

lek. Magdalena Katarzyna Maciejewska

**Nowe biomarkery zaburzeń mikrokrążenia
w twardzinie układowej.**

**Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu
w dyscyplinie nauki medyczne**

Promotor: prof. dr hab. Lidia Rudnicka

Katedra i Klinika Dermatologiczna Warszawski Uniwersytet Medyczny

Kierownik Kliniki: prof. dr hab. n. med. Lidia Rudnicka



Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą Dyscypliny Nauk Medycznych
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Warszawa 2023

STRESZCZENIE

Wprowadzenie

Twardzina układowa jest autoimmunologiczną chorobą tkanki łącznej związaną z postępującym włóknieniem skóry i narządów wewnętrznych. Zgodnie z aktualną koncepcją patogenezы choroby, początkowo dochodzi do uszkodzenia komórek śródbłónka, zaburzeń mikrokrążenia i rozwoju stanu zapalnego. Sam proces włóknienia wydaje się wtórnym do stymulacji przez cytokiny uwalniane ze śródbłónka. Klinikną manifestacją zaburzeń krążenia są m.in.: przełom nerkowy, nadciśnienie płucne lub objaw Raynauda, który niejednokrotnie wyprzedza pojawienie się innych cech twardziny układowej nawet o kilka lat, stwierdzany u ponad 95% chorych. Krytyczne niedokrwienie wraz z owrzodzeniami dystalnych części palców stanowi najcięższą postać zaburzeń mikrokrążenia, prowadząc do wystąpienia bólu, niepełnosprawności oraz zmniejszenia jakości życia.

Wczesne rozpoznanie i leczenie nieprawidłowości naczyniowych w twardzinie układowej ma zasadnicze znaczenie dla poprawy wyników leczenia pacjentów i zapobiegania długotrwałym powikłaniom. W ostatnich latach trwają poszukiwania biomarkerów szybkiej progresji zmian naczyniowych, które odpowiednio wcześniej pozwoliłyby na intensyfikację leczenia reologicznego.

Cele pracy

Celem pracy była analiza zaburzeń mikrokrążenia prowadzącego do objawu Raynauda i patologii nerek u pacjentów z twardziną układową oraz poszukiwanie nowych biomarkerów związanych z uszkodzeniem naczyń w przebiegu twardziny układowej, w tym w szczególności:

- 1) Ocena możliwości wykorzystania kopeptyny i czynnika indukowanego hipoksją-1 α (HIF-1 α) jako potencjalnych biomarkerów zaburzeń mikrokrążenia w twardzinie układowej
- 2) Ocena potencjalnej korelacji między stężeniem kopeptyny oraz czynnika indukowanego hipoksją-1 α i aktywnością twardziny układowej
- 3) Analiza wpływu leczenia reologicznego alprostadyłem na stężenie wybranych biomarkerów zaburzeń mikrokrążenia u pacjentów z twardziną układową

Materiał i metody

Do badań przedstawionych w cyklu publikacji włączono 50 pacjentów z rozpoznaną twardziną układową spełniających kryteria klasyfikacyjne ACR/EULAR. Do grupy kontrolnej włączono 30 zdrowych ochotników dobranych pod względem wieku i płci.

Zajęcie narządowe oceniano według rekomendacji diagnostyczno-terapeutycznych Polskiego Towarzystwa Dermatologicznego. Zaburzenia naczyniowe oceniano na skórze gładkiej twarzy i kończyn (liczba i lokalizacja owrzodzeń paliczków, teleangiektazji), oraz wykonanie badania kapilaroskopowego z oceną zaburzeń mikrokrążenia wg klasyfikacji Cutolo.

Jako potencjalne biomarkery zaburzonego mikrokrążenia obwodowego wybrano: czynnik indukowany hipoksją-1 α (HIF-1 α) oraz kopeptynę. Stężenia HIF-1 α i kopeptyny oceniono przy pomocy metody ELISA. Poziom istotności statystycznej przyjęto dla $p < 0,05$.

