

**Określenie biomarkerów
związanych z obrazem klinicznym
oraz odpowiedzią na leczenie
u chorych na spondyloartropatie osiowe**

Streszczenie rozprawy doktorskiej Bartosza Bugaja

Wrocław, 2023

Streszczenie w języku polskim

Wstęp

Spondyloartropatie (SpA) to grupa chorób, w których dochodzi do zapalenia stawów kręgosłupa i tkanek okołokręgosłupowych, stawów obwodowych, przyczepów ścięgniastych oraz zmian w narządach poza układem ruchu. Wyróżnia się postać osiową SpA (axSpA), w której dominują objawy ze strony kręgosłupa oraz postać obwodową, manifestującą się głównie zapaleniem stawów kończyn dolnych, ścięgien i palców. Wśród objawów pozastawowych najczęściej obserwuje się zapalenie błony naczyniowej oka (uveitis), następnie łuszczycę i nieswoiste zapalenia jelit (IBD, ang. inflammatory bowel disease).

Patogeneza axSpA nie jest do końca poznana. Ważną rolę w rozwoju choroby odgrywają czynniki genetyczne i środowiskowe. Wśród genów duży wkład w dziedziczność choroby ma ludzki antygen leukocytny B-27 (HLA-B27). Zidentyfikowano także wiele loci poza głównym układem zgodności tkankowej (MHC). Funkcjonalnie niektóre odpowiadają za prezentację antygenów, część bierze udział w odpowiedzi Th17, a inne regulują funkcje makrofagów i komórek T.

Liczne pytania dotyczą postępowania z chorymi w praktyce klinicznej. Ze względu na brak specyficznych biomarkerów rozpoznanie oparte jest na połączeniu objawów klinicznych, wyników badań laboratoryjnych i obrazowych. Również badanie fizykalne w przypadku axSpA często jest niemiarodajne, lekarze nie są w stanie ocenić zapalenia stawów kręgosłupa. Proces diagnozy może trwać wiele lat. W terapii problemem jest brak skuteczności leków u części pacjentów lub działania niepożądane. Inne pytania dotyczą wyboru leku dla konkretnego pacjenta lub dalszej terapii w przypadku konieczności zmiany farmaceutyki.

Cele badania

Celem badania była próba znalezienia nowych biomarkerów związanych z zachorowalnością na axSpA, a także prognozujących wystąpienie objawów pozastawowych, czy skuteczność terapii anty-TNF (tumour necrosis factor). Ponadto poszukiwano czynników ryzyka aktywnej postaci choroby.

Material i metody

Grupa badana składała się ze 106. chorych: 86. z rozpoznaniem zeszywniającym zapaleniem stawów kręgosłupa wg zmodyfikowanych kryteriów nowojorskich oraz 20. z rozpoznaniem nieradiograficznej axSpA wg kryteriów ASAS. Grupę kontrolną stanowiło 110. zdrowych osób. Zebrano podstawowe dane kliniczne oraz informacje nt. obecności HLA-B27, występowania zapalenia stawów obwodowych, czy farmakoterapii axSpA. Opisano występowanie następujących objawów pozastawowych: uveitis, zapalenia przyczepów ścięgniastych (enthesitis), łuszczycy oraz IBD.

Obserwacja zaczęła się w momencie rozpoczęcia terapii biologicznej anty-TNF, po stwierdzeniu nieskuteczności leczenia pierwszego stopnia lub gdy istniały przeciwwskazania do takiej terapii. Oznaczono parametry laboratoryjne: CRP i OB, morfologię, kreatyninę, aminotransferazy alaninową i asparaginianową. Aktywność choroby oceniono za pomocą Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index (BASDAI) oraz wizualnej skali analogowej bólu pleców (VAS, ang. Visual Analogue Scale). Kolejne badania monitorujące odpowiedź na terapię anty-TNF wykonano po dwunastu i dwudziestu czterech tygodniach (\pm cztery tygodnie).

Do analizy genetycznej wybrano 10. polimorfizmów pojedynczego nukleotydu (SNP, ang. single nucleotide polymorphism): *ERAP1* rs2287987, *ERAP2* rs2549782, *FCGR2A* rs1801274, *TNF* rs1800629, *TNFRSF1A* rs767455, *TNFRSF1B* rs1061622, *VDR* rs7975232, rs1544410, rs2228570, rs731236.

