Spd (табл. 6I) в серум ( $r = 0.835$  и  $p < 0.001$ ).

Не се наблюдава корелация между нивата на Put и Spt (табл. 6K) в серум ( $r = 0.037$  и  $p = 0.871$ ).

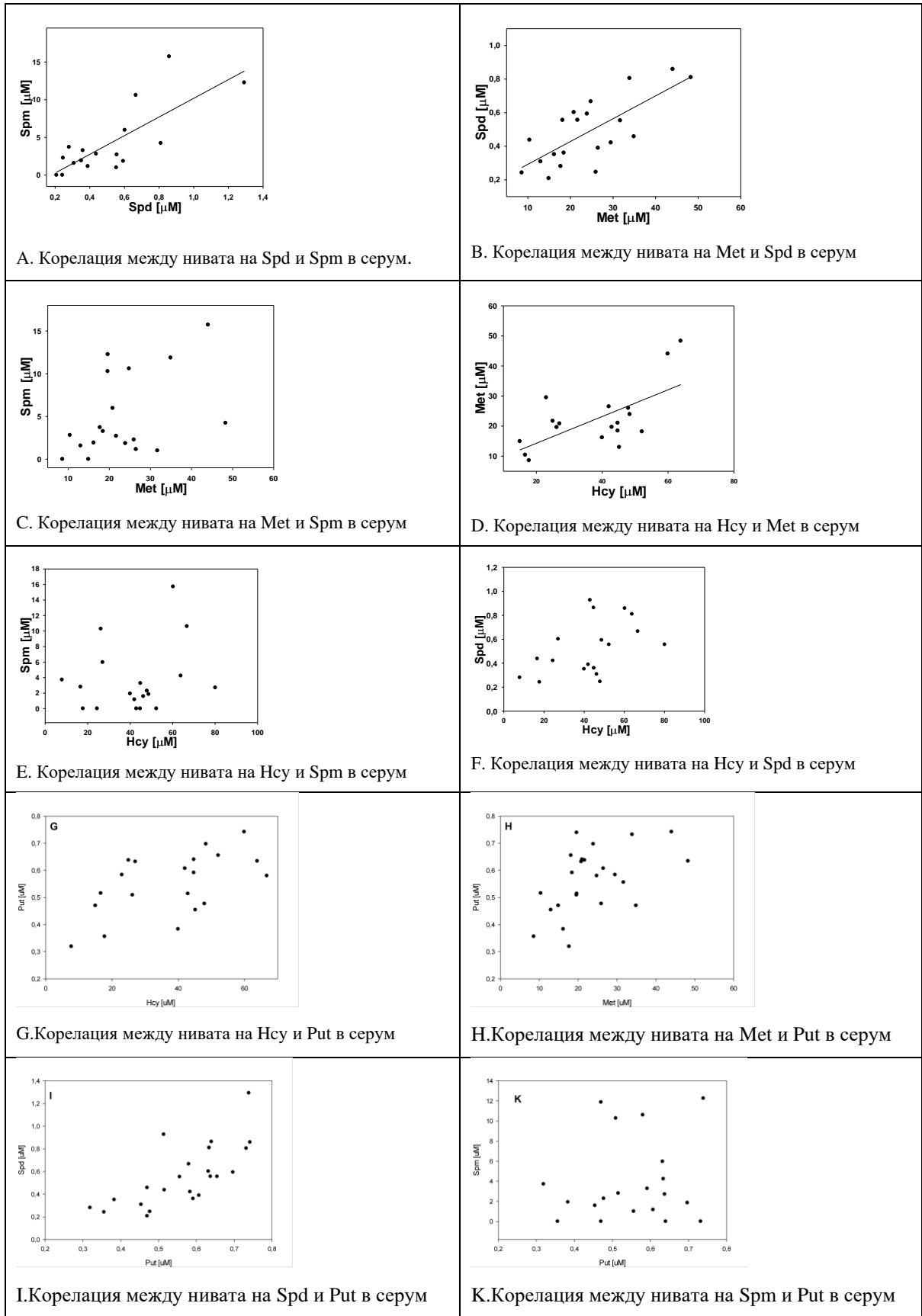


Таблица 6: Корелация между нивата на изследваните метаболити в серум.

Не се наблюдава статистически значима корелация между нивата на Spd и Spm (табл. 7A) в слюнка ( $r = 0.426$  и  $p = 0.060$ ). Причина за това може да бъде наличието на полиамините в различни храни като зеленчуци и месо, и тяхната евентуална акумулация в слюнката [105].

Корелацията, която се наблюдава между нивата на Met и Spd (табл. 7B) е висока ( $r = 0.734$  и  $p < 0.001$ ). Полученият резултат показва, че в слюнката има корелация между нивата на Met и Spd.

Не се наблюдава корелация между нивата на Met и Spm (табл. 7C) в слюнка ( $r = 0.033$  и  $p = 0.886$ ).

Наблюдава се висока корелация между нивата на Hcy и Met (табл. 7D) в слюнка ( $r = 0.716$  и  $p < 0.001$ ).

Не се наблюдава корелация между нивата на Hcy и Spm (табл. 7E) в слюнка ( $r = 0.360$  и  $p = 0.107$ ).

Наблюдава се много висока корелация между нивата на Hcy и Spd (табл. 7F) в слюнка ( $r = 0.932$  и  $p < 0.001$ ).

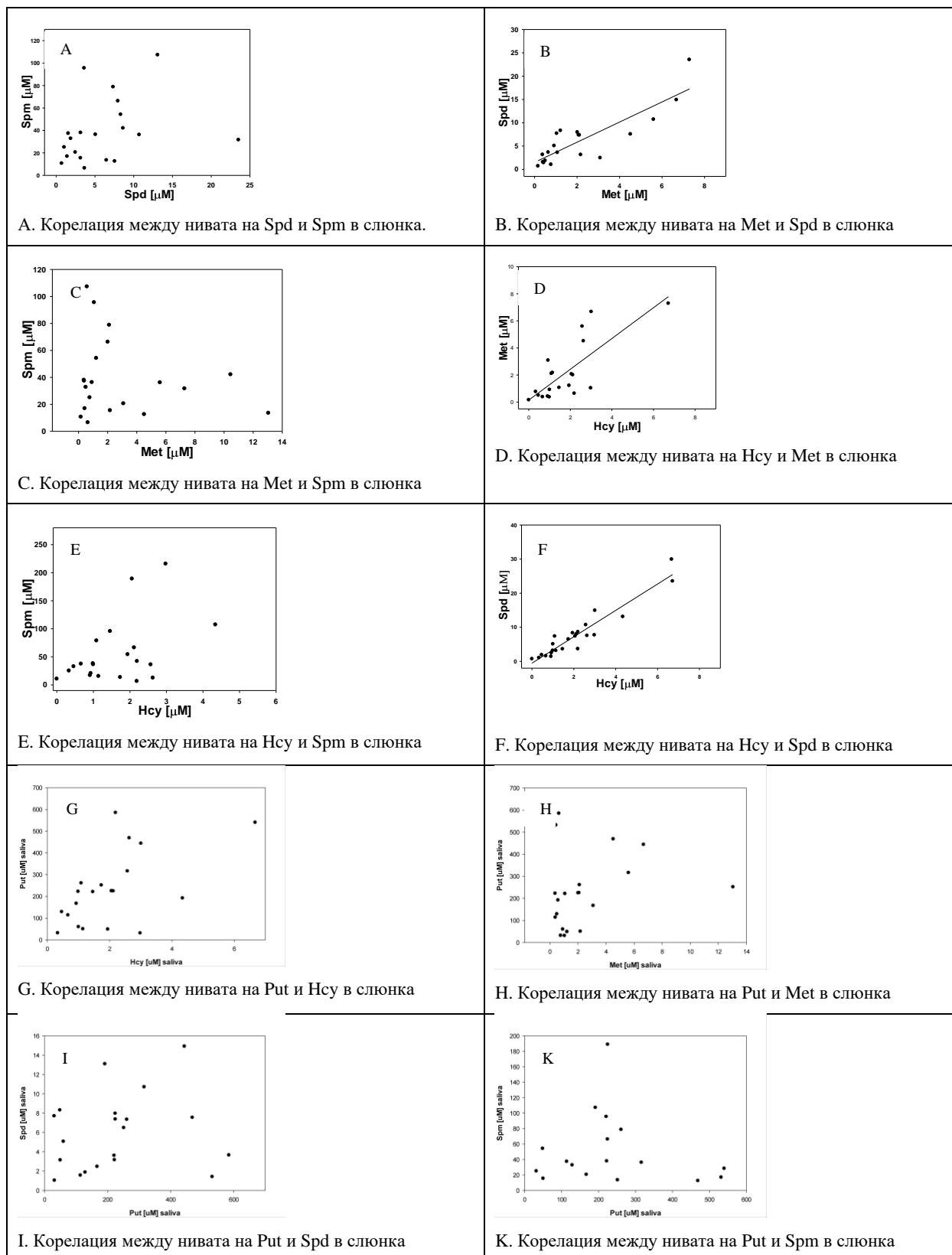


Таблица 7: Корелация между нивата на изследваните метаболити в слюнка.

