

STRESZCZENIE W JĘZYKU POLSKIM

Łuszczyca to częsta, przewlekła zapalna choroba skóry o niejasnej patogenezie z udziałem czynników genetycznych i środowiskowych. Jedno z *locus* podatności na łuszczycę jest zlokalizowane w regionie chromosomalnym 17q25.3, zawierającym geny *EVER1* i *EVER2*. Mutacje utraty funkcji genów *EVER1* lub *EVER2* powodują epidermodysplazję verruciformis – rzadką chorobę charakteryzującą się zwiększoną podatnością na zakażenia skóry wirusami brodawczaka ludzkiego z rodzaju beta. DNA tych wirusów zostało wykryte w znacznych ilościach również w łuszczycowych zmianach skórnych, ale mechanizm podatności łuszczycowych zmian skórnych na wirusy brodawczaka ludzkiego z rodzaju beta pozostaje nieznany.

Celem pracy było zbadanie ekspresji genów *EVER1* i *EVER2* oraz czynników z nią związanych w komórkach odpornościowych oraz w skórze pacjentów z łuszczycą. Grupę kontrolną stanowili zdrowi ochotnicy oraz pacjenci z alergicznym kontaktowym zapaleniem skóry. Wpływ cytokin prozapalnych i przeciwzapalnych na ekspresję genów *EVER1* i *EVER2* zbadano w hodowli linii keratynocytów ludzkich.

Komórki jednojądrzaste krwi obwodowej (PBMC) uzyskane od zdrowych osób i od pacjentów z łuszczycą hodowano przez 24 godziny w samej pożywce lub z dodatkiem PHA lub przeciwciał anti-CD3/CD28. Następnie wyizolowano RNA, aby zmierzyć ekspresję genów *EVER1* i *EVER2*. Pobrano również wycinki skórne od osób zdrowych oraz od pacjentów z łuszczycą i pacjentów z alergicznym kontaktowym zapaleniem skóry (zmiany skórne i sąsiadująca niezajęta skóra). W wycinkach skórnych zbadano ekspresję białek *EVER1* i *EVER2* oraz mRNA *EVER1*, *EVER2*, IL-17, IL-22, IL-23, TNF i TGF β . Aby ocenić wpływ cytokin prozapalnych i przeciwzapalnych na ekspresję genów *EVER1* i *EVER2*, keratynocyty

ludzkiej linii komórkowej HaCaT były hodowane przez 18 godzin z dodatkiem jednej z następujących cytokin: IFN γ , TNF, IL-1, IL-6, IL-4, IL-10, IL-17, IL-22, IL-36, TGF β lub EGF. RNA wyizolowane z PBMC, wycinków skórnych oraz keratynocytów linii HaCaT wykorzystano do reakcji odwrotnej transkrypcji. Uzyskane cDNA posłużyło do oceny ekspresji odpowiednich genów z wykorzystaniem ilościowej reakcji PCR w czasie rzeczywistym (qPCR).

Wykryto ekspresję genów *EVER1* i *EVER2* w PBMC, przy czym ekspresja *EVER1* była większa niż *EVER2*. Ekspresja genów *EVER1* i *EVER2* w PBMC nie różniła się istotnie pomiędzy pacjentami z łuszczycą i zdrowymi ochotnikami. Po aktywacji PHA i CD3/CD28 ekspresja obu genów zmniejszyła się istotnie w obu grupach w podobnym stopniu. W skórze osób zdrowych oraz w zmianach skórnych i niezajętej skórze pacjentów z łuszczycą lub alergicznym kontaktowym zapaleniem skóry ekspresja *EVER1* była większa niż ekspresja *EVER2*. W porównaniu z ekspresją w skórze osób zdrowych ekspresja genu *EVER1* była istotnie niższa jedynie w łuszczycowych zmianach skórnych; ekspresja genu *EVER1* w niezajętej skórze u pacjentów z łuszczycą oraz w zmianach skórnych i niezajętej skórze pacjentów z alergicznym kontaktowym zapaleniem skóry nie różniła się istotnie od ekspresji w skórze osób zdrowych. Ekspresja genu *EVER2* w skórze we wszystkich grupach była na granicy wykrywalności, co uniemożliwiło porównania międzygrupowe. Białka *EVER1* i *EVER2* były wykrywalne metodą immunohistochemii w wycinkach skórnych osób zdrowych i w zmianach skórnych u pacjentów z łuszczycą lub alergicznym kontaktowym zapaleniem skóry. W łuszczycowych zmianach skórnych ekspresja mRNA IL-17, IL-22, IL-23 była podwyższona, a ekspresja mRNA TNF i TGF- β była obniżona w porównaniu z otaczającą niezajętą skórą. Ekspresja mRNA *EVER1* w skórze pacjentów z łuszczycą korelowała ujemnie z ekspresją mRNA IL-17 i IL-23 oraz dodatnio z ekspresją mRNA TNF i TGF- β . Ekspresja genu *EVER1*

w keratynocytach linii HaCaT zmniejszyła się istotnie w obecności IL-17, a zwiększyła się istotnie w obecności TGF- β .

Podsumowując, ekspresja genu *EVER1* była istotnie zmniejszona jedynie w łuszczykowych zmianach skórnych, gdzie korelowała ujemnie z ekspresją genów cytokin prozapalnych IL-17 i IL-23. Nie obserwowano podobnych zależności u pacjentów z alergicznym kontaktowym zapaleniem skóry. W hodowli keratynocytów HaCaT, podobnie jak w zmianach łuszczykowych, stymulacja prozapalna IL-17 była związana z mniejszą ekspresją genu *EVER1*. Obserwacje te są zgodne z hipotezą, że zwiększona częstość występowania wirusów brodawczaka ludzkiego rodzaju beta w łuszczykowych zmianach skórnych może wynikać z obniżenia ekspresji genu *EVER1* w keratynocytach wskutek swoistego dla łuszczycy procesu zapalnego.

