

STUDIUL MICROBIOMULUI LA PACIENȚII CU PSORIAZIS

*Microbiome analysis in patients with psoriasis*Asist. Univ. Dr. Ionela Manole^{1,2}, Prof. Dr. George-Sorin Țiplica^{1,3}¹ Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila”, București, România² Nucleu de cercetare Dermatologie, Spitalul Clinic Colentina, București, România³ Clinica Dermatologie 2, Spitalul Clinic Colentina, București, România

REZUMAT

Psoriazisul este o afecțiune cutanată ce apare ca urmare a interacțiunii dintre factori genetici predispozanți, factori imunologici și triggeri externi. Studiile efectuate au evidențiat rolul important deținut de stafilococul auriu sau de streptococul Pyogenes în inducerea, întreținerea sau exacerbarea leziunilor de psoriazis. Astfel, se consideră că studiul microbiomului cutanat la pacienții cu psoriazis este extrem de important și complementar cercetărilor din domeniul genetic și imunologic. Progresele noi în tehnologiile de secvențiere de nouă generație permit o mai bună înțelegere privind alterarea mecanismelor genetice în psoriazis. Studiile efectuate până în prezent relatează rezultate variabile, aparent din cauza limitărilor pe care le asociază, fapt ce impune ca măsura prioritară realizarea unui protocol standardizat al proceselor de recoltare și prelucrare a probelor analizate.

Cuvinte cheie: psoriazis, microbiom, secvențiere de nouă generație

ABSTRACT

Psoriasis is a skin condition that occurs as a result of the interaction between predisposing genetic factors, immunological factors and external triggers. Studies have highlighted the important role played by Staphylococcus aureus or Streptococcus pyogenes in inducing, maintaining or exacerbating psoriasis lesions. Thus, the study of skin microbe in patients with psoriasis is considered to be extremely important and complementary to genetic and immunological research. New advances in new generation sequencing technologies allow for a better understanding of genetic mechanisms alteration in psoriasis. Studies performed so far show variable results, apparently due to the associated limitations, which imply that a standardized protocol for the sampling and processing of analyzed samples is a priority measure.

Keywords: psoriasis, microbiome, next generation sequencing

INTRODUCERE

Tegumentul uman este colonizat de comunități complexe de bacterii, fungi și virusuri ce alcătuiesc microbiomul cutanat. Bacteriile din componența florei comensale colonizează tegumentul, intestinul, cavitatea orală, vaginul și căile respiratorii superioare și dețin un rol important în educarea sistemului imun (1), producția de vitamine sau protecția împotriva agenților patogeni (2), însă pot, de asemenea, să dețină un rol important și în întreținerea sau exacerbarea leziunilor cutanate sau întârzierea procesului de vindecare. Compoziția microflorei de la nivel tegumentar prezintă multiple variații ce au

putut fi asociate cu regiunea tegumentară studiată, dar și cu prezența diferitelor afecțiuni cutanate de tipul dermatită atopică, acnee, rozacee sau psoriazis. În plus, studiile efectuate au evidențiat faptul că nu numai topografia cutanată influențează colonizarea microbială, ci și o gamă extinsă de factori, unii specifici gazdei, incluzând vârsta și sexul, dar și factori de mediu (ocupația, îmbrăcămintea, utilizarea antibioticelor, cosmeticele, temperatura și umiditatea mediului, expunerea la ultraviolete), care pot contribui la variabilitatea observată în flora microbială a tegumentului. În prezent, există însă date insuficiente care să poată explica procesele prin care microorganismele de la nivel cutanat

inițiază, întrețin sau modulează afecțiunile dermatologice.