Наблюдава се корелация между нивото на Hcy и Met (табл. 8A) в здрава кожа ( $r = 0.6$  и  $p = 0.04$ ).

Наблюдава се значителна корелация между нивото на Hcy и Spd (табл. 8B) в здрава кожа ( $r = 0.6$  и  $p = 0.05$ ).

Не се наблюдава корелация между нивото на Hcy и Spm (табл. 8C) в здрава кожа ( $r = 0.4$  и  $p = 0.059$ ).

Корелацията между нивото на Met и Spd (D) е значителна ( $r = 0.7$  и  $p < 0.001$ ). Полученият резултат индикира, че в серума има правопрпорционална връзка между нивата на Met и Spd.

Наблюдава се значителна корелация между нивото на Met и Spm (табл. 8E) в здрава кожа ( $r = 0.7$  и  $p < 0.001$ ).

Наблюдава се значителна корелация между нивото на Put и Spd (табл. 8F) в здрава кожа ( $r = 0.7$  и  $p < 0.001$ ).

Наблюдава се значителна корелация между нивото на Put и Spm (табл. 8G) в здрава кожа ( $r = 0.7$  и  $p < 0.001$ ).

Корелацията, която се наблюдава между нивото на Spd и Spm (табл. 8H) в здрава кожа е правопрпорционална, висока и статистически значима ( $r = 0.8$  и  $p = 0.004$ ). Полученият резултат индикира, че в здравата кожа нивата на тези два полиамина са тясно свързани и стриктно регулирани [53]. Потвърждава данните от литературата за повишено съотношение на Spm и Spd в здрава кожа. Това затвърдява предположението, че има нарушение в метаболизма на цялата кожа при пациенти с псориазис, а не само в лезиите [106].

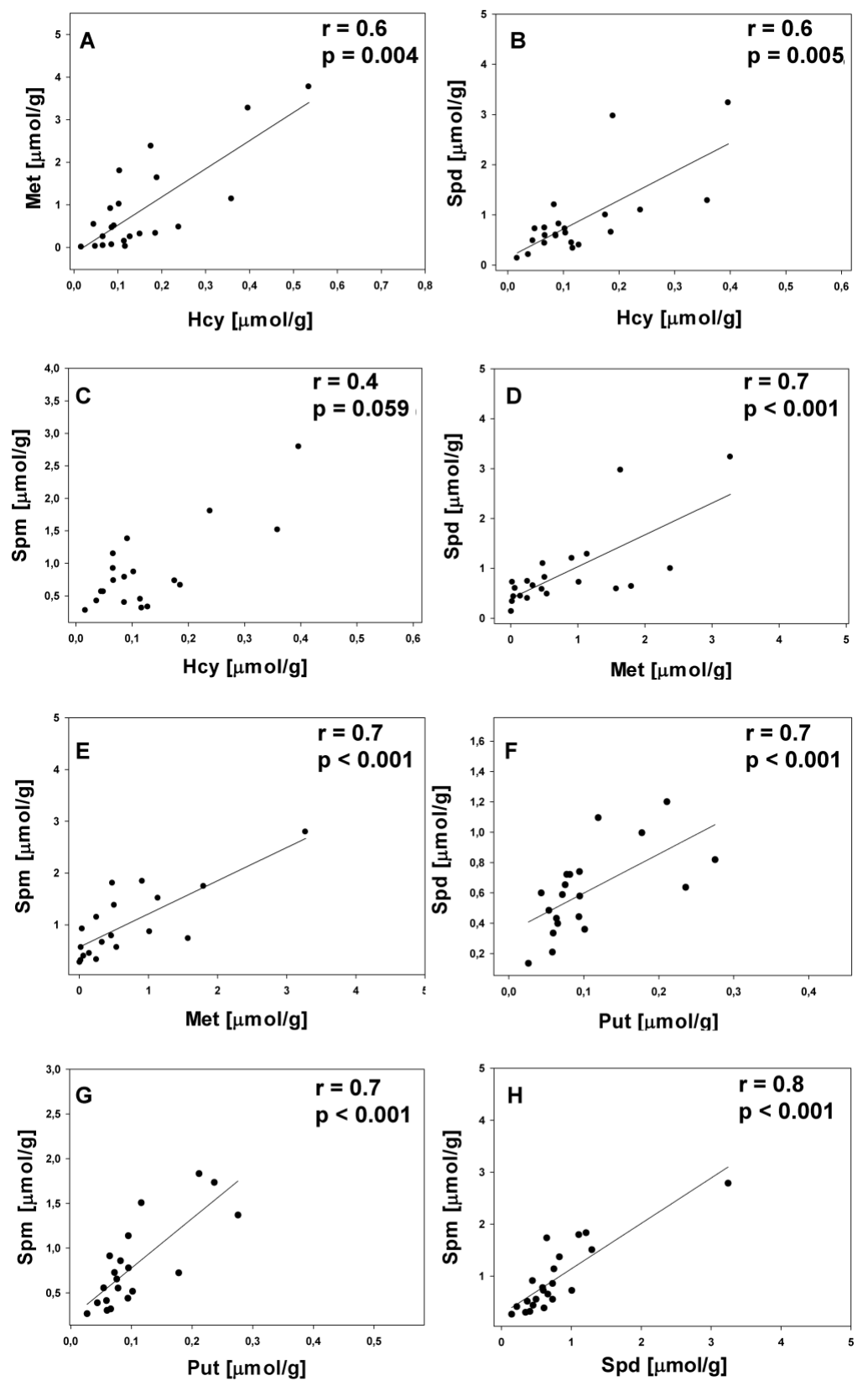


Таблица 8: Корелация между нивата на изследваните метаболити в здрава кожа.

На таблица 9А е представена корелацията между нивото на Hcy и Met в лезия. Не се наблюдава корелация между нивата на тези два метаболита в лезия ( $r = 0.3$  и  $p = 0.095$ ).

Не се наблюдава корелация между нивата на Hcy и Spd (табл. 9В) в лезия ( $r = 0.2$  и  $p = 0.469$ ).

Не се наблюдава корелация между нивата на Hcy и Spm (табл. 9С) в лезия ( $r = 0.1$  и  $p = 0.632$ ).

Не се наблюдава корелация между нивата на Met и Spd (табл. 9D) в лезия ( $r = 0.3$  и  $p < 0.129$ ).

Наблюдава се значителна корелация между нивата на Met и Spm (табл. 9Е) в лезия ( $r = 0.7$  и  $p < 0.001$ ). Откритията, че нивата на Met и Spm са значително по-високи в лезия, сравнено с незасегнатата кожа, и позитивната корелация Met/Spm, както и корелациите между нивата на полиамините в лезия, показват тясна връзка между тези метаболити в засегнатата кожа. Наблюдаваната стимулация на метионин декарбоксилазата в лезия и Spm синтезата, чрез включване на полиаминни групи, съответства с известния феномен на ниски АТФ нива в засегнатите тъкани. Освен това биопродукта на полиаминната биосинтеза може да бъде превърнат отново в метионин чрез „спасителния път“ на метионина [107].

Наблюдава се значителна корелация между нивата на Put и Spd (табл. 9F) в лезия ( $r = 0.7$  и  $p = 0.001$ ).

Наблюдава се корелация между нивата на Put и Spm (табл. 9G) в лезия ( $r = 0.6$  и  $p = 0.010$ ).

Корелацията, която се наблюдава между нивото на Spd и Spm (табл. 9H) в лезия е правопрпорционална, висока и статистически значима ( $r = 0.9$  и  $p < 0.001$ ). Данните потвърждават хипотезата за положителна корелация на Spd и Spm в лезионална кожа при пациенти с Пс [106]. Полученият резултат индикира, че в лезията нивата на двата полиамина също са свързани. Съотношението Spd/Spm, използвано като индикатор за пролиферативна

активност, беше 0.9 за незасегнатата кожа и 0.6 за лезия. Този резултат е в съответствие с данните докладвани от Броцилова и съавтори [43], но противоположно, не подкрепя хипотезата за позитивна корелация между тъканната пролиферативна активност в епидермиса и съотношението Spd/Spm. Въпреки това статистически значимото повишение в нивото на Spm в епидермиса засилва възможната роля на полиамините в епидермалната хиперплазия.

