

UNIWERSYTET MEDYCZNY W ŁODZI

WYDZIAŁ NAUK O ZDROWIU

lek. Krzysztof Orczyk

**Ocena przydatności nowych biomarkerów
serologicznych w leczeniu i monitorowaniu aktywności
choroby u dzieci z młodzieńczym idiopatycznym
zapaleniem stawów**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Promotor: dr hab. n. med., prof. nadzw. Elżbieta Smolewska

Zakład Reumatologii Dziecięcej

II Katedra Pediatrii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Kierownik Zakładu: dr hab. n. med., prof. nadzw. Elżbieta Smolewska

Łódź 2018

Streszczenie

Młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów (MIZS) jest najczęstszą artropatią zapalną wieku rozwojowego. Do rozpoznania MIZS niezbędne jest utrzymywanie się objawów, bez wyjaśnionej przyczyny, przez co najmniej 6 tygodni u pacjentów poniżej 16. roku życia. Żadne z wykonywanych badań dodatkowych nie stanowi jednoznacznego kryterium diagnostycznego choroby, co może prowadzić do opóźnienia właściwego rozpoznania. Patogeneza MIZS nie została całkowicie poznana. Obecnie obowiązujące teorie opierają się na wyzwalaniu mechanizmów odpornościowych poprzez czynniki środowiskowe u genetycznie predysponowanych osób. Wśród przyczyn ujawnienia się MIZS wymienia się przede wszystkim czynniki infekcyjne, jak również palenie tytoniu, zanieczyszczenie powietrza, stres.

Biorąc pod uwagę wpływ choroby na jakość życia dziecka, pacjentów z MIZS można podzielić na tych o przebiegu łagodnym (występującym najczęściej), umiarkowanym, ciężkim kontrolowanym lub ciężkim przetrwałym. Powszechnie wykorzystywanym narzędziem służącym do oceny stopnia aktywności choroby jest skala JADAS27 (ang. *Juvenile Arthritis Disease Activity Score 27-Joint Reduced Count*). Wskaźnik ten jest obliczany na podstawie ogólnej oceny dokonywanej przez lekarza oraz pacjenta lub jego rodzica, standaryzowanej wartości odczynu Biernackiego (OB) oraz liczby zajętych stawów.

Coraz większym zainteresowaniem reumatologów dziecięcych cieszy się koncepcja leczenia ukierunkowanego na cel (ang. *treat to target*), znajdująca obecnie zastosowanie u dorosłych pacjentów z reumatoidalnym zapaleniem stawów (RZS). W myśl tego innowacyjnego podejścia agresywność terapii uzależniona jest od oczekiwanego rezultatu, którym może być nie tylko osiągnięcie remisji bez leczenia, ale także minimalna aktywność choroby. Kluczowym elementem określającym konieczność intensyfikacji leczenia jest nie tylko ocena aktualnego stopnia aktywności choroby, ale także wykorzystanie wiarygodnych czynników prognostycznych dalszego jej przebiegu. Rutynowo oznaczane u wszystkich pacjentów „klasyczne” markery serologiczne, takie jak: czynnik reumatoidalny (RF), przeciwciała przeciw cytrulinowanemu peptydowi (anty-CCP) oraz przeciwciała przeciwjądrowe (ANA),

nie dostarczają wystarczających informacji rokowniczych. Konieczność zdefiniowania nowych, wiarygodnych biomarkerów mogących determinować postępowanie terapeutyczne u pacjentów z MIZS była motywacją podjęcia badań własnych. W pracy uwzględniono trzy białka o potencjalnym znaczeniu prognostycznym: kalprotektynę (S100A8/A9), kalgranulinę C (S100A12) oraz kadherynę śródbłonkową (VE-kadherynę).

S100A8/A9 jest alarminą wydzielaną przez granulocyty i monocyty. Zgodnie z dostępnym piśmiennictwem może być ona wykładnikiem resztkowej aktywności immunologicznej u pacjentów z MIZS pod nieobecność objawów klinicznych, mogących wskazywać na potrzebę dalszego leczenia. Opublikowane dotychczas badania sugerują również zależność między stężeniem kalprotektyny w surowicy a stopniem aktywności choroby. Kolejny objęty badaniem biomarker – S100A12 – jest swoistym dla granulocytów wskaźnikiem ich aktywności. Białko to jest wiarygodnym wykładnikiem lokalnego stanu zapalnego – jego stężenie w płynie stawowym zaaspirowanym z aktywnych zapalnie stawów jest kilkukrotnie wyższe niż w surowicy. Dostępne analizy wieloczynnikowe podkreślają wysoką wartość prognostyczną S100A12 u pacjentów z MIZS. Początkowe wyższe stężenie kalgranuliny C jest dobrym czynnikiem prognostycznym odpowiedzi na standardowe leczenie modyfikujące przebieg choroby.