Psoriazisul (PS) este o afecțiune cronică cu etiologie necunoscută, caracterizată prin hiperproliferarea keratinocitelor și prezența unei reacții inflamatorii cutanate. Mecanismul exact care stă la baza patogenezei psoriazisului rămâne neclar, deși majoritatea modelelor încorporează răspunsuri aberante ale celulelor T și keratinocitelor în asociere cu susceptibilitatea genetică. În mod specific, ipoteza actuală despre patogeniza psoriazisului se concentrează pe activarea aberantă a sistemului imunitar înăscut cu implicarea ulterioară a sistemului adaptiv de apărare, care au ca rezultat reacții atât la nivelul pielii cât și la nivel sistemic. Printre cei mai provocatori factori de mediu care au posibilitatea de a educa și asista sistemul imunitar se găsește relația dintre gazdă și flora microbiană de la nivel tegumentar, oral și intestinal. Studiile bazate pe culturi bacteriene au evidențiat corelații ale anumitor infecții bacteriene cu apariția sau severitatea crescută a diferitelor subtipuri ale psoriazisului (de exemplu, rolul superantigenului betahemolitic streptococ de grup A în apariția psoriazisului gutat sau în exacerbări ale psoriazisului cronic) (3,4). Chiar dacă studiile bazate pe culturi captează alterările unor agenți patogeni cunoscuți, ei pot pierde efectele bacteriilor care nu pot fi cultivate, asupra severității sau patogenezei psoriazisului. Progresele în tehnologiile de secvențiere a ADN-ului au permis o examinare cuprinzătoare a comunităților microbiene, fără a fi nevoie de cultivare.

Studiul microbiomului este încă într-o fază incipientă, deși progresul realizat în acest domeniu este unul rapid; studii care caracterizează comunitățile microbiene sunt publicate într-un ritm tot mai alert. Standardele pentru colectarea, prelucrarea și analiza probelor încep să devină formalizate; instrumentele pentru a manipula microflora cutanată, experimental și medical, sunt în curs de dezvoltare.

TIPURI DE PRELEVARE

Au fost documentate multiple metode de prelevare a probelor de la nivel cutanat în vederea analizei compoziției microbiomului (tamponare, biopsie cutanată, raclare, tape stripping), ce diferă prin cantitatea de material recoltat, nivelul de disconfort generat subiecților sau profunzimea probei. Urmărind să identifice cea mai utilă metodă de prelevare a microflorei de la nivel cutanat, Grice și colab. au analizat componența microbiomului pentru diferite niveluri de profunzime a tegumentului, recoltând probe prin tamponare, raclare și biopsiere; rezulta-

tele lor demonstrează prezența de populații microbiene similare indiferent de metoda utilizată (5). Ulterior, pornind de la faptul că unul dintre antigenele implicate în psoriazis (peptidoglicanul streptococic) a fost identificat în derm (6) și luând în calcul identificarea de bacterii în derm și țesutul adipos (7), studiile efectuate pe subiecți sănătoși au evidențiat diferențe semnificative în compoziția microbiomului în momentul în care comparăm prelevarea prin biopsie vs. tamponare (8) sau tape stripping vs. tamponare (9).

Prelevare prin tamponare

Cel mai frecvent utilizată metodă de prelevare a probelor este reprezentată de tamponarea de la nivel cutanat, o metodă simplă, rapidă și noninvazivă. Probele sunt prelevate de la nivelul leziunilor specifice de psoriazis, în general localizate la nivelul ariilor cutanate uscate sau seboreice, prin tamponarea unei arii de 2-4 cm² cu ajutorul unui tampon de bumbac impregnat anterior într-o soluție salină sterilă. Această metodă asociază ca dezavantaj imposibilitatea standardizării ei, colectarea microflorei putând fi afectată semnificativ de o serie de factori specifici fiecărei persoane implicate în recoltare: presiunea aplicată, direcția de prelevare sau numărul de pasaje (10). În ceea ce privește rezultatele comunicate până în prezent privind analiza compoziției microbiomului la pacienții cu psoriazis prin utilizarea prelevării prin tamponare, studiile derulate de Gao și colab. și Alekseyenko și colab. sunt semnificative (11,12). Cele două studii au evidențiat faptul că plăcile de psoriazis sunt caracterizate de predominanța genului *Firmicutes*, în timp ce genul *Proteobacter* este predominant în tegumentul sănătos.

