

STRESZCZENIE

Piodermia zgorzelinowa jest przewlekłą zapalną, niezakaźną chorobą skóry, która ma istotny wpływ na pogorszenie jakości życia pacjentów. Rozległe owrzodzenia rozwijające się w przebiegu choroby są bolesne i utrudniają codzienne funkcjonowanie pacjentów. Piodermia zgorzelinowa pozostaje jedną z najbardziej tajemniczych jednostek dermatologicznych na temat której nadal istnieje wiele kontrowersji. Nazwa choroby jest myląca, gdyż nie jest ona wywoływana przez bakterie. Etiologia tej dermatozy nadal pozostaje nieznana. Obecnie uważa się, że dysfunkcja neutrofilów, zaburzenia epigenetyczne i dysregulacje w układzie immunologicznym są głównymi czynnikami biorącymi udział w patogenezie choroby. Najnowsze dane z piśmiennictwa światowego wskazują na prawdopodobny udział interleukin w występowaniu choroby. U części chorych na piodermię zgorzelinową obserwuje się zjawisko patergii czyli pojawiania się zmian chorobowych w miejscu urazu mechanicznego skóry (np. ukłucia, uderzenia). Ponadto u około połowy pacjentów współwystępują choroby systemowe np. choroby zapalne jelit, schorzenia hematologiczne czy zapalenia stawów.

W niniejszej pracy założono, że w patogenezie piodermii zgorzelinowej mogą odgrywać rolę interleukiny prozapalne takie jak Il-6, Il-8, Il-17 i Il-23. Wydaje się, że interleukiny te mogą być markerami laboratoryjnymi i być przydatne w diagnostyce piodermii zgorzelinowej.

Celem pracy była analiza stężenia interleukin prozapalnych (Il-6, Il-8, Il-17, Il-23) w surowicy krwi chorych z piodermią zgorzelinową oraz analiza zależności surowiczych stężeń badanych interleukin u powyższych chorych z wybranymi parametrami klinicznymi i laboratoryjnymi. W badaniu wzięło udział 48 niespokrewnionych chorych na piodermię zgorzelinową, którzy byli hospitalizowani w Katedrze i Klinice Dermatologii, Wenerologii i Alergologii Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu w latach 2015-2019 r. z powodu pojawienia się choroby. Niezbędnym warunkiem włączenia do badania było ukończenie 18 roku życia. Grupę badawczą stanowiło 17 mężczyzn i 31 kobiet, a wiek pacjentów mieścił się w przedziale od 19 do 85 lat.

Warunkiem koniecznym do zakwalifikowania pacjentów do badania był charakterystyczny dla piodermii zgorzelinowej początek, przebieg choroby i obraz kliniczny nie budzący wątpliwości diagnostycznych, ponadto brak w dotychczasowej terapii leczenia ogólnego. U większości pacjentów choroba została potwierdzona badaniem histologicznym, jednak w poszczególnych przypadkach odstąpiono od niego ze względu na odmowę pacjenta, przy jednoczesnym klasycznym obrazie klinicznym i przebiegu choroby.

Przed rozpoczęciem badania uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu na niniejszy projekt badawczy (nr opinii KB-448/2018)

U każdego z uczestników projektu badawczego zebrano szczegółowy wywiad lekarski dotyczący przebiegu piodermii zgorzelinowej, w którym uwzględniono: wiek, w którym

pojawiła się choroba, czas jej trwania, oraz dynamikę choroby. Pytano także o czynniki indukujące początek choroby takie jak urazy (dokładny rodzaj urazu, w tym ugryzienia, ułucia, poparzenia czy skaleczenie) oraz o dotychczasową diagnostykę i przebieg leczenia. Poza tym uzyskano też informacje odnośnie przewlekłych chorób współistniejących, przebytych, obciążenia rodzinnego, stosowanych leków oraz używek. Przeprowadzono także badanie przedmiotowe z oceną zmian skórnych i pomiarem wielkości owrzodzeń. Opisywano także dokładną lokalizację i ilość owrzodzeń, a także wygląd zmiany, w tym obecność martwicy w owrzodzeniu, kolor wysięku oraz kolor i wygląd brzegu zmian. Następnie liczone pole powierzchni zajmowanej przez owrzodzenie lub łączne pole powierzchni w przypadku owrzodzeń mnogich. Pobrano także próbki krwi do badania immunoenzymatycznego celem pomiaru stężenia interleukin prozapalnych oraz celem wykonania badań biochemicznych i morfologii. Wszystkie uzyskane wyniki badania poddano analizie statystycznej z wykorzystaniem pakietu oprogramowania Statistica v 12.0 (firma Statsoft).