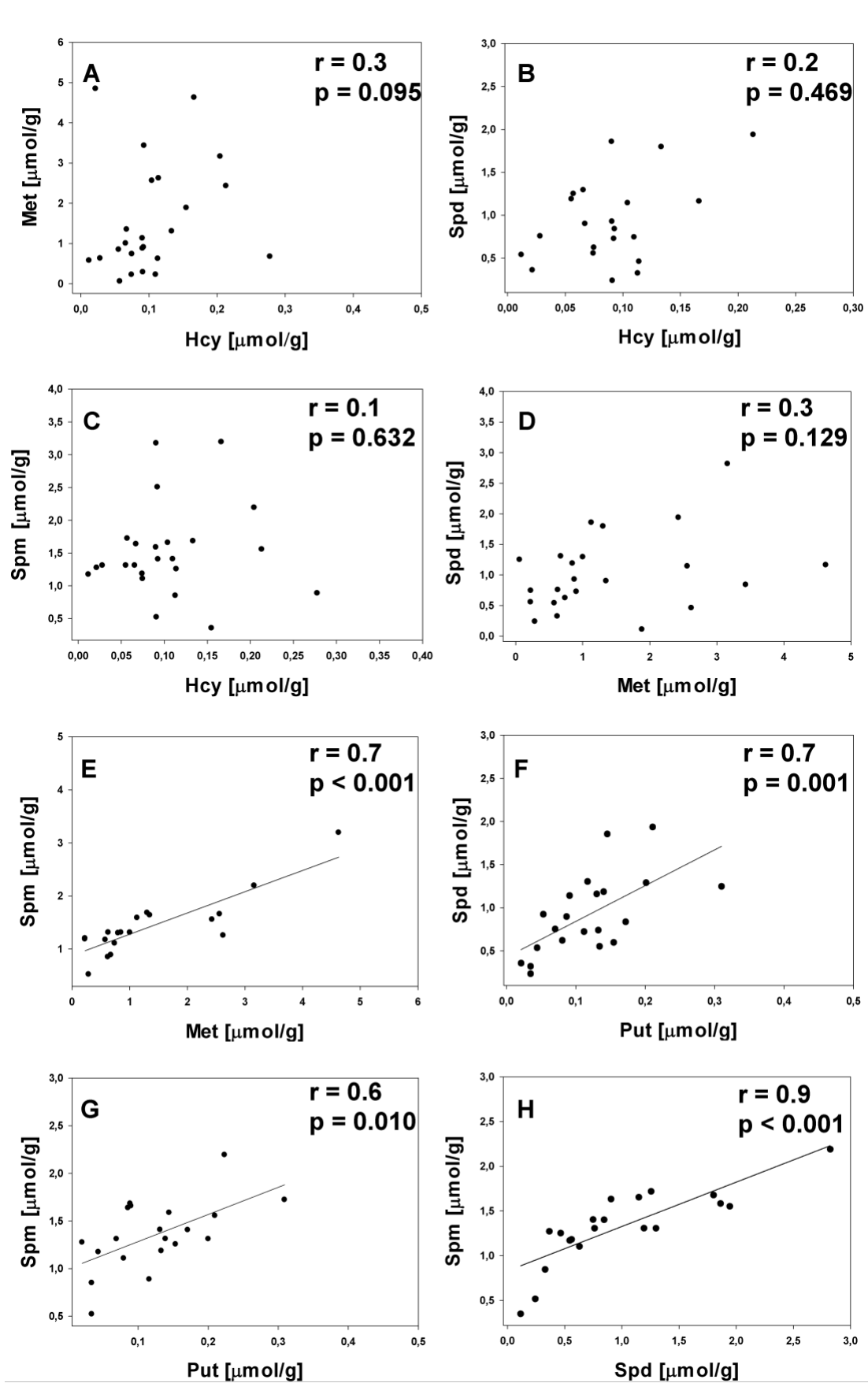


Таблица 9: Корелация между нивата на изследваните метаболити в лезия

Интересен е фактът, че в лезионална кожа, няма корелации между Hcy/Met, Hcy/Spd и Met/Spd. Липсата на корелации с Hcy нива в лезиите може да означава, че са нарушени нормалните Hcy метаболитни процеси в засеганата кожа. Променените нива на Hcy в лезиите може да бъдат обяснени както с ускорение, така и с подтискане на двата метаболитни пътя: транссулфориращият и реметилизиращият.

Значително положителни корелации ( $p \leq 0.01$ ) бяха открити между Met/Spm, Put/Spd, Put/Spm и Spd/Spm в двата типа изследвани кожни проби. Тези резултати показват, че метаболитният модел на изследваните метаболити при пациенти с псориазис е идентичен в лезионална и здрава кожа. Наблюдаваните промени в нивото на полиамините в лезии може да бъде обяснено с ускорения им синтез – на Spm в частност. В здрава кожа се установиха високи корелации между Hcy/Met, Hcy/Spd и Met/Spd, които не се наблюдават в лезионалната кожа. Тези резултати, заедно със сигнификантно повишените нива на Met и Spm в лезии, показват, че високите полиаминни нива могат да бъдат в резултат на нарушения метаболизъм на Hcy, по-точно в смущения в транссулфориращия път. Това е в съответствие с факта, че SAM (прекурсор на Hcy, Spd и Spm синтезата) е ключово определящ фактор в регулацията на метаболизма на Hcy. Натрупването на SAM стимулира транссулфориращия път чрез увеличаване активността на цистатион  $\beta$ -синтазата (CBS) и намалява нивото на потенциално цитотоксичния Hcy. Duran и съавтори показват, че намаляването на тъканната концентрация на SAM индуцира забавяне на Hcy катаболизъм чрез транссулфориращия път [49]. В подкрепа на това твърдение е положителната корелация между Spd/Spm в кожата, която други автори са интерпретирани като индикация за главната роля на S-аденозил-L-метионин декарбоксилаза – ензим отговорен за декарбоксилацията на SAM [44].

Ускорението на РА синтеза може да доведе до изчерпване на SAM. От което следва, че е възможно да се засегне метилиращата способност на клетката, реметилиращия и транссулфориращия път на Hcy метаболизъм. Промените в тези метаболитни реакции могат да доведат до хипометилизация, намалени нива на цистеин и глутатион, и въздействието на антиоксидантната активност на клетките. Всички тези аномалии са съобщени при пациенти с псориазис [34][42]. Освен това тези предположения са подкрепени от докладваните данни относно ползите от ниско протеиновата диета при пациенти с псориазис [34].

### **5.5. Корелации между отделните проби на един и същи метаболит**

Направи се сравнение на нивата на отделните проби на един и същи метаболит с цел неинвазивен метод на диагностика, и по-конкретно изследване на слюнка.

Използването на неинвазивни методи на диагностика би довело по-достъпен начин на събиране на изследвания материал. Тези методи биха причинили по-малка психическа травма за болните, особено за пациентите с псориазис, при които всяка психическа травма би могла да доведе до нов тласък на заболяването. За събирането на такъв материал (по-конкретно слюнка) не е необходим специално обучен за целта персонал, което също би улеснило цялостния процес по диагностика. Материалите, които се използват за събиране на пробите са много по-малко, което би довело до намаляване на финансовия ресурс.

На таблица 9А е представена корелацията между нивото на Hcy в серум и слюнка. Не се наблюдава корелация между нивата на Hcy в тези два вида проби ( $r = -0.047$  и  $p = 0.843$ ).

На таблица 10B е представена корелацията между нивото на Нсу в слюнка и лезия. Не се наблюдава корелация между нивата на Нсу в тези два вида проби ( $r = -0.259$  и  $p = 0.240$ ).

На таблица 10C е представена корелацията между нивото на Нсу в здрава кожа и лезия. Не се наблюдава корелация между нивата на Нсу в тези два вида проби ( $r = -0.108$  и  $p = 0.620$ ).

На таблица 10D е представена корелацията между нивото на Нсу в серум и здрава кожа. Не се наблюдава корелация между нивата на Нсу в тези два вида проби ( $r = 0.202$  и  $p = 0.401$ ).

На таблица 10E е представена корелацията между нивото на Нсу в серум и лезия. Не се наблюдава корелация между нивата на Нсу в тези два вида проби ( $r = 0.404$  и  $p = 0.085$ ). Въпреки липсата на корелация, имайки предвид наблюдаваната хиперхомоцистеинемия, евентуално „изтичане“ на Нсу в серума не може да бъде изключено.

На таблица 10F е представена корелацията между нивото на Нсу в слюнка и здрава кожа. Не се наблюдава корелация между нивата на Нсу в тези два вида проби ( $r = -0.021$  и  $p = 0.926$ ).

