

Beniamin Grabarek^{1–3}, Dominika Wcisło-Dziadecka⁴, Joanna Gola³

Ocena zmian ekspresji mRNA genów *STAT1*, *STAT2*, *STAT3*, *STAT5* oraz określenie potencjalnej roli metylacji w regulacji ich ekspresji u chorych na łuszczycę stawową

Alterations in mRNA expression of *STAT1*, *STAT2*, *STAT3* and *STAT5* genes and a potential role of methylation in regulation of their expression in psoriatic arthritis

¹Wyższa Szkoła Techniczna w Katowicach, Wydział Medyczny, Katowice, Polska

²Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Krakowie, Kraków, Polska

³Zakład Biologii Molekularnej, Katedra Biologii Molekularnej, Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny, Katowice, Polska

⁴Katedra Kosmetologii, Wydział Nauk Farmaceutycznych, Śląski Uniwersytet Medyczny, Katowice, Polska

Adres do korespondencji: Dr n. med. Beniamin Grabarek, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Krakowie, ul. Gamcarska 11, 31-115 Kraków, Polska, e-mail: bgrabarek7@gmail.com, ORCID: 0000-0003-1633-7145

Streszczenie

Cel: Cele pracy obejmowały analizę profilu ekspresji genów *STAT1*, *STAT2*, *STAT3*, *STAT5* u chorych na łuszczycę stawową w porównaniu ze zdrowymi ochotnikami (grupa kontrolna) oraz określenie potencjalnego udziału metylacji w regulacji ekspresji wymienionych genów. **Materiał i metoda:** Materiałem do wyznaczenia mikromacierzowego profilu ekspresji analizowanych genów była krew pełna uzyskana od chorych na łuszczycę stawową oraz od osób zdrowych. Analiza molekularna obejmowała następujące etapy: ekstrakcja RNA, jakościowa i ilościowa analiza ekstraktów oraz przeprowadzenie eksperymentu mikromacierzowego. Oznaczenia występowania wysp CpG dokonano przy użyciu narzędzi bioinformatycznych: NCBI Reference Sequence oraz MethPrimer (plus CpG Island Prediction). **Wyniki:** Analizy wyników dokonano z wykorzystaniem infrastruktury PL-Grid (www.plgrid.pl) wraz z programem GeneSpring 12.6.1 ($p < 0,05$). Zaobserwowano różnice profilu ekspresji analizowanych transkryptów u chorych na łuszczycę w porównaniu z grupą kontrolną: *STAT1* (FC = +2,88); *STAT3* (FC = +2,09); *STAT5* (FC = +1,62), *STAT2* (FC = –3,60). Dla każdego z genów potwierdzono obecność co najmniej jednej wyspy CpG w sekwencji nukleotydowej. **Wnioski:** U chorych na łuszczycę stawową w porównaniu z grupą kontrolną obserwuje się wzrost ekspresji analizowanych genów, z wyjątkiem *STAT2*. Uzyskane wyniki wskazują na możliwość regulacji ekspresji tych genów poprzez metylację DNA. Przy analizie wzoru metylacji należy uwzględnić heterogenność populacji komórek tworzących tkankę. Poznanie mechanizmów molekularnych pozwoli na opracowywanie i wdrażanie nowych strategii farmakoterapii.

Słowa kluczowe: łuszczycza, metylacja, adalimumab, ścieżka sygnałowa IL-12/IL-23, STAT

Abstract

Aim: The goals of this study were to analyse *STAT1*, *STAT2*, *STAT3* and *STAT5* gene expression profiles in psoriatic arthritis patients in comparison to healthy volunteers (control group) and to determine a potential role of methylation in the regulation of the expression of these genes. **Material and method:** The material for the determination of the microarray expression profile of the analysed genes was full blood obtained from psoriatic arthritis patients and healthy volunteers. The molecular analysis involved the following stages: RNA extraction, qualitative and quantitative analysis of the extracts and a microarray experiment. The determination of CpG islands was performed using bioinformatic tools: NCBI Reference Sequence and MethPrimer (plus CpG Island Prediction). **Results:** The analyses were performed using the PL-Grid infrastructure (www.plgrid.pl) with GeneSpring 12.6.1 ($p < 0.05$). There were differences in the expression profiles of the analysed transcripts between psoriasis patients and controls: *STAT1* (FC = +2.88), *STAT3* (FC = +2.09), *STAT5* (FC = +1.62) and *STAT2* (FC = –3.60). For each of these genes, at least one CpG island was detected in the nucleotide sequence. **Conclusions:** There was an increase in the expression of the analysed genes, except for *STAT2*, in patients with psoriatic arthritis compared to controls. The results indicate that the expression of these genes may be regulated by DNA methylation. When analysing the methylation pattern, the heterogeneity of cell populations that make up the tissue must be taken into account. Learning about the molecular mechanisms will enable development and implementation of new strategies in pharmacotherapy.