Wyniki

Częstotliwość genotypów i alleli nie różniła się między populacją badaną a grupą kontrolną. Analiza występowania objawów pozastawowych wykazała zależności dla genotypu *ERAPI* rs2287987 *AA* i enthesitis (*AA* vs *G+*, $p = 0,049$) oraz *TNFRSF1B* rs1061622 *GG* i uveitis (*GG* vs *TT*, $p = 0,042$).

Opisano korelacje dotyczące aktywności choroby przed leczeniem anty-TNF dla *TNFRSF1A* rs767455 *TT* oraz stężenia CRP (*TT* vs *TC*, $p = 0,006$), *TNFRSF1B* rs1061622 *GG* oraz wartości BASDAI (*TT* + *TG* vs *GG*, $p = 0,005$; *TG* vs *GG*, $p = 0,004$) i VAS bólu kręgosłupa (*TT* + *TG* vs *GG*, $p = 0,001$; *TG* vs *GG*, $p = 0,001$; *TT* vs *GG*, $p = 0,002$), a także dla BASDAI oraz polimorfizmów *VDR* rs2228570 *TT* (*CT* vs *TT*, $p = 0,032$; *CC* + *CT* vs *TT*, $p = 0,036$) i rs7975232 *AC* (*AA* vs *AC*, $p = 0,030$).

Potencjał prognozowania skuteczności leczenia anty-TNF wykazały *ERAPI* rs2287987, *ERAP2* rs2549782 oraz *TNFRSF1B* rs1061622 w przypadku pomiaru OB. Ponadto, gdy aktywność choroby oceniono za pomocą wartości BASDAI, stwierdzono istotnie statystyczne zależności dla *TNFRSF1B* rs1061622, *FCGR2A* rs1801274, *VDR* rs731236 i *VDR* rs7975232 ($p < 0,05$).

Wnioski

SNP mają potencjał, żeby zostać biomarkerami przewidującymi przebieg axSpA, co może pozwolić zidentyfikować pacjentów zagrożonych ciężkim przebiegiem choroby lub wystąpieniem objawów pozastawowych i wcześniej zintensyfikować leczenie w grupach ryzyka.

Genotyp *ERAPI* rs2287987 *AA* występował częściej u pacjentów z enthesitis, natomiast *TNFRSF1B* rs1061622 *GG* wśród chorych z uveitis.

Polimorfizmy *TNFRSF1A* rs767455, *TNFRSF1B* rs1061622, *VDR* rs2228570 oraz *VDR* rs7975232 korelowały z aktywnością choroby przed rozpoczęciem leczenia anty-TNF, mierzoną stężeniem CRP oraz parametrami BASDAI i VAS bólu kręgosłupa.

Biomarkerami przewidującymi odpowiedź na leczenie anty-TNF, ocenioną za pomocą BASDAI oraz wartości OB, były: *ERAPI* rs2287987, *ERAP2* rs2549782, *TNFRSF1B* rs1061622, *FCGR2A* rs1801274, *VDR* rs731236 i rs7975232. Profilowanie genetyczne może pomóc w doborze właściwego leku dla konkretnego pacjenta, maksymalizując działanie terapeutyczne i minimalizując efekty uboczne. Takie postępowanie otworzy drogę do personalizacji terapii axSpA.

Streszczenie w języku angielskim

Introduction

Spondyloarthropathies (SpA) are a group of diseases in which there is inflammation in the joints of the spine and peri-spinal tissues, peripheral joints, tendon attachments and involvement of organs outside the musculoskeletal system. A distinction is made between the axial form of SpA (axSpA), in which spinal symptoms predominate, and the peripheral form, manifested mainly by inflammation of the joints of the lower limbs, tendons and fingers. Among extra-articular manifestations, uveitis is the most common, followed by psoriasis and inflammatory bowel disease (IBD).

The pathogenesis of axSpA is not fully understood. Genetic and environmental factors play important roles in the development of the disease. Among the involved genes, human leukocyte antigen B-27 (HLA-B27) has a large contribution to the heritability of the disease. A number of loci outside the major histocompatibility complex (MHC) have also been identified. Functionally, some are responsible for antigen presentation, some are involved in the Th17 response, and others regulate macrophage and T-cell functions.

Numerous questions concern management in clinical practice. Due to the lack of specific biomarkers, diagnosis is based on a combination of clinical symptoms as well as laboratory and imaging results. Additionally, the physical examination for axSpA is often unreliable; doctors are unable to assess arthritis of the spine. The diagnosis process can take many years. In therapy, there are problems associated with a lack of efficacy of the drugs in some patients or drug-related side effects. Other questions relate to the choice of medication for a particular patient or further therapy if a change of pharmaceuticals is necessary.