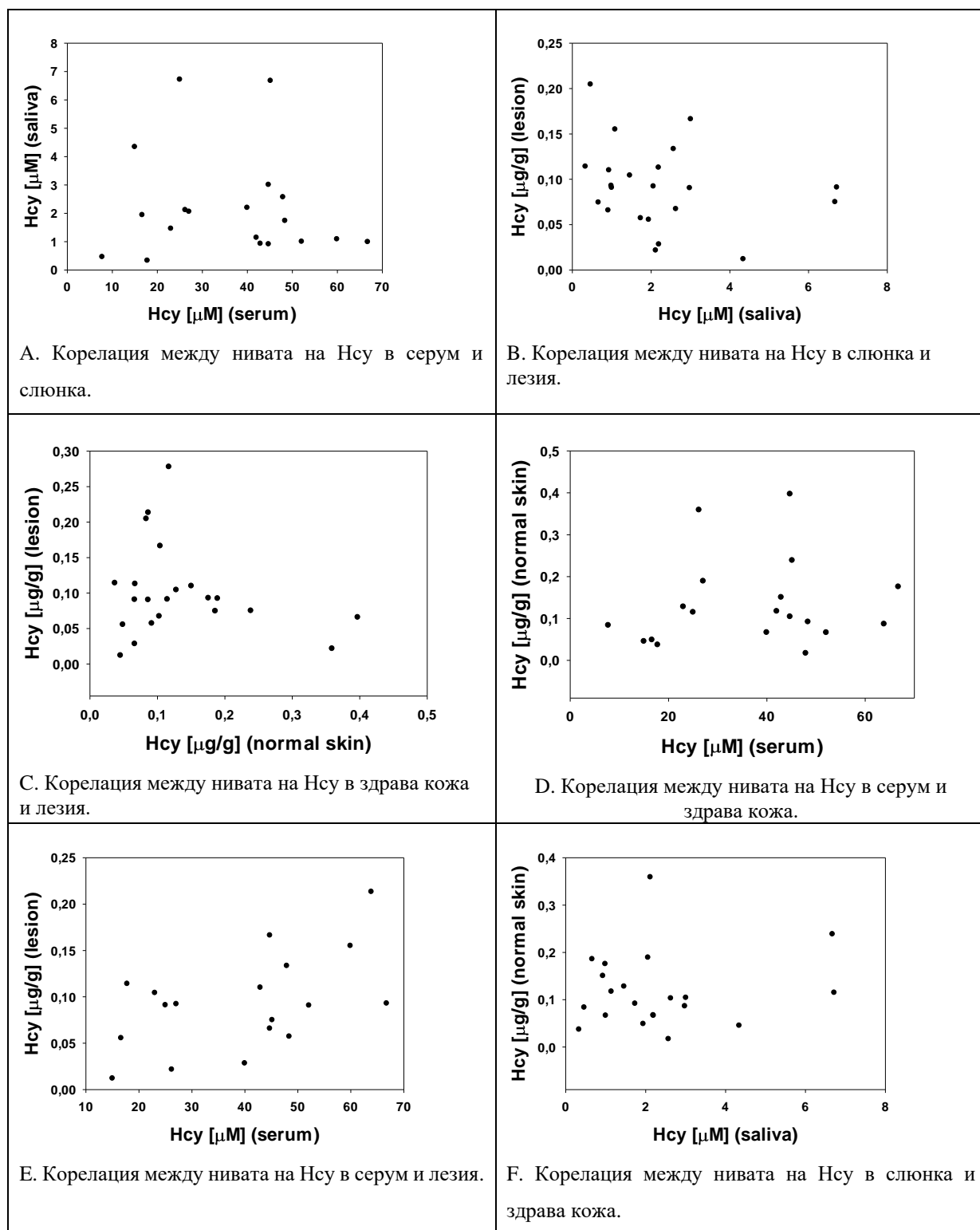


Таблица 10. Корелация между нивата на Нсу в различните проби.

На таблица 11А е представена корелацията между нивото на Met в серум и слюнка. Не се наблюдава корелация между нивата на Met в тези два вида проби ( $r = 0.029$  и  $p = 0.894$ ).

На таблица 11В е представена корелацията между нивото на Met в слюнка и лезия. Не се наблюдава корелация между нивата на Met в тези два вида проби ( $r = -0.260$  и  $p = 0.277$ ).

На таблица 11С е представена корелацията между нивото на Met в здрава кожа и лезия. Не се наблюдава корелация между нивата на Met в тези два вида проби ( $r = 0.436$  и  $p = 0.101$ ).

На таблица 11D е представена корелацията между нивото на Met в серум и здрава кожа. Не се наблюдава корелация между нивата на Met в тези два вида проби ( $r = -0.082$  и  $p = 0.720$ ).

На таблица 11Е е представена корелацията между нивото на Met в серум и лезия. Не се наблюдава корелация между нивата на Met в тези два вида проби ( $r = 0.146$  и  $p = 0.511$ ).

На таблица 11F е представена корелацията между нивото на Met в слюнка и здрава кожа. Не се наблюдава корелация между нивата на Met в тези два вида проби ( $r = -0.183$  и  $p = 0.433$ ).

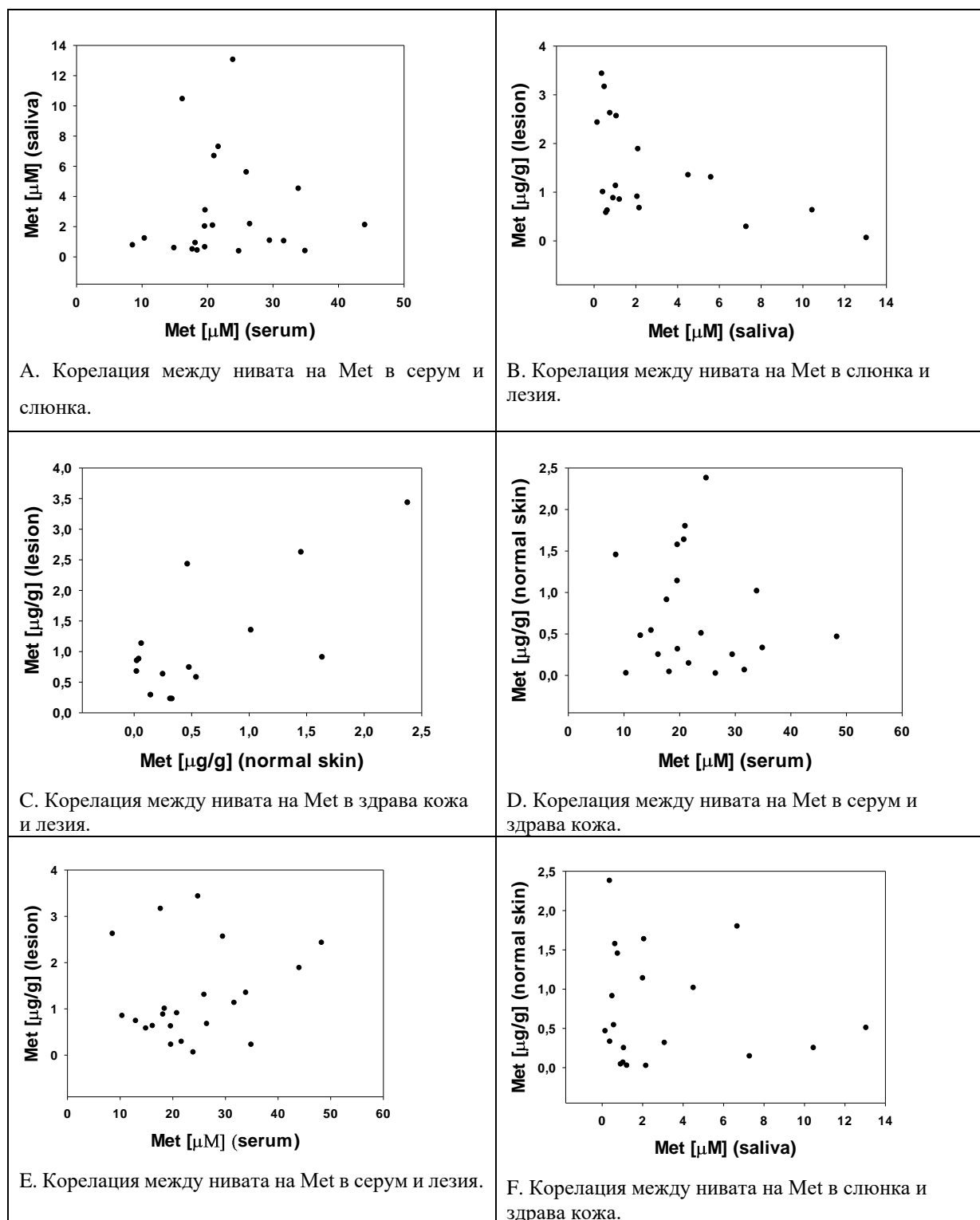


Таблица 11. Корелация между нивата на Met в различните проби.

На таблица 12А е представена корелацията между нивото на Spd в серум и слюнка. Не се наблюдава корелация между нивата на Spd в тези два вида проби ( $r = -0.023$  и  $p = 0.917$ ).

На таблица 10В е представена корелацията между нивото на Spd в слюнка и лезия. Не се наблюдава корелация между нивата на Spd в тези два вида проби ( $r = -0.031$  и  $p = 0.890$ ).

На таблица 12С е представена корелацията между нивото на Spd в здрава кожа и лезия. Не се наблюдава корелация между нивата на Spd в тези два вида проби ( $r = -0.075$  и  $p = 0.741$ ).

На таблица 12D е представена корелацията между нивото на Spd в серум и здрава кожа. Не се наблюдава корелация между нивата на Spd в тези два вида проби ( $r = -0.158$  и  $p = 0.487$ ).