Keywords: psoriasis, methylation, adalimumab, IL-12/IL-23 signalling pathway, STAT

WSTĘP

Łuszczycza jest opisywana jako przewlekła dermatoza o złożonej immunopatogenezie⁽¹⁾. Kluczowym czynnikiem warunkującym rozwój oraz postęp choroby jest stała, niepoddająca się kontroli nieprawidłowa ekspresja cytokin i innych czynników o właściwościach prozapalnych. Do głównych cytokin związanych z łuszczycą zaliczamy: czynnik martwicy nowotworu (*tumour necrosis factor*, TNF) oraz interleukiny (IL): IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IL-17, IL-23, transformujący czynnik wzrostu beta (*transforming growth factor beta*, TGF- β) i interferon gamma (IFN- γ). Nieprawidłowa proliferacja keratynocytów skutkuje powstaniem blaszek łuszczycowych, stanowiących najbardziej rozpoznawalny objaw omawianej choroby⁽²⁾. Zmiany chorobowe lokalizują się przede wszystkim w obrębie owłosionej skóry, wyprostnych części kończyn górnych i dolnych oraz okolicy łędźwiowo-krzyżowej. Najczęściej występującą postacią choroby jest łuszczycza zwykła, a w dalszej kolejności: łuszczycza krostkowa, łuszczycza paznokci, postać erytrodermiczna oraz łuszczycowe zapalenie stawów⁽¹⁾.

W przebiegu łuszczycy odnotowuje się zwiększone prawdopodobieństwo wystąpienia zawału mózgu, zawału serca i innych chorób o podłożu naczyniowo-krążeniowym. Zbadano również związek między stylem życia a ryzykiem wystąpienia łuszczycy⁽³⁾.

Szlakiem sygnalizacyjnym odgrywającym ważną rolę w indukcji i rozwoju łuszczycy jest ścieżka IL-12/IL-23. Interleukiny te poprzez interakcje ze swoistymi dla siebie receptorami uruchamiają kaskadę, w której kluczowym elementem są białka rodziny STAT⁽⁴⁾.

Rodzina białek STAT uczestniczy w regulacji procesów proliferacji, apoptozy, angiogenezy oraz odgrywa kluczową rolę w indukcji i rozwoju procesu zapalnego. Rolę STAT2, STAT4, STAT6 podkreśla się przede wszystkim w kontekście rozwoju limfocytów T, natomiast STAT1, STAT3, STAT5 – w odniesieniu do ścieżki sygnalizacyjnej zależnej od IFN- γ ⁽⁵⁾. Z molekularnego punktu widzenia przedstawiciele białek STAT są czynnikami transkrypcyjnymi wpływającymi na poziom ekspresji innych genów, np. TNF, IFN- γ , TGF- β , IL-12, IL-17, IL-23⁽⁴⁾.