Nadekspresja mediatorów stanu zapalnego u pacjentów z MIZS prowadzi do wzrostu przepuszczalności śródbłonka. Jest to spowodowane zaburzeniem funkcji cząstek adhezyjnych, z których najbardziej istotną jest kadheryna śródbłonkowa (VE-kadheryna). Badania prowadzone u pacjentów z RZS sugerowały zależność między stężeniem VE-kadheryny a stopniem aktywności choroby oraz odpowiedzią na leczenie.

Celem pracy było uzyskanie odpowiedzi na następujące pytania:

1. Czy stężenie białek S100A8/A9, S100A12 oraz VE-kadheryny w surowicy u dzieci z MIZS różni się w porównaniu do zdrowych rówieśników?
2. Jakie jest stężenie białek S100A8/A9, S100A12 oraz VE-kadheryny w surowicy u dzieci z MIZS na różnych etapach zaawansowania choroby?
3. Czy istnieje zależność między stężeniami badanych biomarkerów a postacią choroby oraz stopniem jej aktywności?
4. Czy wymienione białka mogą być wykorzystywane w diagnostyce, rokowaniu oraz prognozowaniu odpowiedzi na leczenie?

5. Czy istnieje zależność między nowymi biomarkerami a „klasycznymi” markerami serologicznymi?
6. Czy zasadne byłoby oznaczanie stężenia S100A8/A9 w surowicy u wszystkich pacjentów będących pod opieką reumatologa dziecięcego z powodu MIZS?

Badanie przeprowadzono w grupie 80 pacjentów z MIZS hospitalizowanych w Klinice Kardiologii i Reumatologii Dziecięcej w okresie styczeń 2017 – luty 2018. U 53 osób próbki krwi pobrano w dwóch punktach czasowych (średnio po $102,4 \pm 26,0$ dniach) celem oceny dynamiki stężeń badanych biomarkerów. Wyniki uzyskane w grupie badanej porównano z grupą kontrolną, do której włączono 29 pacjentów Kliniki hospitalizowanych z powodu czynnościowych zaburzeń układu krążenia.

Wszystkie badane biomarkery miały istotnie ($p < 0,001$) wyższe stężenia w grupie badanej niż w grupie kontrolnej. Stężenia biomarkerów były niezależne od płci i wieku pacjenta. Nie różniły się także między poszczególnymi postaciami MIZS. S100A8/A9 oraz S100A12 osiągały najwyższe wartości u pacjentów przyjętych do Kliniki z powodu zaostrzenia choroby podstawowej. Uwzględniając skalę JADAS27, najwyższe stężenia dwóch powyższych biomarkerów stwierdzono u dzieci z wysoką aktywnością choroby. Spadek wartości JADAS27 wiązał się z obniżeniem stężenia S100A8/A9 w 58,8%, S100A12 w 66,7%, a VE-kadheryny w 72,5% przypadków. Nie wykazano istotnych różnic w stężeniach badanych biomarkerów między pacjentami, u których wykazano obecność „klasycznych” markerów serologicznych.

Pacjenci przyjmujący systemowe glikokortykosteroidy (GKS) mieli istotnie wyższe stężenia S100A8/A9 oraz niższe wartości VE-kadheryny. Prawdopodobnie wpłynęło to na stwierdzenie ujemnej korelacji między stężeniem VE-kadheryny a aktywnością choroby.

Białka S100A8/A9 oraz S100A12 charakteryzowały się niemal idealną swoistością (odpowiednio 93,1 oraz 100%), VE-kadheryna była natomiast najbardziej czułym (87,5%) markerem diagnostycznym MIZS. Białko S100A12 miało ponadto najwyższą wartość predykcyjną w prognozowaniu wystąpienia zaostrzeń choroby lub wzrostu jej aktywności w ciągu 3-miesięcznej obserwacji (czułość 100%).

W przyszłości najbardziej obiecującą perspektywą długotrwałej oceny aktywności choroby wydaje się wykorzystanie aplikacji w smartfonach wraz z okresowymi oznaczeniami stężeń biomarkerów.

Na podstawie uzyskanych wyników sformułowano następujące wnioski:

1. Uwzględnione w badaniu biomarkery mogą być wykorzystywane jako markery diagnostyczne MIZS: VE-kadheryna jako badanie przesiewowe (wysoka czułość), S100A8/A9 i S100A12 jako badania potwierdzające (niemal idealna swoistość).
2. Badanie stężenia S100A8/A9, jako najłatwiej dostępne, mogłoby być rutynowo wykonywane u dzieci z podejrzeniem MIZS celem przyspieszenia lub wykluczenia rozpoznania.
3. Stężenia badanych biomarkerów nie zależą od uwzględnionych postaci MIZS (skąpostawowej, wielostawowej RF-ujemnej, ERA) ani „klasycznych” markerów serologicznych.
4. Dynamika stężeń VE-kadheryny jest miarodajnym wskaźnikiem odpowiedzi na leczenie. Stosowanie GKS może jednak obniżać wartość prognostyczną tego białka.
5. Białko S100A12 może być wykorzystywane jako czuły marker zaostrzenia MIZS lub utrzymywania się wysokiej aktywności choroby. Wartości tego biomarkera są niezależne od stosowania GKS.