Prelevare prin biopsie cutanată

Pornind de la ipoteza prin care bacteriile de la nivel cutanat pot fi internalizate în celulele epidermului sau dermului (7), s-a considerat utilă studierea compoziției microbiomului și din probe prelevate prin biopsie cutanată, astfel încât să poată fi identificate și specii suplimentare care ar fi putut fi omise prin tehnica simplă de tamponare cutanată. Probele se prelevează sub anestezie locală, fără a utiliza anterior un antiseptic topic pentru a evita perturbarea microflorei cutanate. Studiile efectuate evidențiază diferențe semnificative în compoziția microflorei prin prelevare de biopsie comparativ cu tamponarea, în sensul identificării unei abundențe crescute a genurilor *Clostridiales*, *Bacteroides* și *Nocardiaceae* în probele biopsiate și a stafilococului în probele recoltate prin tehnica tamponării (8).

Ca dezavantaj, biopsia cutanată este o metodă invazivă care, în general, nu permite prelevarea de probe multiple de la același pacient.

Prelevare prin tape stripping

Prelevarea de probe cutanate prin tape stripping a fost o tehnică alternativă studiată; este o metodă rapidă, ușor de realizat și noninvazivă. Ea constă în aplicarea de benzi adezive sterile la nivelul regiunii cutanate studiate, cu îndepărtarea acestora după aproximativ 1 minut. Oga și colab. au urmărit compararea rezultatelor obținute prin recoltarea prin tamponare vs. tape stripping, având ca modalitate de analiză a probelor cultura microbiologică și tehnica de secvențiere de nouă generație (9). Acest studiu a evidențiat faptul că, analizând prin secvențierea de nouă generație, microflora colectată prin tamponare este similară cu cea obținută prin tape stripping; în schimb, metoda de tape stripping asigură colectarea unui număr mult mai mare de bacterii cultivabile prin cultură, comparativ cu tehnica recoltării prin tamponare. Se consideră astfel că se poate opta pentru oricare dintre cele 2 alternative de recoltare, cu excepția situațiilor în care se dorește analiza țintită a unei anume specii de la nivel cutanat.

TIPURI DE ANALIZĂ

Cultura

Până în anii 1980, tehnica de analiză prin cultură a reprezentat standardul pentru izolarea, identificarea și caracterizarea coloniilor microbiene; recoltarea se realiza prin tamponare, urmată ulterior de utilizarea unor medii de cultură specifice care să permită realizarea de culturi microbiologice și identificarea microorganismelor. Morfologia coloniilor, colorațiile utilizate (ex. colorația Gram), caracteristicile biochimice, testele de motilitate, profilul rezistenței la antibiotice erau cele care ghidau în identificarea microflorei. În prezent, este evident faptul că numai un procent scăzut de microorganisme poate fi identificat utilizând aceste tehnici (ex. stafilococ / *Malassezia*), fără a putea considera aceste microorganisme ca fiind cele mai abundente sau cu o influență semnificativă asupra ecosistemului cutanat. Limitările tehnicilor de cultivare sunt multiple, incluzând incapacitatea de a crea *in vivo* medii favorabile pentru microorganismele cu creștere lentă sau pentru cele ce necesită condiții speciale de cultivare. Izolarea microorganismelor anaerobe este în mod particular dificilă prin utilizarea tehnicilor de cultivare (13), întrucât creșterea lor este una lentă și ne-

cesită suplimentar condiții speciale pe parcursul manipulării și procesării probelor.

Secvențierea de nouă generație (Next Generation Sequencing)

Pornind de la proiectul privind analiza genomului uman în 2001, tehnologiile de secvențiere s-au îmbunătățit, pentru a putea oferi un număr crescut de citiri la un cost semnificativ redus. Pe lângă caracterizarea genomică a organismelor în starea lor naturală, tehnologiile de secvențiere au permis o analiză a compoziției microflorei în asociere cu diverse patologii. Au fost finanțate diverse proiecte, cum ar fi decodificarea genomului pacienților cu cancer (14) sau secvențierea comunităților microbiome ale pacienților cu tulburări autoimune (12). Secvențierea permite detectarea regiunilor mai puțin accesibile ale genomului și poate fi, prin urmare, utilizată pentru detectarea de noi biomarkeri (15).