Średnia wieku tych pacjentów wynosiła $51,3 \pm 16,9$ lat (przedział 19-85 lat). Rozległość i liczba owrzodzeń u pacjentów w grupie badanej różniła się. 20 pacjentów miało pojedyncze owrzodzenie (41,7%), 16 pacjentów miało dwa owrzodzenia (33,3%), a 12 pacjentów miało trzy i więcej owrzodzeń (25%). Biorąc pod uwagę lokalizację zmian, na kończynach dolnych było zlokalizowane 41 owrzodzeń, 8 na tułowiu, 5 na kończynach górnych, a 1 na głowie i szyi. Oceniono także łączną powierzchnię owrzodzeń – średnia łączna powierzchnia owrzodzeń wynosiła $45,68 \text{ cm}^2 \pm 54,93$ (zakres 0,78 - 243,5 cm^2 , mediana 19,6 cm^2).

Ponadto 25% pacjentów grupy badanej chorowało na schorzenia współistniejące: 6 pacjentów miało choroby zapalne jelit w wywiadzie, 4 choroby zapalne stawów, a 2 współistniejące kolagenozy.

W grupie badanej patergia była obecna u 37,5% pacjentów, pozostali nie zgłaszali objawu patergii.

Analizując nałóg palenia papierosów 41,6% badanych pacjentów zgłaszało aktywny nałóg palenia (co najmniej pół paczki na dobę lub więcej, przez co najmniej ostatni rok lub dłużej), pozostali nie palili wcale.

Stężenia badanych interleukin (II-6, II-8, II-17, II-23) w surowicy krwi chorych grupy badanej z PG były wyższe niż w grupie kontrolnej osób zdrowych i w przypadku każdej z interleukin różnica ta była istotna statystycznie ($p < 0,001$).

Średnie stężenie II-6 w surowicy chorych na piodermię zgorzelinową było wyższe niż w grupie kontrolnej osób zdrowych i wynosiło $10,1 \pm 8,13$ pg/ml, podczas gdy w surowicy krwi osób zdrowych średnie stężenie II-6 wynosiło $1,13 \text{ pg/ml} \pm 0,54 \text{ pg/ml}$, a różnica ta była istotna statystycznie. Wykazano także istotnie statystycznie różnice na poziomie stężenia II-6 pomiędzy grupami osób płci żeńskiej i męskiej ($p < 0,001$) tj. stężenia interleukiny 6 były statystycznie wyższe u mężczyzn.

Biorąc pod uwagę lokalizację owrzodzeń w przypadku owrzodzeń zlokalizowanych na kończynach dolnych średnie stężenie II-6 wynosiło $11,12 \pm 8,317605 \text{ pg/}$ i było wyższe od

wartości obserwowanych w surowicy krwi pacjentów z owrzodzeniami w innych lokalizacjach, a różnica ta była istotna statystycznie ($p=0,02$). W przypadku owrzodzeń na tułowie średnie stężenie Il-6 wynosiło $2,87050 \text{ pg/ml} \pm 1,6$ i było niższe od wartości obserwowanych w surowicy krwi pacjentów z owrzodzeniami w innych lokalizacjach, a różnica ta była istotna statystycznie ($p<0,001$).

Wykazano istotnie statystyczną zależność między stężeniem Il-6 a stężeniem białka C-reaktywnego- CRP ($R=0,34, p=0,02$). Ponadto wykazano także istotną statystycznie zależność między stężeniem Il-6 w surowicy krwi pacjentów a wartością ASPAT ($R=0,31, p=0,03$).

Średnie stężenie Il-8 w surowicy krwi chorych na piodermię zgorzelinową było wyższe niż w grupie kontrolnej osób zdrowych i wynosiło $52,29 \pm 42,93 \text{ pg/ml}$. W surowicy krwi osób zdrowych z grupy kontrolnej średnie stężenie Il-8 wynosiło $16,54 \pm 8,59 \text{ pg/ml}$. Różnica w wartości stężenia Il-8 w grupie chorych i zdrowych była znamienna statystycznie ($p<0,001$). Ponadto wykazano istotną statystycznie korelację między wiekiem pacjentów a stężeniem Il-8 w surowicy krwi pacjentów chorych na piodermię zgorzelinową ($R=0,4, p=0,005$), u starszych pacjentów notowane stężenia Il-8 były wyższe.

Średnie stężenie Il-17 w surowicy chorych na piodermię zgorzelinową było wyższe niż w grupie kontrolnej osób zdrowych i wynosiło $0,45 \pm 0,46 \text{ pg/ml}$. W surowicy krwi osób zdrowych średnie stężenie Il-17 wynosiło $0,15 \text{ pg/ml} \pm 0,04 \text{ pg/ml}$. Różnica w wartości parametru badanego w grupie chorych i zdrowych była znamienna statystycznie ($p<0,001$). Wykazano także istotnie statystyczną zależność między stężeniem Il-17 a stężeniem glukozy ($R=-0,29, p<0,05$).