Aby w pełni zrozumieć molekularne podłoże łuszczycy, konieczne jest określenie roli epigenetycznych mechanizmów regulacji ekspresji genów, która stanowi obecnie szeroko komentowane zagadnienie⁽⁶⁾. Jest to ważne, gdyż aktualnie pojawia się coraz więcej przesłanek wiążących wystąpienie łuszczycy ze stylem życia, aktywnością fizyczną, chorobami współistniejącymi⁽¹⁻³⁾. Tym samym pogłębianie wiedzy o molekularnym podłożu tej choroby wraz z uwzględnieniem roli epigenomu pomoże wytypować grupy osób szczególnie zagrożone wystąpieniem łuszczycy, co przełoży się na wcześniejsze uchwycenie niepokojących zmian. Kluczowymi mechanizmami epigenetycznymi w regulacji przepływu informacji genetycznej są metylacja DNA, mikroRNA oraz modyfikacje białek histonowych⁽⁷⁾. W swoich poprzednich pracach autorzy skupili się na zagadnieniach wpływu

cząsteczek mikroRNA na aktywność transkrypcyjną genów^(8,9), dlatego też cele niniejszego opracowania obejmują określenie zmian ekspresji *STAT1*, *STAT2*, *STAT3*, *STAT5* u chorych na łuszczycę stawową w porównaniu z poziomem ekspresji w grupie kontrolnej zdrowych ochotników oraz określenie potencjalnego udziału metylacji w regulacji ekspresji wspomnianych genów.

MATERIAŁ I METODA

Materiał do badań stanowiła krew pełna pobrana od chorych na łuszczycę stawową zakwalifikowanych do terapii anti-TNF (adalimumab) oraz od zdrowych ochotników.

Całkowita liczba osób zakwalifikowanych do farmakoterapii adalimumabem jako lekiem pierwszego wyboru wynosiła 7 osób (5 mężczyzn, 2 kobiety, w wieku $47,2 \pm 9,86$ roku). Krew pełna została pobrana do probówek PAXgene Blood RNA Tube, co było etapem koniecznym dla wykonania dalszych analiz. Do analizy mikromacierzy oligonukleotydowych zakwalifikowano 3 próbki krwi pobrane od chorych na łuszczycę stawową oraz 3 próbki od zdrowych ochotników, bez dolegliwości dermatologicznych. Wszystkie osoby uczestniczące w badaniu wyraziły świadomą, dobrowolną pisemną zgodę na udział w nim oraz związane z nim procedury. Badanie zostało przeprowadzone za zgodą Komisji Bioetycznej Śląskiego Uniwersytetu w Katowicach – Uchwała nr KNW/0022/KB1/59/I/13/14 z dnia 27.05.2014 r.

Izolację całkowitego RNA przeprowadzono, używając zestawu odczynników PAXgene Blood RNA Kit (IVD) (Qiagen, Valencia, CA, USA) zgodnie z rekomendacjami producenta. Kolejny etap analizy molekularnej był związany z oceną jakościową i ilościową ekstraktów kwasu rybonukleinowego. Jakościowej oceny wyekstrahowanych RNA dokonano poprzez przeprowadzenie rozdziału elektroforetycznego w 1-procentowym żelu agarozowym, który został wybarwiony bromkiem etydyny. Z kolei analiza ilościowa uzyskanych ekstraktów RNA polegała na analizie spektrofotometrycznej przy długości fali 260 nm (GeneQuant II firmy Pharmacia Biotech Uppsala, Szwecja).

Wyznaczenie profilu mikromacierzowego obejmowało użycie 8 μ g całkowitego RNA, które stanowiło matrycę do syntezy dwuniciowego cDNA. Następnie przystąpiono do syntezy biotynylowanego cRNA oraz jego pofragmentowania. Trzeci etap stanowiła 16-godzinna hybrydyzacja z sondami, umieszczonymi na płycie mikromacierzowej HG-133A_2.0. W kolejnych etapach przeprowadzono: płukanie i barwienie kompleksem streptawidyna-fikoerytryna, zgodnie z zaleceniami producenta. Ostatni etap analizy mikromacierzowej związany był ze skanowaniem mikromacierzy w skanerze GeneArray (Agilent). Analizy wyników dokonano przy użyciu infrastruktury PL-Grid (www.plgrid.pl) wraz z programem GeneSpring 12.6.1. Drugą część pracy stanowiła predykcyjna ocena wpływu metylacji na ekspresję omawianych genów z wykorzystaniem narzędzia bioinformatycznego MethPrimer (plus CpG Island Prediction; www.urogene.org/cgi-bin/methprimer/methprimer.cgi).