Wyniki

Pacjenci z twardziną układową mieli znacznie wyższe stężenie kopeptyny w osoczu (4,21 pmol/L [3,04-5,42]) w porównaniu do grupy kontrolnej (3,40 pmol/L [2,38-3,76], $p < 0,01$). Stwierdzono dodatnią korelację pomiędzy nasileniem objawu Raynauda a stężeniem kopeptyny ($r = 0,801$, $p < 0,05$). Pacjenci „późnym” wzorcem zmian naczyniowych w kapilaroskopii (5,37 pmol/l [4,29-8,06]) charakteryzowali się wyższymi wartościami kopeptyny niż pacjenci o „wczesnym” (2,43 pmol/l [2,25-3,20], $p < 0,05$) i aktywnym wzorcu (3,93 pmol/l [2,92-5,16], $p < 0,05$). Pacjenci z twardziną układową, u których występowały owrzodzenia paliczków palców mieli istotnie statystycznie wyższe stężenie kopeptyny (5,71 pmol/l [IQR 4,85-8,06]) niż pacjenci bez owrzodzeń na paliczkach palców (3,31 pmol/l, [2,28-4,30], $p < 0,05$). Ponadto stężenie kopeptyny charakteryzowało się dobrą dokładnością diagnostyczną w rozróżnianiu pacjentów z owrzodzeniem palców i bez (AUC=0,863). Dożylne leczenie analogami prostaglandyn (alprostadylem) powodowało zmniejszenie stężenia kopeptyny z 4,96 [4,02-6,01] do 3,86 pmol/l [3,17-4,63] ($p < 0,01$) po 4-6 cyklach podawania.

Pacjenci z twardziną układową mieli istotnie statystycznie wyższe stężenie czynnika indukowanego hipoksją-1 α (3,042 ng/ml [2,295-7,749]) w porównaniu z grupą kontrolną (1,969 ng/ml [1,531-2,903] $p < 0,01$). Pacjenci z uogólnioną postacią twardziny układowej (2,803 ng/ml, IQR 2,221-8,799) i formą ograniczoną (3,231 ng/ml, IQR 2,566-5,502) wykazywali zwiększone stężenie czynnika indukowanego hipoksją-1 α w porównaniu z grupą kontrolną ($p < 0,01$). Stwierdzono statystycznie wyższe stężenie czynnika indukowanego

hipoksją-1 α u pacjentów z "aktywnym" kapilaroskopowym obrazem twardzinowym wg klasyfikacji Cutolo (6,625 ng/ml, IQR 2,488-11,480) w porównaniu z pacjentami z obrazem „wczesnym” (2,739, IQR 2,165-3,282, p<0,05) i „późnym” (2,983 ng/ml, IQR 2,229-3,386, p<0,05). Jednocześnie stwierdzono, że pacjenci, u których nie występowały owrzodzenia paliczków palców, mieli znacząco wyższe stężenie czynnika indukowanego hipoksją-1 α (4,367 ng/ml, IQR 2,488-9,462) niż pacjenci z aktywnymi owrzodzeniami paliczków palców (2,832 ng/ml, IQR 2,630-3,094, p< 0,05) oraz owrzodzeniami paliczków palców w przeszłości (2,668 ng/ml, IQR - 2,074-2,983, p<0,05).

Wnioski

1. Kopeptyna i czynnik indukowany hipoksją-1 α (HIF-1 α) mogą posłużyć jako potencjalne biomarkery zaburzeń mikrokrążenia obwodowego u pacjentów z twardziną układową
2. Stężenie kopeptyny w surowicy wykazuje pozytywną korelację z nasileniem objawu Raynauda i występowaniem owrzodzeń obwodowych w przebiegu twardziny układowej oraz jest czułym parametrem odpowiedzi na leczenie reologiczne
3. Stwierdzono statystycznie wyższe stężenie czynnika indukowanego hipoksją-1 α w surowicy u pacjentów z "aktywnym" kapilaroskopowym obrazem twardzinowym wg klasyfikacji Cutolo w porównaniu z pacjentami z obrazem „wczesnym” i „późnym”
4. Monitorowanie stężenia kopeptyny i czynnika indukowanego hipoksją-1 α u pacjentów z twardziną układową może pozwolić na identyfikację pacjentów o wysokim ryzyku nasilonych zaburzeń mikrokrążenia i tym samym wczesnego rozpoczęcia intensywnego leczenia reologicznego