

Agnieszka Nawrocka

Ocena zależności stężeń interleukin 17, 22 i 23 a wybranymi parametrami klinicznymi i immunologicznymi w surowicy chorych na łuszczycę plackowatą

Łuszczycą jest przewlekłą, zapalną chorobą skóry o nieprzewidywalnym przebiegu klinicznym. Etiopatogeneza łuszczycy nie jest w pełni wyjaśniona, a na jej przebieg wpływają czynniki genetyczne, środowiskowe oraz immunologiczne. Kluczową rolę w tym procesie odgrywają limfocyty T, komórki dendrytyczne oraz prozapalne cytokiny i chemokiny. W skórze powstaje środowisko cytokin sprzyjające różnicowaniu się limfocytów T dziewiczych (Th0) w kierunku trzech subpopulacji limfocytów Th: Th1, Th17 i Th22. Dochodzi do wzrostu ilości zróżnicowanych limfocytów Th w skórze oraz zwiększonego wydzielania ich cytokin: INF- γ , TNF- α , IL-17 i IL-22, które stymulują i podtrzymują procesy zapalne w skórze. Chociaż czynnik prowadzący do rozwoju reakcji zapalnej nie jest do końca poznany, to rola cytokin w patogenezie łuszczycy stała się podstawą do wprowadzenia leków biologicznych. Udział i rola poszczególnych cytokin w prowokowaniu i zaostrzaniu przebiegu łuszczycy nie jest całkowicie wyjaśniona i wymaga przeprowadzenia badań na dużych grupach chorych. Dane piśmiennictwa i obserwacje kliniczne wskazują na istotną rolę limfocytów Th17 w patogenezie łuszczycy. Wyjaśnienie czynników odpowiedzialnych za rekrutację komórek zapalnych do tkanek może mieć istotne znaczenie dla zrozumienia mechanizmów powstawania zmian skórnych w przebiegu choroby oraz opracowania nowych metod diagnostycznych i terapeutycznych. Celem pracy była ocena udziału wybranych interleukin związanych z populacją limfocytów Th17 w patogenezie łuszczycy poprzez:

1. Pomiar stężeń IL-17, IL-22 i IL-23 w surowicy.
2. Analizę zależności surowicznych stężeń badanych interleukin z rozległością zmian skórnych ocenioną wg skali BSA oraz nasileniem choroby ocenionym wg skali PASI.
3. Analizę zależności pomiarów surowicznych stężeń interleukin z wybranymi parametrami klinicznymi i immunologicznymi.

Do udziału w badaniu zakwalifikowano 116 chorych na łuszczycę plackowatą (38 kobiet i 78 mężczyzn) w wieku od 18 do 88 lat (średnio 40,8). Z badania wyłączono pacjentów ze współistniejącymi chorobami autoimmunologicznymi, alergicznymi, infekcyjnymi i

nowotworowymi, a także przyjmujących leki, które miałyby wpływ na wynik przeprowadzonych badań. Grupę kontrolną stanowiło dobranych odpowiednio do płci i wieku 36 zdrowych ochotników (15 kobiet i 21 mężczyzn) w wieku od 22 do 54 lat (średnio 29,6), negujących występowanie łuszczycy w wywiadzie osobniczym i rodzinnym. U wszystkich badanych przeprowadzono wywiad lekarski, badanie przedmiotowe oraz oznaczono stężenie IL-17, IL-22 i IL-23 w surowicy. U chorych oceniono rozległość zmian skórnych wg skali BSA, stopień nasilenia choroby wg skali PASI, a także wykonano morfologię krwi obwodowej z oceną obrazu odsetkowego komórek oraz CRP. W zależności od wyniku BSA lub PASI pacjentów podzielono na dwie grupy: grupę chorych z łuszczycą lekką (BSA<3% lub PASI<7) oraz grupę chorych z łuszczycą umiarkowaną i ciężką (BSA≥3% lub PASI≥7). Ponadto wykonano oznaczenia u pacjentów podzielonych na dwie grupy zgodnie z programem lekowym leczenia biologicznego ciężkiej łuszczycy plackowatej: PASI<10 i BSA<10% oraz PASI≥10 i BSA≥10% .