Tehnologiile de secvențiere actuale urmează aceleași etape esențiale, cu mici variații, în funcție de producător și de metoda utilizată. În etapa inițială, adaptorii sunt legați la capetele fragmentelor ADN care urmează să a fi secvențiate. Fragmentele sunt apoi amplificate pe o suprafață solidă, cum ar fi un diapozitiv din sticlă sau un microcip, printr-un procedeu mediat prin polimerizare. Nucleotidele care sunt adăugate sunt detectate automat utilizând fluorescența. Procedura de detecție variază în funcție de diferite tehnologii și variază de la măsurarea semnalelor bioluminescente la imaginile în patru culori ale semnalelor moleculare (15,16).

O aplicație a tehnologiilor de secvențiere este reprezentată de detectarea compoziției microbiene a unui mediu prin secvențierea ARN-ului ribozomal 16S. 16S rRNA este o componentă a ribozomului care este prezent în fiecare organism. Acesta este alcătuit din regiuni conservate care pot fi vizate selectiv în timpul secvențierii, dar este, de asemenea, compusă din regiuni variabile, ideale pentru diferențierea între organisme. În funcție de capacitățile tehnologiei utilizate, secvențierea uneia sau mai multor regiuni variabile face posibilă înregistrarea compoziției bacteriene a unui mediu. Până în prezent, secvențierea 16S a fost utilizată pentru a clasifica bacteriile în taxonomia lor adecvată folosind similaritatea secvenței în locul caracteristicilor fenotipice. De asemenea, a fost utilizat pentru identificarea speciilor bacteriene noi și pentru diagnosticarea infecțiilor cu culturi negative (17).

TIPURI DE SECVENȚIERE GENOMICĂ

Prin dezvoltarea tehnicilor de secvențiere genomică a devenit posibil studiul întregii comunități

microbiene, depășind astfel limitările tehnicilor de cultivare. Studiile efectuate având la bază secvențierea genomică au determinat o creștere semnificativă a înțelegerii noastre privind componența microbiomului, interacțiunile gazdă-bacterii, precum și conexiunile dintre microorganisme. Prima tehnologie de secvențiere a fost elaborată de Sanger în urmă cu aproximativ 40 ani, bazată pe încorporarea selectivă a lanțurilor terminale a dideoxinucleotidelor prin ADN polimerază în timpul replicării ADN *in vitro*. Tehnica are drept limitări imposibilitatea secvențierii de genomuri complexe, durata foarte extinsă a efectuării analizei și costuri ridicate, ceea ce a impus dezvoltarea de noi metode, de nouă generație. Astfel, în prezent, sunt disponibile diverse tehnologii, încadrate în două mari categorii – secvențiere prin hibridizare și prin sinteză – și clasificate în trei tipuri de platforme: Roche/454, Illumina-Solexa și ABI-SOLiD (18). Selectarea platformei utilizate este în general dependentă de acuratețea și profunzimea secvențierii, dimensiunea amplicon-ului, disponibilitatea platformei sau buget (19). Avantajele tehnicilor de secvențiere de nouă generație sunt multiple: generarea în paralel a unui număr impresionant de citiri, viteza crescută de efectuare a acestei tehnici, costuri mult mai reduse comparativ cu metoda Sanger (18).

De departe cea mai utilizată tehnică de analiză a microbiomului în psoriazis este Illumina, ce se bazează pe secvențierea genelor 16sARN ale tuturor procariotelor, permițând analiza regiunilor variabile ale acestor gene. Etapele acestei tehnici sunt reprezentate de prelevarea probelor, izolarea ADN-ului printr-un proces de liză chimică/mecanică, amplificarea subunității ribozomale 16S-ARN prin PCR, secvențiere, clasificare taxonomică. Este posibilă astfel identificarea speciilor particulare, implicațiile privind relațiile filogenetice și crearea unor hărți ale populațiilor de microorganisme.