ID sondy	Symbol genu	$p < 0,05$	FC (chorzy vs zdrowi)	Kierunek zmiany ekspresji Wzrost/spadek
209969_s_at	STAT1	0,0018423498	+2,5568044	Wzrost
205170_at	STAT2	0,0028492145	-3,3571987	Spadek
208991_at	STAT3	0,0013560341	+1,9590447	Wzrost
212549_at	STAT5	0,0019445942	+1,5445274	Wzrost

FC – fold change – wielokrotność zmiany ekspresji genu.

Tab. 1. Wielokrotność zmiany ekspresji mRNA genów STAT1, STAT2, STAT3, STAT5 u chorych na łuszczycę stawową w porównaniu z grupą kontrolną ($p < 0,05$)

Symbol genu	Numer dostępu	Liczba wysp CpG	Wielkość wyspy CpG (pz)	Położenie wyspy CpG w sekwencji nukleotydowej
STAT1	NM_007315	2	800 113	48–327 1681–1793
STAT2	NM_005419	1	146	48–193
STAT3	NM_003150	2	177 184	48–224 843–1026
STAT5	NM_012448	3	141 107 157	47–187 902–1008 2413–2569

pz – pary zasad.

Tab. 2. Lokalizacja i położenie wysp CpG dla STAT1, STAT2, STAT3, STAT5

Analizy dokonano na podstawie sekwencji referencyjnej genu dostępnej w bazie NCBI (NCBI Reference Sequence; www.ncbi.nlm.nih.gov). Na podstawie danych z piśmiennictwa w MethPrimer (plus CpG Island Prediction) wybrano następujące wartości parametrów: „rozmiar wyspy” >100 nukleotydów, „obserwowany/oczekiwany stosunek CpG” = 0,60 i „odsetek G plus C” = 50,0⁽¹⁰⁾.

WYNIKI

Analizując profil ekspresji genów kodujących białka STAT u chorych na łuszczycę stawową w porównaniu ze zdrowymi ochotnikami, zaobserwowano wzrost aktywności transkrypcyjnej STAT1, STAT3, STAT5, przy czym relacja krotności zmiany ekspresji wybranych genów była następująca: STAT1 $>$ STAT3 $>$ STAT5 $>$ STAT2. Jedynie dla genu STAT2 zaobserwowano niemal 3,5-krotny spadek ekspresji w porównaniu z grupą kontrolną (tab. 1).

Druga część pracy, związana z predykcyjną oceną metylacji wyselekcjonowanych w eksperymencie mikromacierzowym genów kodujących białka z rodziny STAT, wykazała, że w sekwencji nukleotydowej wszystkich analizowanych cząsteczek stwierdza się występowanie wysp CpG. W przypadku STAT1 i STAT3 obserwuje się dwie wyspy CpG, dla STAT2 tylko jedną wyspę CpG, z kolei dla STAT5 trzy wyspy CpG. Wielkość wysp CpG mieści się w przedziale od 107 par zasad (dla STAT5) do 280 par zasad (dla STAT1) (tab. 2).

OMÓWIENIE

Przesłanką do oceny ekspresji genów kodujących białka STAT1, STAT2, STAT3 oraz STAT5 u chorych na łuszczycę w porównaniu z grupą kontrolną, którą stanowili zdrowi