Średnie stężenie Il-23 w surowicy chorych na piodermię zgorzelinową było wyższe niż w grupie kontrolnej osób zdrowych i wynosiło $66,73 \pm 26,15 \text{ pg/ml}$. W surowicy krwi osób zdrowych średnie stężenie Il-23 wynosiło $47,19 \pm 25,78 \text{ pg/ml}$. Różnica w wartości parametru badanego w grupie chorych i zdrowych była znamienna statystycznie ($p<0,001$).

Na podstawie uzyskanych wyników ustalono, że w analizowanej grupie pacjentów z PG stwierdzono istotnie statystycznie podwyższone stężenie Il-6, Il-8, Il-17, Il-23. Podwyższone stężenie wymienionych interleukin przemawia za udziałem tych cytokin w patogenezie choroby. Istotna statystycznie korelacja między stężeniem Il-6 i CRP może wskazywać rolę efektu prozapalnego wywieranego przez Il-6 w patogenezie piodermii zgorzelinowej.

Czynnikiem indukującym piodermię zgorzelinową mogą być urazy mechaniczne - obserwuje się objaw patergii, czyli indukcji zmian skórnych w miejscu urazu. Piodermia zgorzelinowa może współistnieć z innymi chorobami, w tym głównie z chorobami zapalnymi jelit i stawów, co obserwowano także w zebranych przez autorkę materiale. Podsumowując, potencjalną korzyścią płynącą z lepszego poznania etiopatogenezy piodermii zgorzelinowej będzie poprawa jakości życia pacjentów z tą chorobą poprzez zwiększenie

terapeutycznych na przykład zastosowanie inhibitorów omawianych interleukin. Piodermia zgorzelinowa należy do chorób o nieznannej etiologii, której przyczyny upatruje się w nieprawidłowych procesach immunologicznych zachodzących w skórze. Dalsze pogłębianie wiedzy na temat etiologii tej choroby wymaga badań na poziomie biologii molekularnej.

SUMMARY

Pyoderma gangrenosum is a chronic, inflammatory, non-infectious skin disease, deteriorating the quality of life of patients. Large ulcerations rapidly developing during the course of the disease are painful and obstruct everyday functioning. Pyoderma gangrenosum is one of the most controversial and mysterious dermatological units. The name of the disease is confusing, because it is not caused by bacteria. Etiology of the disease is still unclear. It is believed that neutrophil dysfunction, epigenetic changes and immune dysregulation are the main factors that play role in the pathogenesis of pyoderma gangrenosum. Current data from the worldwide literature indicates a probable role for interleukin in the pathogenesis. In some patients patergy phenomenon is observed, which means that new ulcers occur after minor trauma such as bump, bruise or needle stick injury. Moreover in about half of the patients pyoderma gangrenosum is accompanied by systemic diseases such as inflammatory bowel disease, hematopoietic system malignancies or arthritis.

This study assumed that, interleukins such as Il-6, Il-8, Il-17, Il-23 may play role in the pathogenesis of pyoderma gangrenosum. It seems that these interleukins may be additional laboratory markers in diagnosis PG in the future.

The aim of this study was to analyze the level of proinflammatory interleukins (Il-6, Il-8, Il-17, Il-23) in serum of patients with PG and the correlation of these interleukin concentrations with some clinical parameters and selected laboratory markers. The study involved 48 unrelated patients hospitalized in the Department of Dermatology, Venerology and Allergology, Wroclaw University of Medical Sciences in 2015-2019 due to the onset of the disease. All patients in the study were over 18 years old. The research group involved 17 men and 31 women, aged 19 to 85 years.

The necessary condition for qualifying patients for the study was the characteristic for pyoderma gangrenosum onset of the disease, course of the disease, clinical picture, that did not rise any diagnostic doubts and no history of general treatment in the previous disease treatment. In most of the patients the disease was confirmed by histological examination, but in some cases histological examination was not performed because of the lack of consent for such procedure, while at the same time classical clinical picture of the disease.

Prior to the commencement of the study the consent of the Bioethics Committee of the Medical University of Wroclaw was obtained for this research project (KB-448/2018).

For each participant in the project, a detailed medical history about the course of the PG was collected, including the age at which the disease appeared, the duration and dynamics of the disease. The participants were also asked about factors inducing the onset of the disease such as injuries (precise kind of skin trauma e.g. bite, burning, stick injury) and about previous diagnostics and the history of treatment. In addition each participant was asked about accompanying and past diseases, family diseases, drug usage and addictions. A physical examination of skin and measurement of the ulcers was performed. Detailed information about the appearance of the lesions was collected e.g. precise localization, the number of ulcers, presence of necrosis, color of the lesions and appearance of the lesion's border.