Pentru a depăși dezavantajele secvențierii de nouă generație, reprezentate în principal de costurile ridicate și de utilizarea amplificării PCR, procedură ce necesită o perioadă de timp extinsă pentru a putea fi realizată, cercetătorii au imaginat tehnicile de secvențiere de generația a treia care permit obținerea unor date mult mai ample, într-un interval de timp mai scurt și la costuri reduse.

TIPURI DE MICROBIOM

Cutanat

Studiile efectuate până în prezent au evidențiat un rol important în inducerea și întreținerea leziuni-

lor de psoriazis ale stafilococului auriu și streptococului *Pyogenes*. Este cunoscută asocierea între infecția streptococică și psoriazisul gutat, însă studiile recente sugerează faptul că aceste infecții streptococice pot fi asociate și cu exacerbări ale psoriazisului vulgar. Astfel, se consideră că studiul microbiomului cutanat la pacienții cu psoriazis este extrem de important și complementar cercetărilor din domeniul genetic și imunologic.

Un concept important în analiza compoziției microbiomului este reprezentat de măsurarea diversității populațiilor microbiene în probele recoltate și presupune utilizarea în principal a doi indicatori: alfa diversitate și beta diversitate. Alfa diversitatea descrie varietatea de specii distincte în cadrul unui habitat, exprimată prin numărul de genuri identificate într-o probă (comparând cu genurile identificate în probele prelevate din alte regiuni topografice). Beta diversitatea face referire la variațiile de specii sau genuri identificate între diferiți subiecți, analizând aceeași regiune topografică. Alekseyenko și colab. au realizat un studiu pe 199 de subiecți (75 pacienți cu psoriazis, 124 subiecți sănătoși) ce a generat obținerea unor rezultate relevante: leziunile de psoriazis asociază diversitate microbială mai redusă comparativ cu tegumentul sănătos; *Firmicutes* și actinobacteriile reprezintă genurile cu abundență crescută la nivel lezional; microflora de la nivelul leziunilor asociază un nivel substanțial al beta diversității (12). În studiul efectuat de Gao și colab., probele prelevate de la nivelul leziunilor au evidențiat cea mai mare diversitate de genuri, cu predominanța *Firmicutes* și cu expresia mai redusă a actinobacteriilor și proteobacteriilor, comparativ cu tegumentul sănătos (11). Fahlen și colab. au analizat compoziția microflorei cutanate prin prelevare de biopsii cutanate și au identificat abundență semnificativ crescută a actinobacteriilor în tegumentul sănătos comparativ cu leziunile de psoriazis, precum și un nivel crescut al proteobacteriilor în psoriazis comparativ cu lotul de control (20). Rezultatele acestor studii prezintă similarități, dar și o serie de diferențe în compoziția microbiomului cutanat, posibil justificate prin tehnicile diferite de prelevare a probelor; în același timp, demonstrează faptul că microbiomul leziunilor psoriazice prezintă diferențe comparativ cu cel al tegumentului subiecților sănătoși, exprimate în general printr-o diversitate microbială redusă și prin abundență relativă diferită a principalelor bacterii rezidente de tipul *Actinobacterium*, *Corynebacterium*, *Propionibacterium*, streptococ sau stafilococ (11,12,20).

Intestinal

Alterarea microflorei intestinale a putut fi asociată cu o serie de afecțiuni gastro-intestinale inflamatorii (boală Crohn, colită ulcerativă), afecțiuni ce înregistrează o prevalență semnificativ crescută în rândul pacienților diagnosticați cu psoriazis (21,22). Microbiomul intestinal exercită o influență asupra homeostaziei tegumentare prin corelare cu efectul modulator al acestuia asupra imunității sistemice. Anumite microorganisme și metaboliți de la acest nivel induc acumularea de celule T reglatoare și limfocite care facilitează un răspuns antiinflamator. În cazul afectării barierei intestinale, bacterii de la acest nivel precum și metaboliți ai acestora pot fi identificați în fluxul sanguin, cu acumulare la nivel cutanat și afectarea barierei cutanate. Prin analiza compoziției microbiomului intestinal la pacienții cu PS, comparativ cu subiecți sănătoși, Scher și colab. au identificat o diversitate microbiană redusă în cazul pacienților cu PS, cu o abundență relativă scăzută pentru *Actinobacteria* și *Bacteroidetes* (23). Suplimentar, la pacienții cu PS, disbioza de la nivel intestinal se caracterizează prin abundență redusă a *Faecalibacterium praeunizii* (24, 25) și a *Akkermansia muciniphila* (26). Huang și colab. au analizat compoziția microbiomului intestinal la pacienți cu diverse forme de psoriazis (vulgar, pustulos, artropatic, eritrodermic), identificând diferențe semnificative ale microflorei la pacienții cu forme severe, comparativ cu formele ușor-moderate de psoriazis, cu o abundență semnificativ redusă a *Bifidobacterium* (27).