Aim

The aim of this study was to find new biomarkers associated with the incidence of axSpA, as well as predictors of extra-articular symptoms or the efficacy of anti-TNF (tumour necrosis factor) therapy. In addition, risk factors for the active form of the disease were sought.

Materials and methods

The study group consisted of 106 patients: 86 patients with a diagnosis of ankylosing spondylitis according to the modified New York criteria and 20 patients with a diagnosis of nonradiographic axSpA according to the ASAS criteria. The control group consisted of 110 healthy subjects. Basic clinical data and information on the presence of HLA-B27, occurrence of peripheral arthritis and pharmacotherapy of axSpA were collected. The following extra-articular manifestations have been reported: uveitis, enthesitis, psoriasis and IBD.

Observation began when anti-TNF biological therapy was initiated, after first-stage treatment was found to be ineffective, or when there were contraindications to such therapy. Laboratory parameters were determined: CRP and ESR, morphology, creatinine, alanine and aspartate aminotransferases. Disease activity was assessed using the Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index (BASDAI) and the Visual Analogue Scale (VAS) for back pain. Subsequent tests monitoring the response to anti-TNF therapy were performed after twelve and twenty-four weeks (\pm four weeks).

Ten single nucleotide polymorphisms (SNPs) were selected for genetic analysis: ERAP1 rs2287987, ERAP2 rs2549782, FCGR2A rs1801274, TNF rs1800629, TNFRSF1A rs767455, TNFRSF1B rs1061622, VDR rs7975232, rs1544410, rs2228570, and rs731236.

Results

Genotype and allele frequencies did not differ between the study population and the control group. Analysis of the incidence of extra-articular symptoms showed correlations for ERAP1 genotype rs2287987 AA and enthesitis (AA vs. G+, $p = 0.049$) as well as TNFRSF1B rs1061622 GG and uveitis (GG vs. TT, $p = 0.042$).

Correlations were described regarding disease activity before anti-TNF treatment for *TNFRSF1A* rs767455 *TT* and CRP levels (*TT* vs. *TC*, $p = 0.006$), *TNFRSF1B* rs1061622 *GG* and BASDAI values (*TT + TG* vs. *GG*, $p = 0.005$; *TG* vs. *GG*, $p = 0.004$) and VAS back pain (*TT + TG* vs. *GG*, $p = 0.001$; *TG* vs. *GG*, $p = 0.001$; *TT* vs. *GG*, $p = 0.002$), as well as for BASDAI and *VDR* polymorphisms rs2228570 *TT* (*CT* vs. *TT*, $p = 0.032$; *CC + CT* vs. *TT*, $p = 0.036$) and rs7975232 *AC* (*AA* vs. *AC*, $p = 0.03$).

The predictive potential of anti-TNF treatment efficacy was demonstrated by *ERAPI* rs2287987, *ERAP2* rs2549782 and *TNFRSF1B* rs1061622 when measuring ESR. Moreover, when disease activity was assessed by BASDAI score, statistically significant relationships were found for *TNFRSF1B* rs1061622, *FCGR2A* rs1801274, *VDR* rs731236 and *VDR* rs7975232 ($p < 0.05$).

Conclusions

SNPs have the potential to become biomarkers predicting the course of axSpA, which can identify patients at risk of severe disease or extra-articular manifestations and intensify treatment earlier in at-risk patients.

The *ERAPI* rs2287987 *AA* genotype was more common in patients with enthesitis, while *TNFRSF1B* rs1061622 *GG* was more common among patients with uveitis.

The *TNFRSF1A* rs767455, *TNFRSF1B* rs1061622, *VDR* rs2228570 and *VDR* rs7975232 polymorphisms correlated with disease activity before anti-TNF treatment, as measured by CRP levels as well as BASDAI and VAS of back pain parameters.

Biomarkers with a predictive response to anti-TNF treatment, as assessed by BASDAI and OB values, were *ERAPI* rs2287987, *ERAP2* rs2549782, *TNFRSF1B* rs1061622, *FCGR2A* rs1801274, *VDR* rs731236 and rs7975232. Based on genetic profiling, the right drug can be selected for a particular patient, maximising the therapeutic effect and minimising side effects. This approach will open the way to personalising axSpA therapy.