ochotnicy, było zaobserwowanie przez autorów zmian aktywności transkrypcyjnej genów białek STAT w fibroblastach skóry ekspozowanych na adalimumab w stężeniu 8 $\mu\text{g/ml}$ medium (co odpowiada średniemu stężeniu terapeutycznemu w surowicy chorych na łuszczycę leczonych tym lekiem)⁽⁹⁾. Adalimumab to ludzkie przeciwciało monoklonalne anty-TNF, rekomendowane do stosowania w łuszczycy o zastrzeniu od umiarkowanego do ciężkiego oraz w chorobie Leśniowskiego-Crohna^(1,11). Kryteria włączenia do terapii biologicznej według Rekomendacji Polskiego Towarzystwa Dermatologicznego są bardzo rygorystyczne⁽¹²⁾. W wyniku inhibicji TNF przez adalimumab zablokowany zostaje szlak sygnalizacyjny uruchamiany poprzez interakcje TNF z właściwymi dla niego receptorami – TNFR1 oraz TNFR2. Niezależnie jednak od uniemożliwienia w ten sposób wywierania biologicznych efektów przez TNF zablokowaniu przez adalimumab nie ulegają inne kaskady sygnalizacyjne⁽¹³⁾. Istotną rolę w patogenezie łuszczycy odgrywiają ścieżki sygnałowe IL-12/IL-23⁽⁴⁾. Najlepiej poznana i szeroko opisywana jest ścieżka sygnalizacyjna JAK/STAT, aktywowana przez IL-12/IL-23, w której krytyczną rolę odgrywiają białka z rodziny STAT. Końcowymi produktami wspomnianego szlaku są przede wszystkim: TNF, TGF- β , IL-17, IFN- γ . Obserwujemy więc „zjawisko błędnego koła”, gdzie nadmierne wydzielanie jednej cytokiny przyczynia się do wzrostu stężenia kolejnej. Na przykład jednym z efektów działania TNF jest wzrost sekrecji IL-12 oraz IL-23, co powoduje z kolei aktywację głównie ścieżki JAK/STAT, której końcowym produktem jest TNF⁽¹⁴⁾.

Dlatego też zagadnieniem niezwykle istotnym dla lepszego zrozumienia złożonych mechanizmów leżących u podstaw łuszczycy, a także innych chorób o podłożu prozapalnym jest poznanie ich podłoża molekularnego, w tym interakcji

pomiędzy poszczególnymi cytokinami, szlakami sygnałowymi o kluczowym znaczeniu dla choroby⁽¹⁵⁾. Przyczyni się to do opracowania nowych strategii terapeutycznych oraz skutecznej i bezpiecznej farmakoterapii łuszczycy⁽¹⁶⁾.

W ramach niniejszej pracy autorzy postanowili też ocenić możliwość udziału metylacji DNA w kontroli ekspresji omawianych genów. Jako metylację DNA określa się odwracalną modyfikację DNA bez zmian w jego sekwencji nukleotydowej. Najczęściej grupa metylowa ($-CH_3$) zostaje przyłączona do cytozyny dinukleotydów CpG. Skutkiem metylacji jest wyciszenie ekspresji danego genu⁽¹⁷⁾.

W swoim badaniu autorzy odnotowali wzrost aktywności transkrypcyjnej *STAT1*, *STAT3*, *STAT5* oraz wyciszenie ekspresji *STAT2*.

Gao i wsp. zaobserwowali, że zastosowanie inhibitora JAK w leczeniu łuszczycy w znacznym stopniu powoduje obniżenie ekspresji *STAT1* oraz *STAT3*. Stwierdzili oni wyciszenie ekspresji tych genów w hodowli fibroblastów maziówkowych oraz w biopsjach tkanek uzyskanych od pacjentów z rozpoznaną łuszczycą⁽¹⁸⁾. Obserwacje poczynione przez ten zespół badawczy znajdują potwierdzenie we wnioskach autorów niniejszej pracy, którzy stwierdzili wzrost ekspresji *STAT1* oraz *STAT3* u chorych na łuszczycę przed wdrożeniem odpowiedniego leczenia. Dlatego też odnotowanie obniżenia poziomu ekspresji tych genów podczas farmakoterapii potwierdza kluczową rolę tych genów oraz ścieżki sygnalizacyjnej JAK/STAT w patogenezie łuszczycy.

Walker i wsp. analizowali zmiany profilu stężeń genów kluczowych dla ścieżki IL-12/IL-23. Zaobserwowali oni nadekspresję *JAK3*, *STAT1*, *STAT4* u chorych na spondyloartrropatie zapalne, chorobę zwyrodnieniową stawów oraz reumatoidalne zapalenie stawów (RZS)⁽¹⁹⁾.

Obserwowany w badaniu autorów większy wzrost aktywności transkrypcyjnej *STAT3* w porównaniu z ekspresją *STAT5* u chorych na łuszczycę wskazuje, że obserwowany profil ekspresji wyselekcjonowanych genów związany jest głównie z aktywnością biologiczną IL-23⁽²⁰⁾.