Cavitate orală

Referitor la microbiomul cavității orale, există ipoteze ce susțin faptul că disbioza microflorei orale poate induce un răspuns imun alterat la persoanele susceptibile, determinând instalarea unor afecțiuni autoimune (28). Zenobia și colab. au studiat patogenza paradontozei în asociere cu devierile sistemului imun, identificând un rol important al IL-17A în patogenza acestei afecțiuni (29), citokină ce deține, de asemenea, un rol important în psoriazis, fapt demonstrat de eficiența terapierilor anti-IL17 în formele moderat-severe ale afecțiunii. În plus, prezența neutrofililor pare a fi un al aspect de similitudine între cele două afecțiuni, ele putând fi identificate atât la nivel gingival, cât și la nivelul plăcilor de psoriazis, cu rol în formarea microabceselor din stratul cornos (30). Totuși, posibila asociere între alterarea compoziției microflorei orale și psoriazis are la bază doar studii epidemiologice, fără a exista până în prezent studii care să analizeze compoziția microbiomului cavității orale la pacienții cu psoriazis.

INFLUENȚA TERAPIILOR ASUPRA COMPOZIȚIEI MICROBIOMULUI

Până în prezent, studiile s-au orientat asupra analizei compoziției microflorei cutanate la pacienții cu psoriazis vulgar, evaluând tegumentul sănătos/subiecți sănătoși comparativ cu tegumentul lezional; caracteristicile diferitelor regiuni topografice; variate metode de prelevare a probelor sau de prelucrare a acestora. În prezent, se dorește evaluarea modificărilor în structura microbiomului în contextul diverselor tipuri de terapii recomandate pacienților, în vederea analizei dinamicii microflorei ca răspuns la tratament.

Fototerapie

Pornind de la ipoteza prin care microbiomul cutanat poate înregistra variații în compoziție secundar expunerii la ultraviolete, Burns și colab. au derulat un studiu având ca obiectiv analiza efectului ultravioletelor de tip A (UVA) și de tip B (UVB) asupra microflorei cutanate la subiecți sănătoși (31). Expunerea la UVA determină creșterea producției de specii reactive de oxigen, având ca efect deteriorarea lipidelor, proteinelor și a ADN-ului, în timp ce expunerea la UVB determină apariția unor produși cu rol în blocarea replicării ADN-ului și a transcripției ARN-ului. Rezultatele studiului evidențiază alterarea compoziției microbiomului secundar expunerii la UV, în sensul creșterii nivelului de *Cyanobacteria*, bacterii Gram-negative ce pot produce cianotoxine cu rol în apariția erupțiilor cutanate, și scăderea expresiei *Pseudomonadaceae* și *Lactobacillaceae*, ambele cu rol important în procesul de refacere a homeostaziei imunității cutanate secundar imunosupresiei induse de expunerea la UV. Aceste rezultate ar putea aduce o nouă perspectivă asupra tratamentului inflamației cutanate induse de expunerea la UV. Sunt necesare însă studii care să evalueze modul în care au loc modificări ale compoziției microbiomului cutanat în diverse afecțiuni dermatologice, în corelație cu expunerea la ultraviolete.