Na podstawie przeprowadzonych badań wykazano, że średnie surowicze stężenie IL-22 w grupie chorych na łuszczycę plackowatą jest wyższe niż u osób zdrowych a różnica jest istotna statystycznie ($p=0,0000001$). Średnie surowicze stężenia IL-17 i IL-23 w grupie chorych na łuszczycę były niższe niż w grupie kontrolnej, a różnica w przypadku obu interleukin istotna statystycznie (odpowiednio: $p=0,006$ i $p=0,024$). Przeprowadzona analiza zależności pomiędzy stężeniem IL-17, IL-22 i IL-23 w surowicy oraz nasileniem choroby ocenionym skalą PASI wykazała korelację zgodną dla wszystkich badanych cytokin, ale istotną statystycznie jedynie w przypadku IL-22 ($p=0,000005$). Analiza zależności pomiędzy stężeniem badanych cytokin w surowicy oraz rozległością zmian skórnych ocenioną skalą BSA wykazała korelację zgodną dla wszystkich badanych cytokin, ale istotną statystycznie w przypadku IL-22 oraz IL-17 (odpowiednio: $p=0,0004$ i $p=0,006$). W przeprowadzonej analizie porównawczej stężeń badanych cytokin w dwóch grupach chorych według skali PASI stwierdzono, że w grupie pacjentów z łuszczycą umiarkowaną i ciężką (PASI≥7) stężenie IL-22 jest wyższe niż w grupie pacjentów z łuszczycą lekką (PASI<7) a różnica stężeń jest istotna statystycznie ($p=0,007384$). W przypadku IL-17 i IL-23 obserwowano wyższe surowicze stężenia w grupie pacjentów z większym nasileniem choroby, ale różnice stężeń nie były istotne statystycznie. W analizie porównawczej stężeń badanych cytokin pomiędzy grupą osób zdrowych a grupą chorych z lekkim nasileniem łuszczycy (PASI<7) stwierdzono, że stężenie IL-22 jest istotnie wyższe w grupie chorych z łuszczycą lekką niż w grupie kontrolnej ($p=0,001170$), a stężenia IL-17 i IL-23 były istotnie niższe w grupie osób z łuszczycą lekką (PASI<7) niż w grupie kontrolnej (odpowiednio $p=0,006523$ i $p=0,002917$).

W przeprowadzonej analizie porównawczej stężeń badanych cytokin w grupie kontrolnej i w grupie chorych z umiarkowaną i ciężką postacią łuszczycy ($PASI \geq 7$) stwierdzono, że podobnie jak w przypadku grupy chorych z lekką postacią choroby, surowicze stężenia IL-22 były wyższe w grupie osób chorych niż zdrowych, natomiast surowicze stężenia IL-17 i IL-23 były niższe w grupie osób z łuszczycą umiarkowaną i ciężką niż w grupie kontrolnej. Różnice stężeń IL-17, IL-22 i IL-23 w badanych grupach były istotne statystycznie (odpowiednio $p=0,017163$, $p=0,000000$, $p=0,039249$).

W analizie porównawczej surowiczych stężeń IL-17, IL-22 i IL-23 w dwóch grupach chorych na łuszczycę plackowatą według skali BSA stwierdzono wyższe stężenia wszystkich badanych cytokin w grupie pacjentów z łuszczycą umiarkowaną i ciężką ($BSA \geq 3\%$), ale nieistotne statystycznie. W analizie porównawczej surowiczych stężeń badanych cytokin w grupie osób z łuszczycą plackowatą lekką ($BSA < 3\%$) i w grupie osób zdrowych stwierdzono niższe stężenia IL-17, IL-22 i IL-23 w grupie osób chorych, a różnica stężeń była istotna statystycznie (odpowiednio: $p=0,033743$, $p=0,001538$, $p=0,013429$). Porównując stężenia badanych cytokin pomiędzy grupą osób z łuszczycą umiarkowaną i ciężką ($BSA \geq 3\%$) a grupą kontrolną stwierdzono istotnie wyższe stężenia IL-17, IL-22 i IL-23 w grupie chorych z $BSA \geq 3\%$ (odpowiednio $p=0,009767$, $p=0,000000$ i $p=0,020629$).

Analiza porównawcza surowiczych stężeń IL-17, IL-22 i IL-23 w grupie chorych z łuszczycą ciężką (BSA i $PASI \geq 10$) i w grupie chorych z łuszczycą lekką i umiarkowaną (BSA i $PASI < 10$) wykazała istotnie statystycznie wyższe stężenia wszystkich badanych cytokin u pacjentów z łuszczycą ciężką (odpowiednio: $p=0,003078$, $p=0,001868$, $p=0,036705$).

W analizie porównawczej surowiczych stężeń IL-17, IL-22 i IL-23 w grupie chorych z łuszczycą lekką i umiarkowaną ($BSA < 10\%$ i $PASI < 10$) i w grupie kontrolnej stwierdzono istotnie wyższe stężenia IL-22 u pacjentów z łuszczycą lekką i umiarkowaną ($BSA < 10\%$ i $PASI < 10$) ($p=0,0001$). Surowicze stężenia pozostałych badanych cytokin (IL-17 i IL-23) były istotnie statystycznie niższe w grupie chorych na łuszczycę lekką i umiarkowaną ($BSA < 10\%$ i $PASI < 10$) (odpowiednio: $p=0,0001$ i $p=0,0002$). W grupie chorych z łuszczycą ciężką (BSA i $PASI \geq 10$) i w grupie kontrolnej stwierdzono wyższe stężenia wszystkich badanych cytokin u pacjentów z łuszczycą ciężką (BSA i $PASI \geq 10$). Różnice surowiczych stężeń IL-17, IL-22 i IL-23 w badanych grupach były istotne statystycznie jedynie w przypadku IL-22 ($p=0,0001$).