На таблица 12Е е представена корелацията между нивото на Spd в серум и лезия. Не се наблюдава корелация между нивата на Spd в тези два вида проби ( $r = -0.091$  и  $p = 0.683$ ).

На таблица 12F е представена корелацията между нивото на Spd в слюнка и здрава кожа. Не се наблюдава корелация между нивата на Spd в тези два вида проби ( $r = 0.122$  и  $p = 0.603$ ).

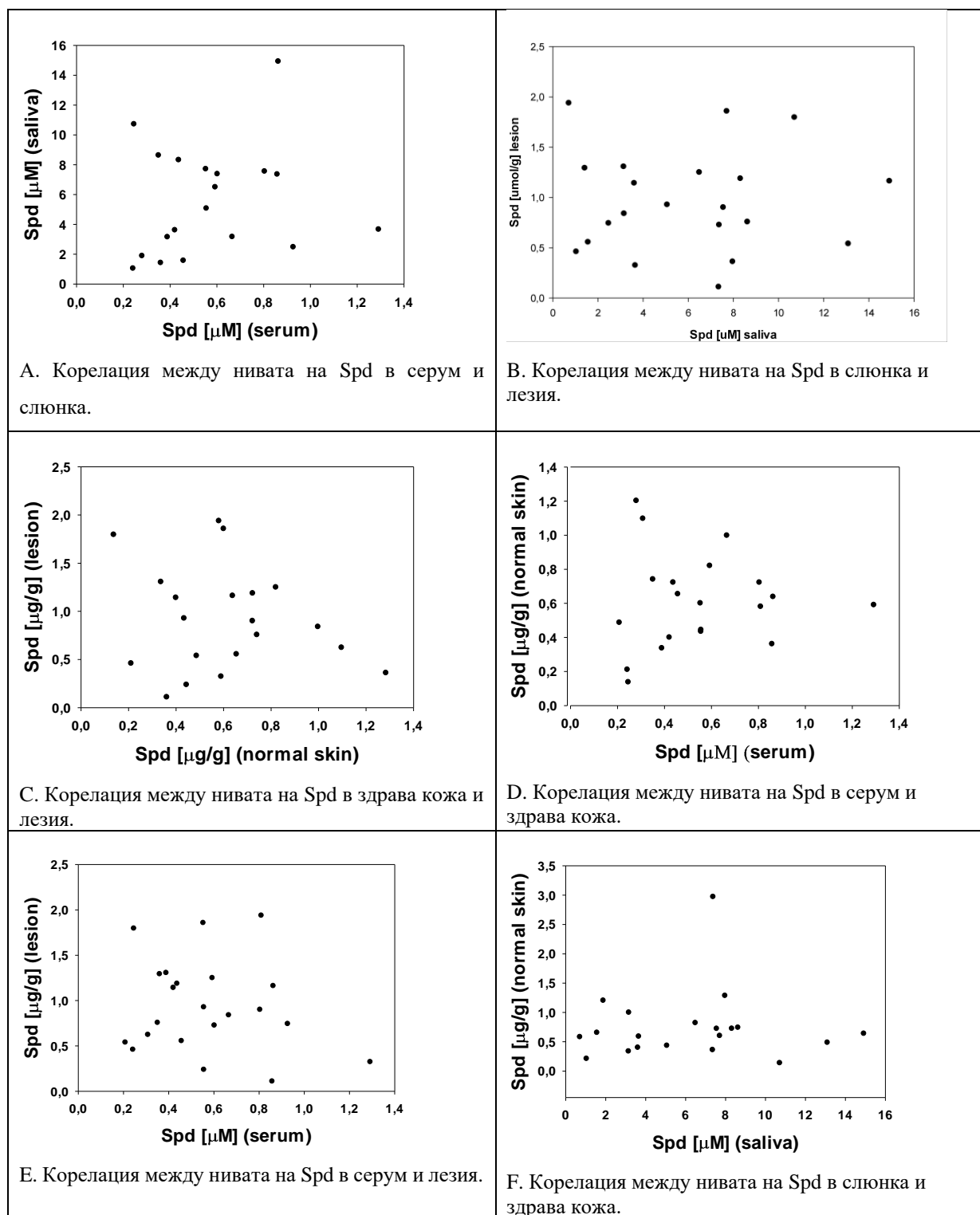


Таблица 12. Корелация между нивата на Spd в различните проби.

На таблица 13А е представена корелацията между нивото на Spm в серум и слюнка. Не се наблюдава корелация между нивата на Spm в тези два вида проби ( $r = 0.338$  и  $p = 0.179$ ).

На таблица 13В е представена корелацията между нивото на Spm в слюнка и лезия. Не се наблюдава корелация между нивата на Spm в тези два вида проби ( $r = 0.077$  и  $p = 0.771$ ).

На таблица 13С е представена корелацията между нивото на Spm в здрава кожа и лезия. Не се наблюдава корелация между нивата на Spm в тези два вида проби ( $r = 0.301$  и  $p = 0.181$ ).

На таблица 13D е представена корелацията между нивото на Spm в серум и здрава кожа. Не се наблюдава корелация между нивата на Spm в тези два вида проби ( $r = 0.096$  и  $p = 0.699$ ).

На таблица 13Е е представена корелацията между нивото на Spm в серум и лезия. Не се наблюдава корелация между нивата на Spm в тези два вида проби ( $r = -0.117$  и  $p = 0.617$ ).

На таблица 13F е представена корелацията между нивото на Spm в слюнка и здрава кожа. Не се наблюдава корелация между нивата на Spm в тези два вида проби ( $r = -0.159$  и  $p = 0.534$ ).

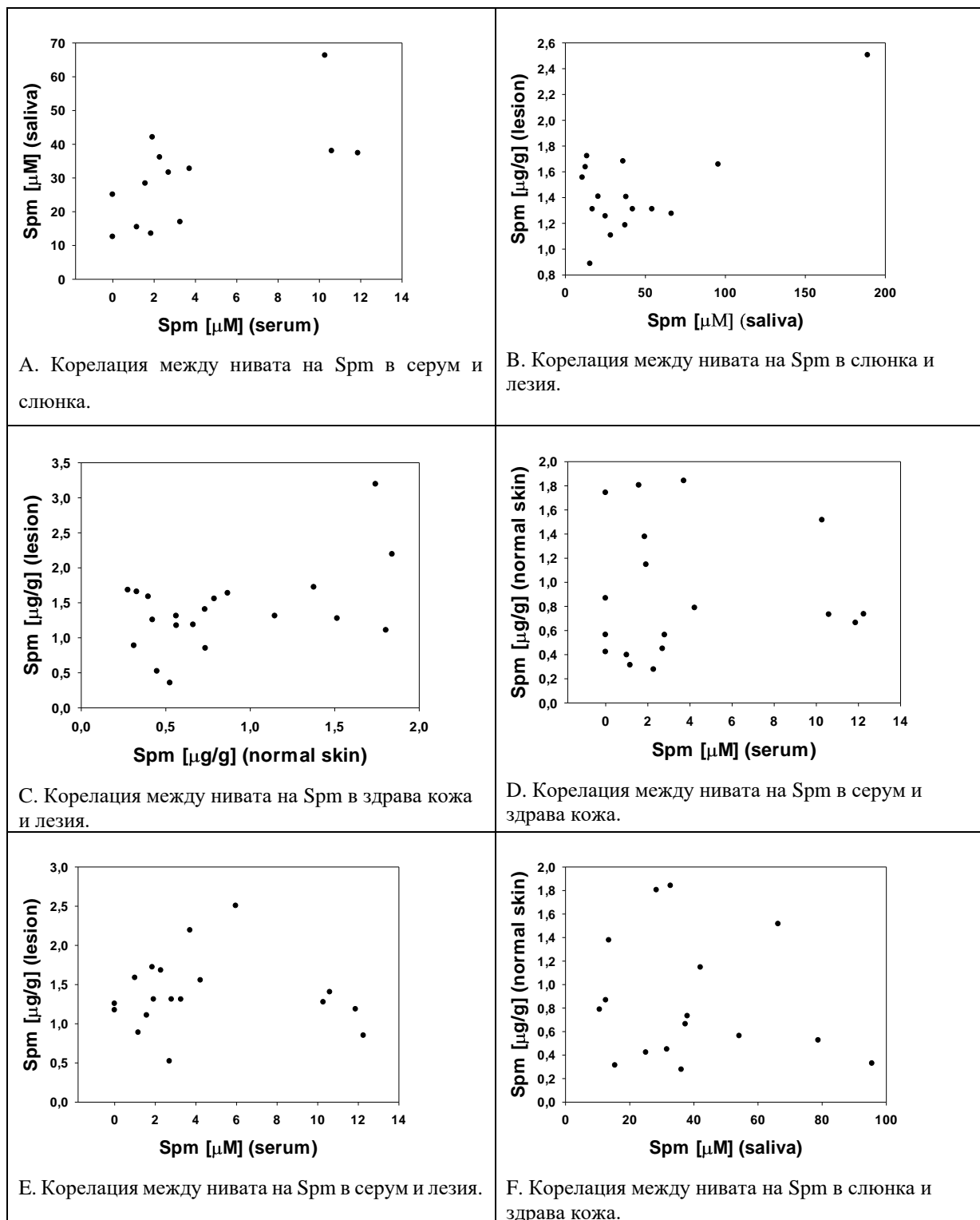


Таблица 13. Корелация между нивата на Spm в различните проби.