Terapie biologică

În studiul lor, Loesche și colab. au urmărit să evalueze modificările instalate în compoziția microflorei la nivel cutanat la pacienții cu psoriazis aflați în tratament sistemic cu ustekinumab, prin prelevare de probe înainte de inițierea tratamentului; pe durata terapiei cu ustekinumab și în caz de recurență la pacienții la care s-a decis întreruperea terapiei (32). Rezultatele studiului evidențiază dife-

rențe în compoziția microbiomului între tegumentul sănătos și leziunile de psoriazis, dar cu un răspuns similar al celor două tipuri de microbiom în contextul terapiei cu ustekinumab. Pe durata tratamentului, heterogenitatea intragrup a crescut constant, indiferent de regiunea topografică studiată, indicând faptul că ustekinumab influențează compoziția microflorei într-un mod sistematic. Microbiomul cutanat nu poate oferi informații cu privire la durata răspunsului terapeutic al medicației utilizate, iar în cazul recurenței leziunilor, componența microflorei nu este similară celei determinate înaintea inițierii terapiei.

CONCLUZII

Psoriazisul este o afecțiune autoimună care afectează aproximativ 2-3% din populația generală.

Evoluția cronică a bolii și deficiența unor tratamente eficiente sunt probleme importante pentru pacienții care suferă de această afecțiune. Cu toate acestea, progresele noi în tehnologiile de secvențiere de nouă generație, depășind tendințele și limitările tehnicilor de cultivare, permit o mai bună înțelegere privind alterarea mecanismelor genetice în psoriazis. Studiile efectuate până în prezent asupra microbiomului cutanat în psoriazis relatează rezultate variabile, aparent din cauza limitărilor pe care le asociază, fapt ce impune ca măsură prioritară realizarea unui protocol standardizat al proceselor de recoltare și prelucrare a probelor analizate.