Niemniej należy pamiętać, że aktywowana przez IL-12/IL-23 kaskada JAK/STAT nie wywiera jedynie negatywnego, destrukcyjnego wpływu. Warto zwrócić uwagę na obserwacje, jakie poczynili Ivashkiv i wsp., którzy podkreślają, że właściwości pro- lub przeciwzapalne składowych ścieżki JAK/STAT zależą od rodzaju komórek otaczającego je mikrośrodowiska. Ponadto wskazują oni na fakt, że efekt działania białek *STAT1* i *STAT3* warunkowany jest stopniem zaawansowania zmian chorobowych⁽²¹⁾.

Analiza profilu mikromacierzowego przeprowadzona w ramach niniejszej pracy wskazuje na blisko 3,5-krotnie obniżoną ekspresję *STAT2* u chorych na łuszczycę stawową. Zaobserwowanie relatywnie dużego obniżenia ekspresji jednego z analizowanych genów przy równoczesnym wzroście ekspresji pozostałych może wynikać z odmiennych funkcji poszczególnych białek rodziny STAT. *STAT2*, *STAT4*, *STAT6* odgrywają główną rolę w rozwoju limfocytów T, podczas gdy *STAT1*, *STAT3*, *STAT5* zaangażowane są przede wszystkim w przekaznictwo sygnałów ścieżek

sygnałowych i wiązane są z procesami nowotworzenia⁽⁵⁾. Stąd też obserwacje autorów zdają się potwierdzać złożoną immunopatogenezę łuszczycy.

Niemniej Johansen i wsp. w biopsjach skóry łuszczycowo zmienionej zaobserwowali podwyższone stężenie *STAT2* w porównaniu z wycinkami uzyskanymi od zdrowych osób⁽²²⁾. Rozbieżność uzyskanych wyników może być uwarunkowana innym rodzajem materiału przeznaczonego do badań molekularnych, odmiennym stopniem zaawansowania choroby, analizą zmiany ekspresji na różnym poziomie przepływu informacji genetycznej. Zestawienie odmiennych profili ekspresji *STAT2* w pracy Johansena i wsp. z obserwacjami autorów również zdaje się wskazywać na złożoność procesów mających miejsce w przebiegu łuszczycy. Być może w reakcji ogólnoustrojowej obserwuje się wyciszenie ekspresji *STAT2*, podczas gdy w biopsjach skórnych pozyskanych ze zmian łuszczycowych stwierdza się nadekspresję *STAT2*. Uzyskanie różnych wzorów ekspresji *STAT2* na poziomie mRNA i białka sugeruje udział mechanizmów epigenetycznych w regulacji ekspresji analizowanego genu. Stwierdzenie to można rozszerzyć w stosunku do pozostałych transkryptów analizowanych przez autorów. W związku z tym w drugiej części pracy autorzy podjęli próbę określenia potencjalnego udziału metylacji w regulacji poziomu genów *STAT1*, *STAT2*, *STAT3*, *STAT5*. Analiza została oparta na ocenie *in silico* przy użyciu programu MethPrimer (plus CpG Island Prediction), która potwierdziła występowanie w sekwencji nukleotydowej analizowanych genów wysp CpG. Badania *in silico* odgrywają kluczową rolę w procesie planowania i przeprowadzania eksperymentów. Są ich pierwszym etapem, poprzez który można stwierdzić, czy zasadne jest prowadzenie bardziej zaawansowanych badań w układach *in vitro* i/lub *in vivo*⁽⁶⁾.

Dla każdego genu omawianego w niniejszej pracy analiza *in silico* wskazała występowanie co najmniej jednej wyspy CpG, potwierdzając możliwość sterowania ekspresją tych genów poprzez mechanizm metylacji sekwencji nukleotydowej DNA. W odniesieniu do łuszczycy analiza mechanizmów regulujących ekspresję genów bez zmian w ich sekwencji jest działaniem jak najbardziej zasadnym, ze względu na obserwowany w przebiegu tej dermatozy udział czynników epigenetycznych⁽²³⁾.

