

Analiza wybranych cytokin i profilu miRNA u pacjentów z reumatoidalnym zapaleniem stawów i zeszywniającym zapaleniem stawów kręgosłupa

Choroby reumatyczne są przewlekłymi schorzeniami zapalnymi o podłożu autoimmunologicznym, do których zalicza się reumatoidalne zapalenie stawów (RZS) i zeszywniające zapalenie stawów kręgosłupa (ZZSK). Charakterystycznym objawem RZS jest symetryczny stan zapalny stawów prowadzący do destrukcji tkanki chrzęstnej i kostnej. ZZSK dotyczy stawów krzyżowo-biodrowych i kręgosłupa, może również obejmować stawy obwodowe. W RZS stwierdza się obecność czynnika reumatoidalnego, natomiast ZZSK zaliczane jest do chorób seronegatywnych. Częstość występowania obu schorzeń na świecie jest różna. W Polsce RZS dotyka około 0,9%, natomiast ZZSK - 0,01% populacji. Zachorowania na RZS są nieproporcjonalnie częstsze u kobiet niż u mężczyzn, odwrotnie niż w przypadku ZZSK. Wszyscy pacjenci cierpią z powodu bólu, sztywności, ograniczenia ruchomości i złej jakości życia. Mimo że podatność na zachorowanie zarówno na RZS, jak i ZZSK jest stosunkowo dobrze poznana i związana ze środowiskowymi oraz genetycznymi czynnikami ryzyka, patogeneza nie została w pełni wyjaśniona. Wskazuje się, że kluczową rolę w tych chorobach odgrywa różnicowanie komórek T pomocniczych, a zwłaszcza zaburzenie równowagi między komórkami Th17 i regulatorowymi limfocytami T. Strategie leczenia pierwszego rzutu obejmują niesteroidowe leki przeciwzapalne, glikokortykoidy oraz leki przeciwreumatyczne modyfikujące przebieg choroby. Wprowadzenie terapii biologicznej znacznie poprawiło jakość życia pacjentów. Niestety, co najmniej 30% pacjentów nie odpowiada na leczenie inhibitorami TNF- α , co stanowi istotny, nierozwiązany problem opieki zdrowotnej. Innymi dominującymi cytokinami prozapalnymi zaangażowanymi w RZS i ZZSK są, odpowiednio, interleukina (IL)-6 i IL-17. Cytokiny te są również mediatorami bólu, a zatem blokadanie ich sygnalizacji nie tylko hamuje progresję choroby, ale również łagodzi przewlekły ból.

Rozprawa doktorska została przygotowana w formie cyklu publikacji. Celem pracy była analiza biomarkerów związanych z podatnością na wybrane schorzenia reumatyczne, progresją choroby i wynikami leczenia anty-TNF. Dane kliniczne i doświadczalne uzyskano od polskich pacjentów cierpiących na RZS i ZZSK przed, a także po trzech i sześciu miesiącach leczenia inhibitorami TNF i porównano je ze zdrowymi osobami z grupy kontrolnej.

W pierwszej publikacji, w grupie 130 chorych na RZS i 112 zdrowych osób z grupy kontrolnej, przeprowadzono genotypowanie polimorfizmu pojedynczego nukleotydu (ang. *single nucleotide polymorphism*, SNP) *IL6* rs1800795 zlokalizowanego w regionie promotora.

Przeanalizowano również poziomy IL-6 w surowicy. Zaobserwowano, że pacjenci przed rozpoczęciem terapii anty-TNF mieli istotnie wyższe stężenie IL-6 niż osoby z grupy kontrolnej. Ponadto, chorzy z homozygotycznym genotypem *CC* charakteryzowali się najwyższym poziomem tej cytokiny przed leczeniem biologicznym i wysoką aktywnością choroby w porównaniu z nosicielami allelu *G*. Wyniki te sugerują, iż związany ze zwiększoną produkcją IL-6 genotyp rs1800795 *CC* odgrywa niekorzystną rolę u chorych z RZS.

W drugiej pracy analizie poddano zmienność genów dla IL-17A, IL-17F i ich receptorów oraz zbadano potencjalne asocjacje między genotypami *IL17A* rs2275913, *IL17F* rs763780, *IL17RA* rs4819554 i *IL17RC* rs708567 z parametrami klinicznymi i odpowiedzią na leczenie anty-TNF. Badana grupa składała się z 138 pacjentów z ZZSK i 190 zdrowych osób z grupy kontrolnej. Wykazano zależność genotypu *IL17F* rs763780 *AG* z wyższą aktywnością choroby oraz brakiem odpowiedzi na leczenie po sześciu miesiącach terapii. Ponadto, zidentyfikowano allel *IL17RA* rs4819554 *G* jako potencjalny marker nasilenia ZZSK.

W trzecim artykule określono repertuar miRNA w egzosomach pochodzących z surowicy chorych na RZS i ZZSK, przed i po trzech miesiącach terapii anty-TNF. Analizę przeprowadzono z wykorzystaniem technologii NanoString umożliwiającej analizę profilu ekspresji 800 cząsteczek miRNA. Wykryto dwanaście miRNA różniących się ekspresją pomiędzy chorymi na RZS i ZZSK przed leczeniem. Porównanie profilu ekspresji u pacjentów przed i po trzech miesiącach stosowania inhibitorów TNF- α wykazała różnice w ekspresji, odpowiednio, czterech i czternastu miRNA u pacjentów z RZS i ZZSK. Dodatkowo przeprowadzono analizę *in silico* potencjalnych szlaków i genów docelowych dla miRNA.

Cykl publikacji zamyka praca pogładowa na temat wykorzystania miRNA jako potencjalnych markerów odpowiedzi na leczenie w chorobach reumatycznych.

Przeprowadzone badania wykazały istotne znaczenie polimorfizmów genów kodujących prozapalne cytokiny oraz profilowania miRNA w chorobach reumatycznych. Wykazano, że badane SNP mogą modulować odpowiedź terapeutyczną na inhibitory TNF- α oraz wpływać na parametry kliniczne, takie jak markery stanu zapalnego, czy aktywność choroby. Powyższe wyniki sugerują, że profilowanie miRNA w surowicy może mieć potencjał diagnostyczny i prognostyczny.