BIBLIOGRAFIE

- Belkaid Y, Segre JA. Dialogue between skin microbiota and immunity. *Science*. 2014 Nov 21;346(6212):954-9.
- Grice EA, Segre JA. The human microbiome: our second genome. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2012 Sep 22;13:151-70.
- Valdimarsson H, Baker BS, Jónsdóttir I et al. Psoriasis: a T-cell-mediated autoimmune disease induced by streptococcal superantigens?. *Immunol Today*. 1995 Mar 1;16(3):145-9.
- Thorleifsdóttir RH, Eysteinsdóttir JH, Olafsson JH et al. Throat infections are associated with exacerbation in a substantial proportion of patients with chronic plaque psoriasis. *Acta Derm Venereol*. 2016 Aug 1;96(6):788-92.
- Grice EA, Kong HH, Renaud G et al. A diversity profile of the human skin microbiota. *Genome res*. 2008 Jul 1;18(7):1043-50.
- Baker BS, Laman JD, Powles A et al. Peptidoglycan and peptidoglycan-specific Th1 cells in psoriatic skin lesions. *J Pathol Clin Res*. 2006 Jun;209(2):174-81.
- Nakatsuji T, Chiang HI, Jiang SB, Nagarajan H, Zengler K, Gallo RL. The microbiome extends to subepidermal compartments of normal skin. *Nat Commun*. 2013 Feb 5;4:1431.
- Prast Nielsen S, Tobin AM, Adamzik K et al. Investigation of the skin microbiome: swabs vs. biopsies. *Br J Dermatol*. 2019 Jan 28.
- Ogai K, Nagase S, Mukai K et al. A comparison of techniques for collecting skin microbiome samples: swabbing versus tape-stripping. *Front Microbiol*. 2018;9:2362.
- Van Horn KG, Audette CD, Tucker KA et al. Comparison of 3 swab transport systems for direct release and recovery of aerobic and anaerobic bacteria. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2008 Dec 1; 62(4):471-3.
- Gao Z, Tseng CH, Strober BE et al. Substantial alterations of the cutaneous bacterial biota in psoriatic lesions. *PLoS One*. 2008 Jul 23;3(7):e2719.
- Alekseyenko AV, Perez-Perez GI, De Souza A et al. Community differentiation of the cutaneous microbiota in psoriasis. *Microbiome*. 2013 Dec;1(1):31.
- Bowler PG, Duerden BI, Armstrong DG. Wound microbiology and associated approaches to wound management. *Clin Microbiol Rev*. 2001 Apr 1;14(2):244-69.
- Akbani R, Ng PK, Werner HM et al. A pan-cancer proteomic perspective on The Cancer Genome Atlas. *Nat Commun*. 2014 May 29;5:3887.
- Mardis ER. A decade's perspective on DNA sequencing technology. *Nature*. 2011 Feb;470(7333):198.
- Metzker ML. Sequencing technologies – the next generation. *Nat Rev Genet*. 2010 Jan;11(1):31.
- Woo PC, Lau SK, Teng JL et al. Then and now: use of 16S rDNA gene sequencing for bacterial identification and discovery of novel bacteria in clinical microbiology laboratories. *Clin Microbiol Infect*. 2008 Oct 1;14(10):908-34.
- Kchouk M, Gibrat JF, Elloumi M. Generations of sequencing technologies: From first to next generation. *Biol Med*. 2017;9(3).
- Kong HH, Andersson B, Clavel T et al. Performing skin microbiome research: A method to the madness. *J Invest Dermatol*. 2017 Mar 1;137(3):561-8.
- Fahlén A, Engstrand L, Baker BS et al. Comparison of bacterial microbiota in skin biopsies from normal and psoriatic skin. *Arch Dermatol Res*. 2012 Jan 1;304(1):15-22.
- Cohen AD, Dreier J, Birkenfeld S. Psoriasis associated with ulcerative colitis and Crohn's disease. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2009 May;23(5):561-5.
- Egeberg A, Mallbris L, Warren RB et al. Association between psoriasis and inflammatory bowel disease: A Danish nationwide cohort study. *Br J Dermatol*. 2016 Sep;175(3):487-92.
- Scher JU, Ubeda C, Artacho A et al. Decreased bacterial diversity characterizes the altered gut microbiota in patients with psoriatic arthritis, resembling dysbiosis in inflammatory bowel disease. *Arthritis Rheumatol*. 2015 Jan;67(1):128-39.
- Eppinga H, Sperna Weiland CJ, Thio HB et al. Similar depletion of protective *Faecalibacterium prausnitzii* in psoriasis and inflammatory bowel disease, but not in hidradenitis suppurativa. *J Crohns Colitis*. 2016 Mar 12;10(9):1067-75.
- Hidalgo Cantabrana C, Gómez J, Delgado S et al. Gut microbiota dysbiosis in a cohort of psoriasis patients. *Br J Dermatol*. 2019 Mar 28.
- Tan L, Zhao S, Zhu W et al. The Akkermansia muciniphila is a gut microbiota signature in psoriasis. *Exp Dermatol*. 2018 Feb; 27(2):144-9.
- Huang L, Gao R, Yu N, Zhu Y, Ding Y, Qin H. Dysbiosis of gut microbiota was closely associated with psoriasis. *Sci China Life Sci*. 2019 Jun 1;62(6):807-15.

28. Linden GJ, Lyons A, Scannapieco FA. Periodontal systemic associations: Review of the evidence. *J Clin Periodontol*. 2013 Apr; 40:S8-19.
29. Zenobia C, Hajishengallis G. Basic biology and role of interleukin 17 in immunity and inflammation. *Periodontol* 2000. 2015 Oct; 69(1):142-59.
30. Yiu ZZ, Griffiths CE. Interleukin 17-A inhibition in the treatment of psoriasis. *Expert Rev Clin Immunol*. 2016;12(1):1-4.
31. Burns EM, Ahmed H, Isedeh PN et al. Ultraviolet radiation, both UVA and UVB, influences the composition of the skin microbiome. *Exp Dermatol*. 2019 Feb;28(2):136-41.
32. Loesche MA, Farahi K, Capone K et al. Longitudinal study of the psoriasis-associated skin microbiome during therapy with ustekinumab in a randomized phase 3b clinical trial. *J Invest Dermatol*. 2018 Sep 1;138(9):1973-81.