Не бяха открити корелация при нито един от изследваните метаболити, т.е. тези метаболити не могат да бъдат използвани за целите на неинвазивна диагностика.

## **6. ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

- 6.1. Нивата на хомоцистеин са повишени в серума на пациенти с псориазис, което се свързва с повишения коморбилитет при тези болни**
- 6.2. По-високото съдържание Spm в серума може да е резултат на засилената епидермална пролиферация и по-високото им отделяне в системната циркулация, или може да се предположи, че те стоят в етиологията на Пс.**
- 6.3. Нивата на Spm и Put са по-високи в слюнка, като те биха могли да се използват като биомаркер при пациенти с псориазис в бъдеще, ако бъдат направени допълнителни изследвания. При наличие на допълнителни доказателства биха били полезни за проследяване на тежестта на псориазис, прогнозата и да бъдат ценни диагностични методи.**
- 6.4. Нивата на Hsu в лезия от пациенти с псориазис нямат диагностична стойност, и не могат да служат като показател за степента на коморбилитетите при засегнатите лица**
- 6.5. Метаболизма на Met е засегнат в лезиите, поради промяната в неговото ниво в лезионална кожа**
- 6.6. По – високите нива на полиамините в лезия могат да бъдат в резултат на нарушения метаболизъм на Hsu, по-конкретно в смущение в трансулфориращия път.**
- 6.7. Поради липсата на корелации между отделните проби един и същ метаболит, тези метаболити не могат да бъдат използвани за метода на неинвазивна диагностика**

## **7. ПРИНОСИ**

### **Оригинални**

1. За първи път са изследвани нивата на метионин в кожа при пациенти с псориазис.
2. За първи път се изследва връзката на хомоцистеин с полиамините при пациенти с псориазис.
3. За първи път се изследват тъканните нива на хомоцистеин при псориазис

### **Научно-теоретични**

4. Липсата на корелации между пробите на един и същ метаболит показва, че те не могат да бъдат използвани за методите на неинвазивната диагностика.

## **8. БИБЛИОГРАФИЯ**

1. Takeshita J, Grewal S, Langan SM, Mehta NN, Ogdie A, Van Voorhees AS, et al. Psoriasis and comorbid diseases: Epidemiology. *J Am Acad Dermatol*. 2017 Mar;76(3):377–90.
2. Господинов Д. Клинико-епидемиологичен анализ на стационарно лекувани пациенти с псориазисна болест. *Дерматология и венерология*. 2012;50(2):37–43.
3. Capon F. The Genetic Basis of Psoriasis. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2017 Nov 25 [cited 2019 Jul 22];18(12). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5751129/>
4. Богданов И. Епидемиология и наследственост. In: Псориазисът системно заболяване. София: Спайс вижън; 2013. p. 14–21.
5. Gisondi P, Fostini AC, Fossà I, Girolomoni G, Targher G. Psoriasis and the metabolic syndrome. *Clin Dermatol*. 2018 Feb;36(1):21–8.

6. Di Meglio P, Villanova F, Nestle FO. Psoriasis. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2014 Aug 1;4(8).
7. Liang Y, Sarkar MK, Tsoi LC, Gudjonsson JE. Psoriasis: a mixed autoimmune and autoinflammatory disease. *Curr Opin Immunol.* 2017 Dec;49:1–8.
8. Morizane S, Gallo RL. Antimicrobial peptides in the pathogenesis of psoriasis. *J Dermatol.* 2012 Mar;39(3):225–30.
9. Morizane S, Yamasaki K, Mühleisen B, Kotol PF, Murakami M, Aoyama Y, et al. Cathelicidin antimicrobial peptide LL-37 in psoriasis enables keratinocyte reactivity against TLR9 ligands. *J Invest Dermatol.* 2012 Jan;132(1):135–43.
10. Nestle FO, Conrad C, Tun-Kyi A, Homey B, Gombert M, Boyman O, et al. Plasmacytoid dendritic cells initiate psoriasis through interferon- $\alpha$  production. *J Exp Med.* 2005 Jul 4;202(1):135–43.
11. Gregorio J, Meller S, Conrad C. . Plasmacytoid dendritic cells sense skin injury and promote wound healing through type I interferons. *J Exp Med.* 2010;207:2921–30.
12. Santini SM, Lapenta C, Donati S, Spadaro F, Belardelli F, Ferrantini M. Interferon- $\alpha$ -conditioned human monocytes combine a Th1-orienting attitude with the induction of autologous Th17 responses: role of IL-23 and IL-12. *PloS One.* 2011 Feb 28;6(2):e17364.
13. Leung DY, Travers JB, Giorno R, Norris DA, Skinner R, Aelion J, et al. Evidence for a streptococcal superantigen-driven process in acute guttate psoriasis. *J Clin Invest.* 1995 Nov;96(5):2106–12.
14. Nestle FO, Turka LA, Nickoloff BJ. Characterization of dermal dendritic cells in psoriasis. Autostimulation of T lymphocytes and induction of Th1 type cytokines. *J Clin Invest.* 1994 Jul;94(1):202–9.
15. Johnston A, Gudjonsson JE, Sigmundsdottir H, Love TJ, Valdimarsson H. Peripheral blood T cell responses to keratin peptides that share sequences with streptococcal M proteins are largely restricted to skin-homing CD8(+) T cells. *Clin Exp Immunol.* 2004 Oct;138(1):83–93.
16. Johnston A, Xing X, Wolterink L, Barnes DH, Yin Z, Reingold L, et al. IL-1 and IL-36 are dominant cytokines in generalized pustular psoriasis. *J Allergy Clin Immunol.* 2017 Jul;140(1):109–20.

17. Bissonnette R, Fuentes-Duculan J, Mashiko S, Li X, Bonifacio KM, Cueto I, et al. Palmoplantar pustular psoriasis (PPPP) is characterized by activation of the IL-17A pathway. *J Dermatol Sci.* 2017 Jan;85(1):20–6.
18. Sarac G, Koca TT, Baglan T. A brief summary of clinical types of psoriasis. *North Clin Istanbul.* 2016 Jun 14;3(1):79–82.
19. Богданов И, Грозев И. Климатолечение на псориазис. In Спайс вижън; 2013. p. 165–83.
20. Богданов И, Кадурина М, Ботев И, Василева С, Господинов Д, сътр. Актуализирано ръководство за лечение на псориазис с биологични продукти на българското дерматологично дружество. *Дерматология и венерология.* 2016;58(4):48–70.
21. Богданов И, Грозев И, Василева С, Господинов Д. Актуализиран консенсус за лечение на псориазис. *Дерматология и венерология.* 2016;54(1):38–47.
22. Jacobi A, Mayer A, Augustin M. Keratolytics and emollients and their role in the therapy of psoriasis: a systematic review. *Dermatol Ther.* 2015 Mar;5(1):1–18.
23. Митева Л, Богданов И. Пелоидотерапия на кожните заболявания в България. *Медицина и спорт.* 2010;2:38–42.
24. Traczewski P, Rudnicka L. Adalimumab in dermatology. *Br J Clin Pharmacol.* 2008 Nov;66(5):618–25.
25. Cingoz O. Ustekinumab. *mAbs.* 2009;1(3):216–21.
26. Frieder J, Kivelevitch D, Menter A. Secukinumab: a review of the anti-IL-17A biologic for the treatment of psoriasis. *Ther Adv Chronic Dis.* 2018 Jan;9(1):5–21.
27. Preuss CV, Quick J. Ixekizumab. *StatPearls [Internet].* 2019 [cited 2019 Jul 23]; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK431088/>
28. tremfya-epar-medicine-overview\_bg.pdf [Internet]. [cited 2022 Jan 4]. Available from: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/tremfya-epar-medicine-overview\\_bg.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/tremfya-epar-medicine-overview_bg.pdf)
29. Skyrizi (risankizumab) dosing, indications, interactions, adverse effects, and more [Internet]. [cited 2022 Jan 4]. Available from: <https://reference.medscape.com/drug/skyrizi-risankizumab-1000307#10>

