

Iek. Anna Kinga Stochmal

**Znaczenie kliniczne swoistych przeciwciał przeciwjądrowych  
w twardzinie układowej.  
Związek z zaburzeniami metabolicznymi.**

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

Promotor: prof. dr hab. n. med. Lidia Rudnicka

Promotor pomocniczy: dr hab. n. med. i n. o zdr. Joanna Czuwara

Katedra i Klinika Dermatologiczna

Warszawski Uniwersytet Medyczny

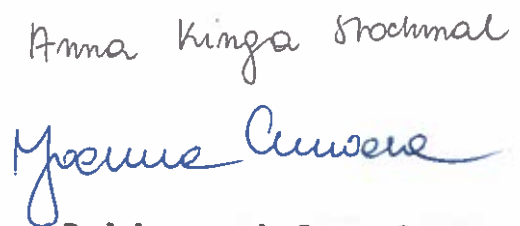
Kierownik Kliniki: prof. dr hab. n. med. Lidia Rudnicka



Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą Dyscypliny Nauk Medycznych  
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Warszawa 2020

  
Kierownik  
Katedry i Kliniki Dermatologicznej  
Prof. dr hab. n. med. Lidia Rudnicka

  
Dr hab. n. med. Joanna Czuwara  
SPECJALISTA DERMATOLOG  
UEMS DERMATOPATOLOG  
NPWZ 5197945

## **Wprowadzenie**

Twardzina układowa (ang. *systemic sclerosis*, SSc) jest autoimmunologiczną chorobą tkanki łącznej, charakteryzującą się postępującym włóknieniem skóry i narządów wewnętrznych oraz zaburzeniami naczyń mikrokrążenia, współwystępującymi z przewlekłym stanem zapalnym. Patogeneza choroby nie jest w pełni wyjaśniona, jednak uważa się, że kluczową rolę odgrywają w niej złożone nieprawidłowości immunologiczne indukujące włóknienie oraz zaburzenia naczyniowe. Markerami immunologicznymi twardziny układowej są przeciwciała przeciwjądrowe, do których należą przeciwciała przeciw: topoizomerazie I (anty-TOPO I), centromerom (ACA), polimerazie III RNA (anty-RNAP III), rybonukleoproteinom (anty-U3 RNP, anty-U1 RNP, anty-U11/U12 RNP), antygenom jąderkowym (anty-Th/To, anty-NOR 90, anty-Ku, anty-PM/Scl) i innym kompleksom białek jądrowych (anty-RuvBL1/2)

W ostatnim czasie zwrócono uwagę na potencjalne znaczenie zaburzeń metabolicznych w twardzinie układowej. Do aktywnych biologicznie białek wydzielanych przez tkankę tłuszczową, należą adipokiny, w tym m.in. adiponektyna, rezystyna i leptyna.

## **Cele pracy**

1. Analiza znaczenia klinicznego swoistych przeciwciał przeciwjądrowych oraz ich ewentualnego związku z zaburzeniami metabolicznymi i naczyniowymi w twardzinie układowej.
2. Identyfikacja potencjalnych markerów zaburzeń metabolicznych i naczyniowych w twardzinie układowej.
3. Ocena związku między markerami zaburzeń metabolicznych i naczyniowych a typem przeciwciał przeciwjądrowych i jego znaczenie rokownicze.
4. Ocena wpływu leczenia twardziny układowej analogiem prostaglandyny I<sub>2</sub> na wydzielanie adipokin, a także ustalenie ewentualnych implikacji terapeutycznych.

## **Materiał i metody**

Do badania włączono 100 pacjentów z twardziną układową oraz 20 zdrowych osób z grupy kontrolnej. Wszyscy pacjenci spełniali kryteria klasyfikacyjne ACR/EULAR. Badanie przedmiotowe oraz badania dodatkowe do oceny stopnia nasilenia zmian narządowych przeprowadzono zgodnie z rekomendacjami Polskiego Towarzystwa Dermatologicznego. Nasilenie stwardnień oceniano przy użyciu zmodyfikowanej skali Rodnana (mRSS). Przeciwciała przeciwjądrowe oceniano przesiewowo metodą immunofluorescencji pośredniej na przelyku małpy jako substracie, a następnie identyfikowano metodą immunoblotu. Stężenia wybranych adipokiny (adiponektyny, rezystyny, leptyny) oraz peptydów śródbłonkowych (endoteliny-1, galektyny-3, fraktalkiny) zostały oznaczone metodą testu immunoenzymatycznego (ELISA). Poziom istotności statystycznej przyjęto dla  $P < 0,05$ .

## **Wyniki**

Przeciwciała anti-TOPO I związane są z nasilonym włóknieniem skóry i narządów wewnętrznych, głównie płuc, serca i nerek. Przeciwciała ACA współwystępują z ograniczonym włóknieniem skóry, nadciśnieniem płucnym i zajęciem przewodu pokarmowego. Pacjenci z przeciwciałami anti-RNAP III charakteryzują się znacząco zwiększonym ryzykiem rozwoju nowotworów i twardzinowego przełomu nerkowego, jak również szybko postępującego, rozległego włóknienia skóry. Przeciwciała przeciw rybonukleoproteinom, anti-U3 RNP i anti-U11/U12 RNP, korelują z nasilonym włóknieniem płuc, zaś dla pacjentów z anti-U1 RNP charakterystyczne są objawy dotyczące układu mięśniowo-szkieletowego. Obecność w surowicy anti-Ku, anti-PM/Scl lub anti-Th/To związana jest ze specyficznym dla grupy przeciwciał przeciw antygenom jąderkowym zapaleniem mięśni i stawów oraz zespołami nakładania z innymi chorobami tkanki łącznej, a dodatkowo anti-Th/To wskazują na wysokie ryzyko zajęcia płuc. Przeciwciała anti-NOR 90 łączone są z włóknieniem skóry i narządów wewnętrznych o niewielkim nasileniu. Pacjenci z anti-RuvBL1/2 wykazują unikalną kombinację klinicznych cech, jaką jest uogólnione włóknienie skóry i zespół nakładania z zapaleniem mięśni.

