

STRESZCZENIE

Reumatoidalne zapalenie stawów (RZS) to ogólnoustrojowa przewlekła choroba zapalna stawów i otaczających stawy tkanek. Klinicznie RZS manifestuje się silnym bólem stawów, ich sztywnością i obrzękiem. Patogeneza choroby jest wciąż nieznana. Chorzy z RZS częściej chorują na choroby nowotworowe niż osoby zdrowe. RZS jest chorobą autoimmunologiczną, w której produkowane są autoprzeciwciała. Początkowo dochodzi do zapalenia dotyczącego błony maziowej w stawach, pochewkach ścięgniastych, a następnie do propagacji zapalenia. Błona maziowa ulega przerośnięciu i zostaje zinfiltrowana przez komórki układu immunologicznego. Przyczynami odpowiadającymi za zwiększoną podatność na choroby nowotworowe osób z RZS może być niestabilność genomowa indukowana przez zaburzenia w procesach naprawy DNA.

Celem pracy doktorskiej pt. „Aspekty funkcjonalne, genetyczne i epigenetyczne naprawy DNA w reumatoidalnym zapaleniu stawów” była ocena genetycznych, epigenetycznych i funkcjonalnych mechanizmów naprawy DNA w reumatoidalnym zapaleniu stawów.

Szczegółowe badania miały na celu:

- określenie stopnia endogennych uszkodzeń i wrażliwości jednojądrzastych komórek krwi obwodowej (PBMC) wyizolowanych od pacjentów z RZS na czynniki uszkadzające DNA
- określenie efektywności naprawy DNA w komórkach PBMC wyizolowanych od pacjentów z RZS po zastosowaniu czynników uszkadzających DNA : nadtlenuk tert-butylu oraz bleomycynę
- analizę ekspresji genów związanych z szlakami napraw DNA: naprawa przez wycinanie zasad oraz system naprawy pęknięć dwuniciowych przez rekombinacje homologiczną (HR) i niehomologiczne łączenie końców (NHEJ)
- analizę ekspresji mikroRNA hsa-miR-155
- określenie poziomu globalnej metylacji DNA u pacjentów z RZS
- ocenę zmienności genetycznej w RZS w obrębie genów sytemu naprawy uszkodzeń DNA przez wycinanie zasad azotowych (BER), wycinania nukleotydów (NER) oraz system naprawy pęknięć dwuniciowych przez rekombinacje homologiczną (HR) i niehomologiczne łączenie końców (NHEJ)

- korelację pomiędzy naprawą uszkodzeń DNA oraz tłem genetycznym i epigenetycznym.

Komórki PBMC izolowane od pacjentów z RZS wykazują wyższy poziom uszkodzeń endogennych oraz są wrażliwsze na czynniki uszkadzające DNA w porównaniu z osobami zdrowymi. PBMC od pacjentów z RZS cechują się mniej wydajną naprawą DNA. PBMC wyizolowane od pacjentów z RZS wykazują obniżoną ekspresję genów BER: OGG1, MUTYH, NTHL1, LIG3, PARP3, APEX1, APEX2, MBD4 i PARP1 oraz deregulację w genach DSB: RAD51, ATM, PRKDC i H2AFX oraz w miR-155. Zaobserwowane różnice w ekspresji kluczowych genów kodujących białka związanych ze szlakami napraw DNA nie były spowodowane zmianą profilu metylacji wysp CpG. Istnieje korelacja między RZS a polimorfizmami rs1801321/RAD51, rs963917/RAD51B, rs132774/XRCC6, rs207906/XRCC5, rs861539/XRCC3, rs7180135/RAD51, rs963918/RAD51B, rs2735383/NBS1 oraz rs25487/XRCC1 w modelu kodominującym. Istnieje silna korelacja pomiędzy naprawą uszkodzeń DNA oraz tłem genetycznym i epigenetycznym zwiększająca ryzyko wystąpienia RZS zwłaszcza u pacjentów, u których występuje niska wydajność naprawy DNA oraz brak naprawy DNA. Wydajność naprawy DNA zidentyfikowano jako najważniejszy parametr zapewniających najwyższą dokładność w celu rozpoznania RZS.

Powyższe badania wpisują się w globalny trend poszukiwania specyficznych markerów i ukierunkowanych terapii mających na celu skuteczne i szybsze rozpoznanie choroby oraz efektywne leczenie pacjentów z reumatoidalnym zapaleniem stawów.

SUMMARY

Rheumatoid arthritis (RA) is a systemic chronic inflammatory disease of the joints and surrounding tissues. Clinically, RA is manifested by severe joint pain, stiffness, and swelling. The pathogenesis of the disease is still unknown. Patients with RA are more likely to suffer from cancer than healthy people. RA is an autoimmune disease in which autoantibodies are produced. