

STRESZCZENIE

Twardzina układowa (TU) jest przewlekłą układową chorobą tkanki łącznej, charakteryzującą się dysregulacją immunologiczną, waskulopatią oraz zwłóknieniem skóry i narządów wewnętrznych. Z uwagi na różnorodność manifestacji narządowych w TU, pacjenci wymagają zastosowania ukierunkowanej terapii narządowo swoistej. Pomimo wdrożenia nowatorskich terapii, choroba nadal cechuje się agresywnym przebiegiem oraz dużą śmiertelnością. W związku z tym konieczne są dalsze badania naukowe nad poszukiwaniem nowych cząsteczek lub szlaków metabolicznych będących potencjalnymi punktami uchwytu dla działania nowych leków i/lub mających znaczenie prognostyczne. Metabolity powstałe z tryptofanu, w wyniku przemian w tzw. szlaku kinureninowym biorą udział w regulacji wszystkich procesów zaangażowanych w rozwój TU: procesów immunologicznych, funkcji naczyń krwionośnych oraz procesów remodelingu tkanki łącznej.

Cel badania: Celem niniejszej pracy była ocena roli układu kinureninowego w TU poprzez analizę porównawczą parametrów układu kinureninowego (stężenia tryptofanu (TRP), kinureniny (KYN), 3OH-kinureniny (3-OHKYN) oraz stosunku stężenia tryptofanu do stężenia kinureniny (wskaźnik T/K) w grupie chorych na twardzinę układową i u osób zdrowych oraz korelacji ich stężeń z obrazem klinicznym .

Materiał i metody: Do badania włączono 72 chorych z TU rozpoznaną na podstawie aktualnych kryteriów klasyfikacyjnych TU według ACR/EULAR z 2013 roku i/lub wcześniej obowiązujących kryteriów klasyfikacyjnych opracowanych przez ACR z 1980 roku. Grupa kontrolna liczyła 31 zdrowych osób. Ocena kliniczna chorych na TU obejmowała szereg parametrów klinicznych oraz laboratoryjnych badanych w ramach rutynowej oceny klinicznej chorych. W ramach aktualnego projektu oceniano stężenie w surowicy następujących metabolitów szlaku kinureninowego: tryptofanu (TRP), kinureniny (KYN) i 3OH-kinureniny (3-HKYN). Ponadto, wyliczano stosunek stężenia tryptofanu do stężenia kinureniny: wskaźnik tryptofan/kinurenina (T/K). Oznaczenia wymienionych wyżej metabolitów układu kinureninowego wykonywano w Zakładzie Farmakodynamiki UMB metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) przy pomocy sprzętu chromatograficznego system LC Agilent Technologies serii 1260. Stężenia TRP i KYN mierzono metodą Holmesa, natomiast pomiary stężenia 3-HKYN przeprowadzono w sposób opisany przez Heyesa. Analiza statystyczna została wykonana przy pomocy programu STATISTICA wersja 12.

Wyniki: Analizą objęto 72 chorych z TU, w tym 64 kobiety (co stanowiło 88,9% wszystkich pacjentów) i 8 mężczyzn (11,1% grupy badanej), w wieku od 25 do 78 lat (średnia; +/- SD: 54 lata; +/- 12 lat). Dwudziestu dwóch (30,55%) chorych miało postać uogólnioną, a pozostałych 50 (69,44%) chorych - postać ograniczoną TU. Czas trwania choroby, definiowany od momentu wystąpienia pierwszej, innej niż objaw Raynaud'a, manifestacji TU, wahał się od 0,3 roku do 30 lat i wynosił średnio (+/- SD): 5,39 (+/- 5,6) lat. Czterdziestu (56%) chorych miało wczesny okres TU, natomiast pozostałych 32 (44%) chorych - dłuższy okres trwania choroby. Powikłania narządowe w postaci: śródmiąższowej choroby płuc (ś.ch.p.), nadciśnienia płucnego (NP) i/lub owrzodzeń palców rąk stwierdzono u: 38, 10 i 13 chorych, co stanowiło (odpowiednio): 56%, 14,93% i 20,65% chorych z dostępnymi danymi. Przeciwciała przeciwjądrowe (ANA) stwierdzono u 70 (97,22%) chorych, natomiast poszczególne przeciwciała swoiste obecne były: przeciwciała antycentromerowe (ACA) u 26 chorych, przeciwko topoizomerazie I (anty-topo I) u 24 chorych, a przeciwko polimerazie RNA typu III

(anty-RNAPolIII) u pozostałych 4 chorych, co stanowiło odpowiednio: 37,14%, 34,28% i 5,71% chorych z obecnością autoprzeciwciał.

W grupie chorych z TU stwierdzono istotnie wyższe stężenie KYN (2,80 +/- 1,11 $\mu\text{M/L}$) i 3-HKYN (139,79 +/- 124,90 nM/L) w porównaniu do grupy kontrolnej (odpowiednio: 2,12±0,58 $\mu\text{M/L}$, p=0,001 oraz 70,49±41,01 nM/L, p=0,003) oraz istotnie niższą wartość wskaźnika T/K (13,04±7,05) w stosunku do kontroli (17,46±6,11, p=0,003). Wykazano, że wskaźnik T/K był istotnie niższy u chorych płci męskiej (8,90+/- 2,95) w stosunku do płci żeńskiej (13,56±7,26, p=0,027); w grupie chorych z wczesną postacią choroby (11,30+/- 4,74) w porównaniu z chorymi z dłuższym czasem trwania TU (15,23+/-8,77, p=0,026); w grupie chorych ze ś.ch.p. (10,99 +/- 4,68) w porównaniu do pacjentów bez ś.ch.p. (16,27+/-8,62, p=0,001). Ponadto, wskaźnik T/K wykazał największą liczbę istotnych korelacji z badanymi parametrami klinicznymi lub laboratoryjnymi tj. rozległością zajęcia skóry w skali Rodnana (mRSS) (rS=-0,531), wartością DLCO (rS=0,350) oraz parametrami zapalnymi OB (rS=-0,496) i CRP (rS=-0,312).

Natomiast stężenie KYN wykazało istotną zależność z obecnością ś.ch.p. (2,99 +/- 1,02 $\mu\text{M/L}$ u chorych ze ś.ch.p. w porównaniu do 2,56 +/- 1,27 $\mu\text{M/L}$ bez ś.ch.p., p=0,022), oraz korelowało z punktacją mRSS (rS =0,461) i wartościami OB (rS=0,387).

Z kolei stężenie 3-HKYN było istotnie wyższe (214,06 +/- 95,39 nM/L) u chorych z NP w porównaniu z chorymi bez NP (119,10 +/- 114,19 nM/L) (p=0,0016) oraz korelowało z wartościami PASP (rS=0,415).

Na podstawie uzyskanych wyników wyciągnięto następujące wnioski:

1. U chorych na twardzinę układową występuje zwiększona aktywność układu kinureninowego, czego odzwierciedleniem są podwyższone stężenia kinureniny i 3OH-kinureniny oraz obniżony stosunek stężenia tryptofanu do kinureniny (wskaźnik T/K) we krwi chorych na twardzinę układową w porównaniu z grupą kontrolną.
2. Stwierdzone zależności pomiędzy wyższym stężeniem kinureniny i/lub niższymi wartościami wskaźnika T/K a wyższymi wartościami parametrów zapalnych (OB i CRP) oraz krótszym czasem trwania choroby wskazują na związek aktywności układu kinureninowego z aktywnością twardziny układowej.
3. Wysokie stężenie kinureniny oraz niski wskaźnik T/K we krwi chorych ze śródmiażdżową chorobą płuc w przebiegu twardziny układowej w porównaniu z chorymi na twardzinę układową bez cech śródmiażdżowej choroby płuc sugerują, że układ kinureninowy może mieć znaczenie w patogenezie śródmiażdżowej choroby płuc u chorych na twardzinę układową.
4. Wyższe stężenie kinureniny i/lub obniżona wartość wskaźnika T/K we krwi chorych na twardzinę układową korelują ze stopniem zaawansowania choroby (większy zakres zmian skórnych, niższe wartości DLCO).
5. Wykazane przez nas związki pomiędzy wyższym stężeniem kinureniny i/lub niższymi wartościami wskaźnika T/K a większą aktywnością i stopniem zaawansowania choroby oraz płcią męską sugerują, że parametry te mogą wiązać się z bardziej agresywnym przebiegiem twardziny układowej. Uzyskane wyniki wskazują, że wskaźnik T/K może mieć większą wartość w ocenie przebiegu twardziny układowej niż oznaczane oddzielnie, izolowane parametry układu kinureninowego.

6. Stwierdzone związki pomiędzy wyższym stężeniem 3-OHkinureny w krwi a występowaniem nadciśnienia płucnego oraz wyższymi wartościami skurczowego ciśnienia w tętnicy płucnej u chorych na twardzinę układową sugerują związek tego szlaku układu kinureninowego z rozwojem nadciśnienia płucnego w twardzinie układowej.