U pacjentów z twardziną układową w porównaniu z grupą kontrolną wykazano istotnie statystycznie wyższe średnie stężenie rezystyny ( $13,41 \pm 6,39$  vs.  $8,54 \pm 3,07$  ng/ml;  $P=0,0012$ ), endoteliny-1 ( $1,99 \pm 1,04$  vs.  $1,31 \pm 0,46$  pg/ml;  $P=0,0072$ ) i fraktalkiny ( $2,93 \pm 1,55$  vs.  $1,68 \pm 0,78$  ng/ml;  $P=0,0007$ ) oraz niższe adiponektyny ( $5150 \pm 4708$  vs.  $8847 \pm 4340$  ng/ml;  $P=0,0001$ ). Jednocześnie stwierdzono, że stężenie fraktalkiny ( $3,93 \pm 1,38$  ng/ml vs.  $2,58 \pm 1,38$  ng/ml;  $P=0,0018$ ) oraz galektyny-3 ( $6,86 \pm 4,76$  ng/ml vs.  $3,78 \pm 2,51$  ng/ml;  $P=0,0008$ ) jest istotnie statystycznie wyższe w podtypie dcSSc niż lcSSc. Wykazano także, że ekspresja fraktalkiny ( $r=0,376$ ;  $P=0,0009$ ) i galektyny-3 ( $r=0,236$ ;  $P=0,018$ ) koreluje pozytywnie z nasileniem włóknienia skóry u wszystkich pacjentów z twardziną układową.

Najsilniejsze związki wykazano między najbardziej zaburzoną syntezą wybranych adipokin i peptydów śródłonkowych (na podstawie pomiaru ich stężenia w grupie badanej vs. w grupie kontrolnej) z określonymi swoistymi przeciwciałami przeciwwądrowymi: endoteliny-1 z ACA ( $2,21 \pm 1,01$  vs.  $1,31 \pm 0,46$  pg/ml;  $P < 0,0001$ ), fraktalkiny i galektyny-3 z anty-TOPO I (odpowiednio:  $3,68 \pm 1,43$  vs.  $1,68 \pm 0,78$  ng/ml;  $P < 0,0001$  oraz  $6,39 \pm 4,20$  vs.  $3,26 \pm 1,58$  ng/ml;  $P=0,0010$ ), leptyny z anty-PM/ScI ( $31677 \pm 18294$  vs.  $14210 \pm 11235$  pg/ml;  $P=0,0284$ ) oraz rezystyny z anty-RNAP III ( $15,13 \pm 4,45$  vs.  $8,54 \pm 3,07$  ng/ml;  $P < 0,0001$ ) i adiponektyny z anty-RNAP III ( $2894 \pm 1783$  i  $8847 \pm 4340$  ng/ml;  $P < 0,0001$ ). Stwierdzono również, że u pacjentów z anty-TOPO I stężenie zarówno galektyny-3 jak i fraktalkiny dodatnio koreluje z nasileniem włóknienia skóry (odpowiednio:  $r=0,3800$ ;  $P=0,0266$  oraz  $r=0,3663$ ;  $P=0,0204$ ).

Stężenie adiponektyny w surowicy istotnie statystycznie wzrosło po trzydniowym cyklu dożylnego podania epoprostenolu ( $6,00 \pm 2,81$  vs.  $9,29 \pm 6,05$   $\mu\text{g/ml}$ ;  $P=0,002$ ). Epoprostenol nie miał wpływu na zmiany stężenia rezystyny i leptyny w surowicy pacjentów z twardziną układową.

## Wnioski

1. Wczesna identyfikacja typu przeciwciał przeciwjądrowych w twardzinie układowej (ACA, anty-TOPO I, anty-RNAP III, anty-PM/Scl, anty-Th/To, anty-NOR 90, anty-Ku, anty-U3 RNP, anty-U1 RNP) ma kluczowe znaczenie rokownicze dotyczące przebiegu klinicznego twardziny układowej oraz chorób współistniejących.
2. Tkanka tłuszczowa i uwalniane przez nią adipokiny pełnią istotną rolę w procesie włóknienia tkanek i zmian naczyniowych w twardzinie układowej. Obniżone stężenie adiponektyny oraz podwyższone stężenie rezystyny w surowicy pacjentów są wykładnikami tych zaburzeń.
3. Określenie typu swoistych przeciwciał przeciwjądrowych w połączeniu z oceną stężenia adipokin i peptydów śródbłonkowych w surowicy („profil immunologiczno-metaboliczny”) może pozwolić na identyfikację pacjentów o znacząco podwyższonym ryzyku ciężkiego przebiegu choroby oraz indywidualizację monitorowania i leczenia.

Najbardziej niekorzystnym rokowniczo połączeniem jest obniżone stężenie w surowicy adiponektyny z podwyższonym stężeniem rezystyny i fraktalkiny u pacjentów z dodatnimi przeciwciałami przeciw RNA polimerazie III lub topoizomerazie I.

4. Leczenie twardziny układowej analogiem prostaglandyny I<sub>2</sub>, epoprostenolem, powoduje znaczące podwyższenie stężenia adiponektyny w surowicy. Może to wskazywać, że mechanizm działania terapeutycznego tego leku w twardzinie układowej jest bardziej złożony w porównaniu do innych leków wazodylatacyjnych.