Badania, które przeprowadzili Zhang i wsp., wskazują, że w biopsjach skóry oraz w komórkach mononuklearnych krwi obwodowej (*peripheral blood mononuclear cells*, PBMC) uzyskanych od chorych na łuszczycę obserwuje się nieprawidłowy wzór metylacji metylotransferaz i demetylotransferaz⁽²⁴⁾. Tym samym zmiany łuszczycowe mogą być równoczesnym wynikiem zaburzeń metylacji genów odpowiedzialnych za utrzymanie prawidłowego wzorca metylacji (geny kodujące metylotransferazy i demetylotransferazy) oraz tych, które pełnią kluczową funkcję w indukcji i rozwoju stanu zapalnego leżącego u podstaw tej dermatozy.

Oceniając znaczenie i udział mechanizmów epigenetycznych w łuszczycy, należy mieć na względzie heterogenność populacji komórek tworzących tkankę skórną, przez

co oczekiwane zmiany mogą zostać potwierdzone tylko u części chorych. Poza tym sam stan zapalny wiąże się ze zmianą proporcji ilości poszczególnych rodzajów komórek, np. zwiększenie populacji makrofagów, nadmierna proliferacja keratynocytów w obrębie tkanki. Ważnym zagadnieniem jest też mozaikowość komórek, czyli prezentowanie nieprawidłowych wzorów ekspresji genów tylko przez część komórek. Dlatego też oceniając np. metylację pomiędzy grupą badaną a kontrolną, należy mieć na uwadze możliwość, że zmiany te mogą wynikać tylko z odmiennego składu komórek tworzących tkankę⁽²⁵⁾. Trzeba jednak pamiętać, że w chorobach o podłożu prozapalnym metylacja DNA nie zawsze jest zjawiskiem korzystnym. Na przykład metylacja STAT1 skutkuje wzrostem ekspresji IFN- γ oraz wzmoczoną proliferacją nieprawidłowych komórek⁽²⁶⁾.

Identyfikacja wzorców metylacji DNA związanych z łuszczycą, w tym w odniesieniu do białek rodziny STAT, daje nowe spojrzenie na patogenezę tej dermatozy i wskazuje na możliwość opracowywania nowych strategii terapeutycznych.

WNIOSKI

1. U chorych na łuszczycę stawową obserwuje się profil ekspresji *STAT1*↑, *STAT2*↓, *STAT3*↑, *STAT5*↑ odmienny niż u zdrowych osób.
2. Ekspresja analizowanych genów może być regulowana poprzez mechanizm metylacji DNA.
3. Należy mieć indywidualne i holistyczne podejście do pacjenta, by poprawnie i odpowiednio wcześniej zdiagnozować łuszczycę, charakteryzującą się złożoną patogenezą.

Konflikt interesów

Autorzy nie zgłaszają żadnych finansowych ani osobistych powiązań z innymi osobami lub organizacjami, które mogłyby negatywnie wpłynąć na treść publikacji oraz rościć sobie prawo do tej publikacji.

Piśmiennictwo

1. Tsoi LC, Stuart PE, Tian C et al.: Large scale meta-analysis characterizes genetic architecture for common psoriasis associated variants. *Nat Commun* 2017; 8: 15382.
2. Neneman A, Adamski Z: Aspekty kliniczne i epidemiologiczne zaburzeń ogólnoustrojowych u chorych na łuszczycę. *Forum Med Rodz* 2009; 3: 447–453.
3. Miller IM, Ellervik C, Yazdanyar S et al.: Meta-analysis of psoriasis, cardiovascular disease, and associated risk factors. *J Am Acad Dermatol* 2013; 69: 1014–1024.
4. Teng MW, Bowman EP, McElwee JJ et al.: IL-12 and IL-23 cytokines: from discovery to targeted therapies for immune-mediated inflammatory diseases. *Nat Med* 2015; 21: 719–729.
5. Poczęta M, Bednarek I: STAT3 – ukryty czynnik transkrypcyjny celem terapii przeciwnowotworowych. *Ann Acad Med Siles* 2013; 67: 133–141.
6. Rath SN, Das D, Konkimalla VB et al.: *In silico* study of miRNA based gene regulation, involved in solid cancer, by the assistance of Argonaute protein. *Genomics Inform* 2016; 14: 112–124.