Przeprowadzona analiza zależności wykazała istotną statystycznie ujemną korelację pomiędzy czasem trwania zaostrzenia a stężeniem IL-22 w surowicy ($p=0,0003$). Nie

stwierdzono istotnej statystycznie zależności pomiędzy czasem trwania zaostrzenia a stężeniem pozostałych cytokin w surowicy. Podobnie, przeprowadzona analiza zależności wykazała istotną statystycznie dodatnią korelację pomiędzy czasem trwania choroby a stężeniem IL-22 w surowicy ($p=0,01$). Nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności pomiędzy czasem trwania choroby a stężeniem pozostałych cytokin w surowicy.

Na podstawie przeprowadzonych badań i analizy ich wniosków wykazano, że:

1. Wyniki badań własnych potwierdziły udział interleukin związanych z populacją limfocytów Th17 w patogenezie łuszczycy plackowatej.
2. Obniżone stężenia IL-17 i IL-23 w surowicy mogą wskazywać na ich miejscowe zaangażowanie w rozwoju zmian skórnych u chorych na łuszczycę plackowatą.
3. Pomiar surowiczego stężenia IL-22 ma wyższą wartość w ocenie aktywności choroby w porównaniu do stężeń IL-17 oraz IL-23 i może być w przyszłości rozważany jako element analizy dynamiki procesu zapalnego u chorych na łuszczycę plackowatą.

ABSTRACT

Psoriasis is a chronic, inflammatory skin disease with unpredictable clinical course. Etiopathogenesis of psoriasis is not fully understood, and its course is influenced by genetic, environmental and immunological factors. T-lymphocytes, dendritic cells, pro-inflammatory cytokines and chemokines play a key role in this process. Special cytokine environment in the skin promotes the differentiation of naive T lymphocytes (Th0) towards the three subpopulations of Th lymphocytes: Th1, Th17 and Th22. This leads to an increase in the number of differentiated Th lymphocytes in the skin and an increased secretion of their cytokines: $\text{INF-}\gamma$, $\text{TNF-}\alpha$, IL-17 and IL-22, which stimulate and maintain inflammatory processes in the skin. Although the factor initiating the inflammatory process is not fully understood, the role of cytokines in the pathogenesis of psoriasis became the basis for the use of biological drugs. The role of particular cytokines in initiating and exacerbating psoriasis is not fully understood and requires additional trials on large groups of patients. Literature data and clinical observations indicate the important role of Th17 lymphocytes in the pathogenesis

of psoriasis. Finding the factors responsible for the recruitment of inflammatory cells to tissues can be important for understanding the mechanisms of psoriatic lesions formation and for the development of new diagnostic and therapeutic methods. The aim of this study was to evaluate the role of selected interleukins associated with Th17 lymphocytes in the pathogenesis of psoriasis by:

1. Measurement of serum concentrations of IL-17, IL-22 and IL-23.
2. Analysis of relationship of IL-17, IL-22 and IL-23 serum concentrations with the extension of skin lesions assessed by BSA scale and severity of psoriasis assessed by PASI scale.
3. Analysis of relationship of tested interleukins' serum concentrations with selected clinical and immunological parameters.

116 patients with plaque psoriasis (38 females and 78 males) between 18 and 88 years old (40.8 on average) were enrolled in the study. Patients with concomitant autoimmune, allergic, infectious diseases and neoplasms, as well as those taking medications that would affect the result of the conducted study were excluded. The control group consists of 36 healthy volunteers, matched according to sex and age (15 women and 21 men) aged 22 to 54 (mean 29.6), negating psoriasis in personal and family's medical history. In all patients medical history was collected, physical examination was conducted and serum concentration of IL-17, IL-22 and IL-23 was tested. The extension of skin lesions (BSA index) and the severity of the disease (PASI index) were evaluated. The blood count, leukocytogram and CRP were performed. Depending on the score of BSA or PASI, patients were divided into two groups: a group of patients with mild psoriasis (BSA <3% or PASI <7) and a group of patients with moderate to severe psoriasis (BSA \geq 3% or PASI \geq 7). In addition, tests were performed in patients divided into two groups according to the biologic treatment program of severe plaque psoriasis: PASI <10 and BSA <10% and PASI \geq 10 and BSA \geq 10%.

