

ROZPRAWA DOKTORSKA

Analiza markerów molekularnych w korelacji z przebiegiem
klinicznym u chorych na łuszczycę

Lek. Magdalena Kutwin

Promotor: prof. dr hab. n. med. Anna Woźniacka

Klinika i Katedra Dermatologii i Wenerologii

Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Łódź, 2022

Analiza markerów molekularnych w korelacji z przebiegiem klinicznym u chorych na łuszczycę – streszczenie.

Łuszczycą jest przewlekłą, nawrotową dermatozą związaną z procesami zapalno-proliferacyjnymi. Badania ostatnich lat wskazują, że jest następstwem nieprawidłowego funkcjonowania elementów układu immunologicznego, w tym limfocytów T, komórek dendrytycznych oraz cytokin. Uważa się, że kluczową rolę w rozwoju i utrzymywaniu się zmian chorobowych odgrywa odpowiedź komórkowa osi IL-12/Th1/IFN- γ , Th22/IL-22 oraz IL-23/Th17/IL-17. W patomechanizmie łuszczycy bierze także udział IL-8, IL-10 i IL-20. W ocenie nasilenia zmian skórnych u osób chorujących na łuszczycę wykorzystuje się wskaźnik PASI oraz BSA, natomiast skala DLQI ocenia wpływ dermatozy na jakość życia pacjenta.

Celem rozprawy doktorskiej było poznanie molekularnych podstaw i mechanizmów procesu chorobowego, dlatego też przedmiotem oceny był poziom ekspresji (RQ) wybranych genów docelowych uczestniczących w odpowiedzi komórkowej w przebiegu łuszczycy takich jak: *IL-8*, *IL-10*, *IL-12B*, *IL-17A*, *IL-17RA*, *IL-20*, *IL-22*, *IL-23A*, *IL-23R* oraz *IFN- γ* . Ponadto przeprowadzono analizę ekspresji wybranych genów oraz ich korelacji z aktywnością procesu chorobowego ocenianą wskaźnikami PASI, BSA i DLQI.

W tym celu, zarówno od chorych na łuszczycę, jak i osób stanowiących grupę kontrolną, pobrano bioptaty skóry oraz krew obwodową, z których wyizolowano RNA. Kwas rybonukleinowy następnie został poddany reakcji odwrotnej transkrypcji. Względny poziom ekspresji wybranych genów oceniano za pomocą reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym, a wyniki przedstawiono jako wartość RQ. Przeprowadzono również systematyczny przegląd publikacji omawiający zagadnienia dotyczące poziomu ekspresji genów *IL-20* i *IL-8* oraz kodowanych przez nie białek w aspekcie ich patogenicznej roli w łuszczycy.

Analiza statystyczna wybranych markerów molekularnych wykazała istotnie podwyższony poziom ekspresji genów *IL-12B*, *IL-22*, *IFN- γ* , *IL-17A* i *IL-23R* w skórze chorych na łuszczycę oraz obniżoną ekspresję *IL-10* w tkance zmienionej łuszczycowo w porównaniu z grupą kontrolną. Co więcej, stwierdzono dodatnią korelację między *IL-12B* i *IL-23A* a wskaźnikiem PASI. Przegląd publikacji w większości wykazał nadekspresję mRNA *IL-20*, *IL-8* i ich receptorów oraz podwyższone poziomy badanych interleukin w obrębie zmian łuszczycowych.

Dokładny przebieg kaskady patogenetycznej w łuszczycy wciąż nie jest w pełni poznany, jednak zaprezentowane dane potwierdzają istotną rolę analizowanych genów i kodowanych przez nie cząsteczek w złożonym mechanizmie dysregulacji cytokinowej pozostającej u podłoża etiopatogenezy łuszczycy. Ponadto zarówno geny *IL-12B* oraz *IL-23A* jak i zależne od nich białka można uznać za markery aktywności procesu chorobowego oraz skuteczności terapii. Przeprowadzone badania mają

nie tylko aspekt poznawczy, ale również praktyczny bowiem ich wyniki mogą przyczynić się do dalszego rozwoju terapii celowanej i spersonalizowanej.

An analysis of selected molecular markers and their correlation with clinical course in patients with psoriasis – abstract.

Psoriasis is a chronic, relapsing dermatosis associated with inflammatory and proliferative processes. Recent studies indicate that it arises from the improper functioning of the immune system, including T lymphocytes, dendritic cells and cytokines. A key role in the development and maintenance of lesions is believed to be played by the cellular response of the IL-12/Th1/IFN- γ , Th22/IL-22 and IL-23/Th17/IL-17 axes, with IL-8, IL-10 and IL-20 also being involved. Skin lesion severity is evaluated using the PASI and BSA index, and the impact of dermatosis on quality of life by the DLQI scale.

As the aim of the doctoral dissertation was to determine the molecular basis and mechanisms of the disease process, it examined the level of expression (RQ) of selected target genes involved in the cellular response in the course of psoriasis: *IL-8*, *IL-10*, *IL-12B*, *IL-17A*, *IL-17RA*, *IL-20*, *IL-22*, *IL-23A*, *IL-23R* and *IFN- γ* . It also evaluated the expression of the selected genes and their correlation with the activity of the disease process, assessed with the PASI, BSA and DLQI indices.

For this purpose, skin biopsies and peripheral blood were collected from patients with psoriasis and healthy controls. RNA was isolated from the samples and reverse transcribed. The relative expression of the selected genes was assessed by real-time PCR and the results were expressed as RQ value. A systematic review of publications regarding the expression of *IL-20* and *IL-8* genes and encoded proteins and their pathogenic role in psoriasis was also carried out.

The skin of patients with psoriasis demonstrated significantly higher *IL-12B*, *IL-22*, *IFN- γ* , *IL-17A* and *IL-23R* gene expression and reduced *IL-10* expression compared to the control group. Moreover, a positive correlation was found between *IL-12B* and *IL-23A* and the PASI index. Previous studies noted overexpression of *IL-20*, *IL-8* mRNA and their receptors within psoriatic lesions, as well as elevated levels of the examined interleukins.

The exact course of the pathogenetic cascade in psoriasis is still not fully understood; however, the presented data confirm that the analyzed genes and their encoded molecules play an important role in the mechanism of cytokine dysregulation underlying the etiopathogenesis of psoriasis. In addition, both the *IL-12B* and *IL-23A* genes and their encoded proteins can be considered as markers of disease process activity and therapy effectiveness. In addition to its research value, the present

study has a number of practical strengths, because its findings may contribute to the further development of targeted and personalized therapy.