Subsequently surface area of the lesion or total area in case of multiple ulcers was measured. A blood sample was collected for enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to measure the proinflammatory interleukin's concentration and to perform morphology and biochemistry examination. All results were analyzed statistically using the Statistica v 12.0 software package (Statsoft) .

The mean age of patients with pyoderma gangrenosum was $51,3 \pm 16,9$ (range 19-85 years).

The number and size of ulcers were divergent. 20 patients had single ulcer (41,7%), 16 patients had 2 ulcers (33,3%) and 12 patients had 3 or more ulcers (25,5%). Considering localization 41 ulcers were localized on lower limbs, 8 ulcers on the trunk, 5 on upper limbs and 1 on the head and neck. Total area of ulceration was $45,68 \text{ cm}^2 \pm 54,93$ (range 0,78-243,5 cm^2 , median 19,6 cm^2).

Moreover 25% of patients from the study group had accompanying diseases: 6 patients had inflammatory bowel disease, 4 had arthritis and 2 systemic connective tissue disease. 37,5% of patients from the study group had pterygia, the others didn't have such symptom.

41,6 % of patients were active smokers (they smoke half a package of cigarettes a day or more, for one year or longer), the rest of the patients didn't smoke at all.

Concentration of interleukins (Il-6, Il-8, Il-17, Il-23) in the serum of patients with PG were higher than those in the healthy control group and for each of the interleukin the difference in the value of the parameter was statistically significant ($p < 0,001$).

The concentration of Il-6 in the serum of patients with PG was at an average $10,1 \pm 8,13$ pg/ml, while the mean concentration in the control group was $1,13 \pm 0,54$ pg/ml and the difference was statistically significant. A statistically significant correlation between concentration of Il-6 in the group of men and women were observed ($p < 0,001$) – concentration of Il-6 in patient's serum was higher in men group.

Considering localization of ulcers, in cases where ulcers were localized on lower limbs the mean concentration of Il-6 was $11,12 \pm 8,317605$ pg/ml and was higher than in cases with ulcers in others localizations. This difference was statistically significant ($p = 0,02$). In cases where ulcers were localized on the trunk the mean concentration of Il-6 was $2,87050$ pg/ml $\pm 1,6$ and was lower than concentration of Il-6 in patients with ulcers localized in other localizations. The difference were statistically significant ($p < 0,001$)

There was statistically significant correlation between concentration of Il-6 and concentration of C-reactive protein (CRP) ($R = 0,34$, $p = 0,02$). Moreover there was statistically important correlation between concentration of Il-6 and AspAT (aspartate transaminase) ($R = 0,31$, $p = 0,03$).

The concentration of Il-8 in the serum of patients with PG was at an average $52,29 \pm 42,93$ pg/ml and was higher than in control group where mean concentration was $16,54 \pm 8,59$ pg/ml. The difference was statistically significant ($p < 0,001$). Moreover there was statistically significant correlation between age and concentration of Il-8 ($R = 0,4$, $p = 0,005$), elderly patients had higher concentration of Il-8.

The concentration of Il-17 in the serum of patients with PG was at an average $0,45\pm 0,46$ pg/ml and was higher than in control group, where the mean concentration was $0,15\pm 0,04$ pg/ml. The difference of this parameter was statistically important ($p < 0,001$). There was also statistically significant correlation between Il-17 concentration and glucose concentration in the blood of patients ($R = -0,29$, $p < 0,05$).

The mean concentration of Il-23 in the serum of patients was higher than in control group. The concentration of Il-23 in patients with PG was at an average $66,73\pm 26,15$ pg/ml, while in control group the mean concentration of Il-23 was $47,19\pm 25,78$ pg/ml. The difference of this parameter was statistically significant ($p < 0,001$).

Based on the results obtained, it was found that significantly higher Il-6, Il-8, Il-17 and Il-23 concentrations were observed in pyoderma gangrenosum patients analyzed, which suggests the role of these interleukins in pathogenesis of PG. Statistically significant correlation between Il-6 and CRP may indicate the role of proinflammatory effect of Il-6 in pathogenesis of PG.

Injuries may induce ulcers in PG and it is described as patergy phenomenon. Pyoderma gangrenosum coexists in some cases with others diseases, mainly with inflammatory bowel diseases or arthritis, and it was seen in the data analyzed by the author.

In conclusion, the potential benefit of better understanding of the pathogenesis of PG will be an improvement in the quality of life for patients with this disease, by implementing therapeutic options, eg. inhibitors of specific interleukins may be used.

Pyoderma gangrenosum belongs to the group of diseases of unknown etiology and which cause are presumably abnormal immunological reactions in the skin. In order to further deepen the understanding of the etiology of this disease, molecular biology research is required.