7. O’Rielly DD, Rahman P: Genetic, epigenetic and pharmacogenetic aspects of psoriasis and psoriatic arthritis. *Rheum Dis Clin North Am* 2015; 41: 623–642.
8. Wcisło-Dziadecka D, Gola J, Grabarek B et al.: Effect of adalimumab on the expression of genes encoding TNF- α signal paths in skin fibroblasts *in vitro*. *Postepy Dermatol Alergol* 2018; 35: 413–422.
9. Grabarek B, Wcisło-Dziadecka D, Gola J et al.: Changes in the expression profile of JAK/STAT signaling pathway genes and miRNAs regulating their expression under the adalimumab therapy. *Curr Pharm Biotechnol* 2018; 19: 556–565.
10. Li LC, Dahiya R: MethPrimer: designing primers for methylation PCRs. *Bioinformatics* 2002; 18: 1427–1431.
11. Wcisło-Dziadecka D, Zbiciak M, Brzezińska-Wcisło L et al.: Anti-cytokine therapy for psoriasis – not only TNF- α blockers. Overview of reports on the effectiveness of therapy with IL-12/IL-23 and T and B lymphocyte inhibitors. *Postepy Hig Med Dosw* 2016; 70: 1198–1205.
12. Reich A, Szepietowski J, Adamski Z et al.: Łuszczycyca. Rekomendacje diagnostyczno-terapeutyczne Polskiego Towarzystwa Dermatologicznego. Część II: łuszczycyca umiarkowana do ciężkiej. *Dermatol Rev/Przeł Dermatol* 2018; 105: 329–357.
13. Lubecka-Macura A, Kohut M: Nadrodzina TNF – mechanizm działania, funkcje biologiczne i możliwości terapeutyczne. *Prz Gastroenterol* 2010; 5: 303–309.
14. Alwan W, Nestle FO: Pathogenesis and treatment of psoriasis: exploiting pathophysiological pathways for precision medicine. *Clin Exp Rheumatol* 2015; 33 Suppl 93: S2–S6.
15. Netea MG, Balkwill F, Chonchol M et al.: A guiding map for inflammation. *Nat Immunol* 2017; 18: 826–831.
16. Conrad C, Gilliet M: Psoriasis: from pathogenesis to targeted therapies. *Clin Rev Allergy Immunol* 2018; 54: 102–113.
17. Zmarzły N, Wojdas E, Skubis A et al.: DNA methylation: gene expression regulation. *Acta Univ Lodz Folia Biol Oecol* 2016; 12: 1–10.
18. Gao W, McGarry T, Orr C et al.: Tofacitinib regulates synovial inflammation in psoriatic arthritis, inhibiting STAT activation and induction of negative feedback inhibitors. *Ann Rheum Dis* 2016; 75: 311–315.
19. Walker JG, Smith MD: The Jak-STAT pathway in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2005; 32: 1650–1653.
20. Floss DM, Schröder J, Franke M et al.: Insights into IL-23 biology: from structure to function. *Cytokine Growth Factor Rev* 2015; 26: 569–578.
21. Ivashkiv L, Hu X: The JAK/STAT pathway in rheumatoid arthritis: pathogenic or protective? *Arthritis Rheum* 2003; 48: 2092–2096.
22. Johansen C, Rittig AH, Mose M et al.: STAT2 is involved in the pathogenesis of psoriasis by promoting CXCL11 and CCL5 production by keratinocytes. *PLoS One* 2017; 12: e0176994.
23. Zhang P, Zhao M, Liang G et al.: Whole-genome DNA methylation in skin lesions from patients with psoriasis vulgaris. *J Autoimmun* 2013; 41: 17–24.
24. Zhang P, Su Y, Chen H et al.: Abnormal DNA methylation in skin lesions and PBMCs of patients with psoriasis vulgaris. *J Dermatol Sci* 2010; 60: 40–42.
25. Gudjonsson JE, Krueger G: A role for epigenetics in psoriasis: methylated cytosine–guanine sites differentiate lesional from nonlesional skin and from normal skin. *J Invest Dermatol* 2012; 132: 506–508.
26. Mowen KA, Tang J, Zhu W et al.: Arginine methylation of STAT1 modulates IFN α / β -induced transcription. *Cell* 2001; 104: 731–741.