The study shows that the mean serum concentration of IL-22 is higher in psoriatic patients than in healthy subjects and the difference is statistically significant ($p = 0.0000001$). The mean serum concentrations of IL-17 and IL-23 were lower in psoriatic patients than in the control group and the differences in case of both interleukins were statistically significant ($p = 0.006$ and $p = 0.024$ respectively). Analysis of relationship of serum concentration of IL-17, IL-22 and IL-23 with the severity of psoriasis assessed by PASI index showed consistent correlation with all cytokines, but statistically significant only in case of IL-22 ($p =$

0.000005). Analysis of relationship of serum cytokines' concentrations with the extension of skin lesions assessed by BSA index showed consistent correlation with all cytokines, but statistically significant in case of IL-22 and IL-17 ($p = 0.0004$ and $p = 0.006$ respectively). In the group of patients with moderate to severe psoriasis according to PASI score ($PASI \geq 7$) the serum concentration of IL-22 was higher than in patients with mild psoriasis ($PASI < 7$) and the difference was statistically significant ($p = 0.007384$). In case of IL-17 and IL-23, higher serum concentrations were observed in the group of $PASI \geq 7$, but the differences in concentrations were not statistically significant. IL-22 serum concentration was significantly higher in the group of patients with mild psoriasis ($PASI < 7$) than in the control group ($p = 0.001170$), while serum concentrations of IL-17 and IL-23 were significantly lower in the group of mild psoriasis ($PASI < 7$) than in the control group ($p = 0.006523$ and $p = 0.002917$, respectively). Serum IL-22 concentrations were higher in the group of patients with moderate and severe psoriasis ($PASI \geq 7$) than in healthy subjects and the difference was statistically significant ($p = 0.000000$). In contrast, serum IL-17 and IL-23 concentrations were lower in the group of patients with moderate and severe psoriasis ($PASI \geq 7$) than in healthy subjects and the differences were statistically significant ($p = 0.017163$, $p = 0.039249$, respectively).

In comparative analysis of serum concentrations of IL-17, IL-22 and IL-23 in two groups of patients with plaque psoriasis according to BSA, higher concentrations of all cytokines were found in the group of patients with moderate and severe psoriasis ($BSA \geq 3\%$), but not statistically significant. Lower concentrations of IL-17, IL-22 and IL-23 were found in the group of patients with mild psoriasis ($BSA < 3\%$) than in healthy individuals. The differences in concentrations were statistically significant (respectively: $p = 0.033743$, $p = 0.001538$, $p = 0.013429$). Significantly higher concentrations of IL-17, IL-22 and IL-23 were found in the group of patients with moderate to severe psoriasis ($BSA \geq 3\%$) than in healthy individuals ($p=0,009767$, $p=0,000000$ i $p=0,020629$, respectively).

A comparative analysis of serum concentrations of selected cytokines in the group of patients with severe psoriasis (BSA and $PASI \geq 10$) and mild to moderate psoriasis (BSA and $PASI < 10$) showed statistically significantly higher concentrations of IL-17, IL-22 and IL-23 in patients with severe psoriasis (respectively: $p = 0.003078$, $p = 0.001868$, $p = 0.036705$). IL-22 serum concentrations were significantly higher in patients with mild to moderate psoriasis ($BSA < 10\%$ and $PASI < 10$) than in the control group ($p = 0.0001$). Serum concentrations of IL-17 and IL-23 were statistically significantly lower in the group of patients with mild to moderate psoriasis ($BSA < 10\%$ and $PASI < 10$) ($p = 0.0001$ and $p = 0.0002$ respectively). In the group of patients with severe psoriasis (BSA and $PASI \geq 10$) higher concentrations of all

cytokines were found compared to control group. Differences in serum concentrations of IL-17, IL-22 and IL-23 were statistically significant only in case of IL-22 ($p = 0.0001$).

Analysis of relationship showed statistically significant negative correlation between the duration of the exacerbation and serum concentration of IL-22 ($p = 0.0003$). There was no statistically significant relationship between the duration of the exacerbation and the concentration of other cytokines in the serum. Similarly, the analysis of relationship showed statistically significant positive correlation between the duration of the disease and the concentration of IL-22 in the serum ($p = 0.01$). There was no statistically significant relationship between the duration of the disease and the serum concentration of other cytokines.

Based on conducted research and analysis of results it was found that:

1. The results of own research confirmed the participation of interleukins associated with the Th17 lymphocyte population in the pathogenesis of plaque psoriasis.
2. Decreased levels of IL-17 and IL-23 in serum may indicate local involvement of these interleukins in the development of skin lesions in patients with plaque psoriasis.
3. Measurement of IL-22 serum concentration has a higher value in the assessment of disease activity as compared to IL-17 and IL-23 serum concentrations and may be considered in the future as an element of inflammatory process dynamics analysis in patients with plaque psoriasis.