30. Certolizumab Pegol: A Review in Moderate to Severe Plaque Psoriasis - PubMed [Internet]. [cited 2022 Jan 4]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32207094/>
31. Afifi L, Danesh MJ, Lee KM, Beroukhim K, Farahnik B, Ahn RS, et al. Dietary Behaviors in Psoriasis: Patient-Reported Outcomes from a U.S. National Survey. *Dermatol Ther*. 2017 Jun;7(2):227–42.
32. Ford AR, Siegel M, Bagel J, Cordoro KM, Garg A, Gottlieb A, et al. Dietary Recommendations for Adults With Psoriasis or Psoriatic Arthritis From the Medical Board of the National Psoriasis Foundation: A Systematic Review. *JAMA Dermatol*. 2018 01;154(8):934–50.
33. Wolters M. Diet and psoriasis: experimental data and clinical evidence. *Br J Dermatol*. 2005 Oct;153(4):706–14.
34. Passi S, Pità O, Cocchi M. Psoriasis and diet. *Prog Nutr*. 2004 Jan 1;6:231–47.
35. Kimball AB, Leonardi C, Stahle M, Gulliver W, Chevrier M, Fakharzadeh S, et al. Demography, baseline disease characteristics and treatment history of patients with psoriasis enrolled in a multicentre, prospective, disease-based registry (PSOLAR). *Br J Dermatol*. 2014 Jul;171(1):137–47.
36. Tobin A-M, Hughes R, Hand EB, Leong T, Graham IM, Kirby B. Homocysteine status and cardiovascular risk factors in patients with psoriasis: a case-control study. *Clin Exp Dermatol*. 2011 Jan;36(1):19–23.
37. McDonald CJ, Calabresi P. Thromboembolic disorders associated with psoriasis. *Arch Dermatol*. 1973 Jun;107(6):918.
38. Neimann AL, Shin DB, Wang X, Margolis DJ, Troxel AB, Gelfand JM. Prevalence of cardiovascular risk factors in patients with psoriasis. *J Am Acad Dermatol*. 2006 Nov;55(5):829–35.
39. Prodanovich S, Kirsner RS, Kravetz JD, Ma F, Martinez L, Federman DG. Association of Psoriasis With Coronary Artery, Cerebrovascular, and Peripheral Vascular Diseases and Mortality. *Arch Dermatol*. 2009 Jun 1;145(6):700–3.
40. Malerba M, Gisondi P, Radaeli A, Sala R, Calzavara Pinton PG, Girolomoni G. Plasma homocysteine and folate levels in patients with chronic plaque psoriasis. *Br J Dermatol*. 2006 Dec;155(6):1165–9.

41. Morgan SL, Baggott JE, Lee JY, Alarcón GS. Folic acid supplementation prevents deficient blood folate levels and hyperhomocysteinemia during longterm, low dose methotrexate therapy for rheumatoid arthritis: implications for cardiovascular disease prevention. *J Rheumatol.* 1998 Mar;25(3):441–6.
42. Zong W, Ge Y, Han Y, Yang X, Li Q, Chen M. Hypomethylation of HLA-DRB1 and its clinical significance in psoriasis. *Oncotarget.* 2017 Feb 14;8(7):12323–32.
43. Broshtilova V, Lozanov V, Miteva L. Comparative analysis of polyamine metabolism in benign and neoplastic keratinocytic proliferations. *Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat.* 2012;21(1):3–5.
44. Broshtilova V, Lozanov V, Miteva L. Polyamine Metabolism Changes in Psoriasis. *Indian J Dermatol.* 2013;58(4):306–9.
45. Cakmak SK, Gül U, Kiliç C, Gönül M, Soylu S, Kiliç A. Homocysteine, vitamin B12 and folic acid levels in psoriasis patients. *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV.* 2009 Mar;23(3):300–3.
46. Brazzelli V, Grasso V, Fornara L, Moggio E, Gamba G, Villani S, et al. Homocysteine, vitamin B12 and folic acid levels in psoriatic patients and correlation with disease severity. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2010 Sep;23(3):911–6.
47. Das M, Dawn I, Sarkar S, Das K. Plasma homocysteine levels in patients with Psoriasis. *Asian J Med Sci.* 2017 Aug 31;8(5):4–7.
48. Vanizor Kural B, Orem A, Cimşit G, Uydu HA, Yandi YE, Alver A. Plasma homocysteine and its relationships with atherothrombotic markers in psoriatic patients. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem.* 2003 Jun;332(1–2):23–30.
49. Durand P, Prost M, Loreau N, Lussier-Cacan S, Blache D. Impaired homocysteine metabolism and atherothrombotic disease. *Lab Investig J Tech Methods Pathol.* 2001 May;81(5):645–72.
50. Selhub J. Homocysteine metabolism. *Annu Rev Nutr.* 1999;19:217–46.
51. Miller AL, Kelly GS. Homocysteine Metabolism : Nutritional Modulation and Impact on Health and Disease. 2001;
52. Finkelstein JD. The metabolism of homocysteine: pathways and regulation. *Eur J Pediatr.* 1998 Apr;157 Suppl 2:S40-44.

53. Moinard C, Cynober L, de Bandt J-P. Polyamines: metabolism and implications in human diseases. *Clin Nutr Edinb Scotl*. 2005 Apr;24(2):184–97.
54. Lu SC. Glutathione synthesis. *Biochim Biophys Acta*. 2013 May;1830(5):3143–53.
55. Wu G, Fang Y-Z, Yang S, Lupton JR, Turner ND. Glutathione metabolism and its implications for health. *J Nutr*. 2004 Mar;134(3):489–92.
56. Brustolin S, Giugliani R, Félix TM. Genetics of homocysteine metabolism and associated disorders. *Braz J Med Biol Res Rev Bras Pesqui Medicas E Biol*. 2010 Jan;43(1):1–7.
57. Chen NC, Yang F, Capecci LM, Gu Z, Schafer AI, Durante W, et al. Regulation of homocysteine metabolism and methylation in human and mouse tissues. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol*. 2010 Aug;24(8):2804–17.
58. Gisondi P, Fantuzzi F, Malerba M, Girolomoni G. Folic acid in general medicine and dermatology. *J Dermatol Treat*. 2007;18(3):138–46.
59. Study of the Effectiveness of Additional Reductions in Cholesterol and Homocysteine (SEARCH) Collaborative Group, Armitage JM, Bowman L, Clarke RJ, Wallendszus K, Bulbulia R, et al. Effects of homocysteine-lowering with folic acid plus vitamin B12 vs placebo on mortality and major morbidity in myocardial infarction survivors: a randomized trial. *JAMA*. 2010 Jun 23;303(24):2486–94.
60. Forges T, Monnier P, Alberto J-M, Guéant-Rodriguez R-M, Daval J-L, L Guéant J. Impact of folate and homocysteine metabolism on human reproductive health. 2007 Jan 5;13.
61. Richetta A, Mattozzi C, Macaluso L, Cantisani C, Giancristoforo S, D'Epiro S, et al. Homocysteine plasmatic status in patients with psoriasis. *Eur J Dermatol EJD*. 2011 Aug 12;21:621–3.
62. Giannoni M, Consales V, Campanati A, Ganzetti G, Giuliadori K, Postacchini V, et al. Homocysteine plasma levels in psoriasis patients: our experience and review of the literature. *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV*. 2015 Sep;29(9):1781–5.
63. Das M, Dawn I, Sarkar S, Das K. Plasma homocysteine levels in patients with Psoriasis. *Asian J Med Sci*. 2017 Aug 31;8(5):4–7.

64. Wang W-M, Jin H-Z. Homocysteine: A Potential Common Route for Cardiovascular Risk and DNA Methylation in Psoriasis. *Chin Med J (Engl)*. 2017 Aug 20;130(16):1980–6.
65. Tsai T-Y, Yen H, Huang Y-C. Serum homocysteine, folate and vitamin B12 levels in patients with psoriasis: a systematic review and meta-analysis. *Br J Dermatol*. 2019 Feb;180(2):382–9.
66. Brosnan JT, Brosnan ME. The sulfur-containing amino acids: an overview. *J Nutr*. 2006;136(6 Suppl):1636S-1640S.
67. Miller RA, Buehner G, Chang Y, Harper JM, Sigler R, Smith-Wheelock M. Methionine-deficient diet extends mouse lifespan, slows immune and lens aging, alters glucose, T4, IGF-I and insulin levels, and increases hepatocyte MIF levels and stress resistance. *Aging Cell*. 2005;4(3):119–25.
68. Clarke R, Woodhouse P, Ulvik A, Frost C, Sherliker P, Refsum H, et al. Variability and determinants of total homocysteine concentrations in plasma in an elderly population. *Clin Chem*. 1998 Jan 1;44(1):102–7.
69. Richie JP, Leutzinger Y, Parthasarathy S, Malloy V, Orentreich N, Zimmerman JA. Methionine restriction increases blood glutathione and longevity in F344 rats. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol*. 1994 Dec;8(15):1302–7.
70. Komninou D, Leutzinger Y, Reddy BS, Jr JPR. Methionine Restriction Inhibits Colon Carcinogenesis. *Nutr Cancer*. 2006 Jul 1;54(2):202–8.
71. Lieber CS, Packer L. S-Adenosylmethionine: molecular, biological, and clinical aspects--an introduction. *Am J Clin Nutr*. 2002 Nov;76(5):1148S-50S.
72. Wood JM, Decker H, Hartmann H, Chavan B, Rokos H, Spencer JD, et al. Senile hair graying: H2O2-mediated oxidative stress affects human hair color by blunting methionine sulfoxide repair. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol*. 2009 Jul;23(7):2065–75.
73. Oz HS, Chen TheresaS, Neuman M. Methionine Deficiency and Hepatic Injury in a Dietary Steatohepatitis Model. *Dig Dis Sci*. 2008 Mar;53(3):767–76.
74. Günther M, Noll F, Nützel R, Gläser E, Kramer G, Stöhrer M. Harnwegsinfektprophylaxe. *Urol B*. 2002 Jun 1;42(3):218–20.

75. Krzystanek M, Pałasz A, Krzystanek E, Krupka-Matuszczyk I, Wiaderkiewicz R, Skowronek R. [S-adenosyl L-methionine in CNS diseases]. *Psychiatr Pol.* 2011 Dec;45(6):923–31.
76. Garlick PJ. Toxicity of methionine in humans. *J Nutr.* 2006;136(6 Suppl):1722S-1725S.
77. Ramani D, De Bandt JP, Cynober L. Aliphatic polyamines in physiology and diseases. *Clin Nutr Edinb Scotl.* 2014 Feb;33(1):14–22.
78. Bae D-H, Lane DJR, Jansson PJ, Richardson DR. The old and new biochemistry of polyamines. *Biochim Biophys Acta Gen Subj.* 2018;1862(9):2053–68.
79. Keating JN, Trimble KC, Mulcahy F, Scott JM, Weir DG. Evidence of brain methyltransferase inhibition and early brain involvement in HIV-positive patients. *Lancet Lond Engl.* 1991 Apr 20;337(8747):935–9.
80. Surtees R, Leonard J, Austin S. Association of demyelination with deficiency of cerebrospinal-fluid S-adenosylmethionine in inborn errors of methyl-transfer pathway. *Lancet Lond Engl.* 1991 Dec 21;338(8782–8783):1550–4.
81. Bottiglieri T, Hyland K. S-adenosylmethionine levels in psychiatric and neurological disorders: a review. *Acta Neurol Scand Suppl.* 1994;154:19–26.
82. Ramani D, De Bandt JP, Cynober L. Aliphatic polyamines in physiology and diseases. *Clin Nutr Edinb Scotl.* 2014 Feb;33(1):14–22.
83. Voorhees JJ. Polyamines and Psoriasis. *Arch Dermatol.* 1979 Aug 1;115(8):943–4.
84. Minois N, Carmona-Gutierrez D, Madeo F. Polyamines in aging and disease. *Aging.* 2011 Aug;3(8):716–32.
85. Thomas T, Thomas TJ. Polyamine metabolism and cancer. *J Cell Mol Med.* 2003 Jun;7(2):113–26.
86. Praskova M, Mitev V. Regulation of gene expression in epidermal keratinocytes. *Medicine.* 2002;10:15–9.
87. Baze PE, Milano G, Verrando P, Renee N, Ortonne JP. Distribution of polyamines in human epidermis. *Br J Dermatol.* 1985 Apr;112(4):393–6.

88. Nikolova E, Mitev V, Zhelev N, Deroanne C, Poumay Y. The suppression of Rac 1 expression alters cell proliferation in normal human skin fibroblast. *BBRC*. 2007;359:834–9.
89. Adibhatla RM, Hatcher JF, Sailor K, Dempsey RJ. Polyamines and central nervous system injury: spermine and spermidine decrease following transient focal cerebral ischemia in spontaneously hypertensive rats. *Brain Res*. 2002 May 31;938(1–2):81–6.
90. Seidl R, Beninati S, Cairns N, Singewald N, Risser D, Bavan H, et al. Polyamines in frontal cortex of patients with Down syndrome and Alzheimer disease. *Neurosci Lett*. 1996 Mar 15;206(2–3):193–5.
91. Proctor MS, Fletcher HV, Shukla JB, Rennert OM. Elevated spermidine and spermine levels in the blood of psoriasis patients. *J Invest Dermatol*. 1975 Oct;65(4):409–11.
92. Sakakibara S, Yoshikawa K. Urinary polyamine levels in patients with psoriasis. *Arch Dermatol Res*. 1979 Jun 25;265(2):133–7.
93. Obeid R, Herrmann W. Mechanisms of homocysteine neurotoxicity in neurodegenerative diseases with special reference to dementia. *FEBS Lett*. 2006 May 29;580(13):2994–3005.
94. Stanger O, Fowler B, Piertz K, Huemer M, Haschke-Becher E, Semmler A, et al. Homocysteine, folate and vitamin B12 in neuropsychiatric diseases: review and treatment recommendations. *Expert Rev Neurother*. 2009 Sep;9(9):1393–412.
95. Parletta N, Milte CM, Meyer BJ. Nutritional modulation of cognitive function and mental health. *J Nutr Biochem*. 2013 May;24(5):725–43.
96. Strain JJ, Dowey L, Ward M, Pentieva K, McNulty H. B-vitamins, homocysteine metabolism and CVD. *Proc Nutr Soc*. 2004 Nov;63(4):597–603.
97. Bazzano LA, Reynolds K, Holder KN, He J. Effect of folic acid supplementation on risk of cardiovascular diseases: a meta-analysis of randomized controlled trials [Internet]. Database of Abstracts of Reviews of Effects (DARE): Quality-assessed Reviews [Internet]. Centre for Reviews and Dissemination (UK); 2006 [cited 2022 Mar 17]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK72905/>

98. Li Y, Huang T, Zheng Y, Muka T, Troup J, Hu FB. Folic Acid Supplementation and the Risk of Cardiovascular Diseases: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *J Am Heart Assoc.* 5(8):e003768.
99. Cynober LA. Plasma amino acid levels with a note on membrane transport: characteristics, regulation, and metabolic significance. *Nutr Burbank Los Angel Cty Calif.* 2002 Sep;18(9):761–6.
100. Saito A, Takagi T, Chung TG, Ohta K. Serum levels of polyamines in patients with chronic renal failure. *Kidney Int Suppl.* 1983 Dec;16:S234-237.
101. Sakata K, Kashiwagi K, Sharmin S, Ueda S, Igarashi K. Acrolein produced from polyamines as one of the uraemic toxins. *Biochem Soc Trans.* 2003 Apr;31(2):371–4.
102. Dame ZT, Aziat F, Mandal R, Krishnamurthy R, Bouatra S, Borzouie S, et al. The human saliva metabolome. *Metabolomics.* 2015 Dec 1;11(6):1864–83.
103. Asa'ad F, Fiore M, Alfieri A, Pigatto PDM, Franchi C, Berti E, et al. Saliva as a Future Field in Psoriasis Research. *BioMed Res Int.* 2018;2018:7290913.
104. Lin X, Meng X, Song Z. Homocysteine and psoriasis. *Biosci Rep.* 2019 Nov 22;39(11):BSR20190867.
105. Ali MA, Poortvliet E, Strömberg R, Yngve A. Polyamines in foods: development of a food database. *Food Nutr Res [Internet].* 2011 Jan 14 [cited 2019 Aug 11];55. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3022763/>
106. Lowe NJ, Breeding J, Russell D. Cutaneous polyamines in psoriasis. *Br J Dermatol.* 1982;107(1):21–6.
107. Finkelstein JD. Methionine metabolism in mammals. *J Nutr Biochem.* 1990 May;1(5):228–37.

**Публикации, свързани с дисертационния труд:**

- Silviya Ruseva , Inna Popova , Valentin Lozanov and Vanio Mitev ,  
Insight into the Metabolite Pattern of Psoriasis: Correlation among

Homocysteine, Methionine, and Polyamines , Symmetry 2021, 13, 606  
(IF 3.11)

- И. Попова, С. Русева, Ж. Лозанов, Л. Митева, Из метаболизма на псориазис: корелации между хомоцистеин, метионин, спермидин и спермин в слюнка, серум и кожа, GP news, 2020, 6
- И. Попова, В. Лозанов, Л. Митева, Хомоцистеин и коморбилитет при псориазис – взаимовръзки и корелации, GP news 2016,10
- И. Попова, М. Камушева, Хр. Боденска, Л. Митева, Г. Петрова, Социалноикономическа тежест на псориазиса и съпътстващите го заболявания,Обща медицина 2017, 19(1): 56-68

#### **Участия, свързани с дисертационния труд:**

- И. Попова, В. Лозанова, Л. Митева, Ролята на хомоцистеина в коморбилитета на псориазиса, Пролетни варненски дерматологични дни, Златни пясъци, България, , 07-10.04.2016(орална презентация)
- И. Попова, В. Лозанов, Л. Митева, Хомоцистеин и фолиева киселина – връзка с коморбилитета при псориазис, Софийски дерматологични дни “Проф. Асен Дурмишев” , София, България 04-07.11.2016(орална презентация)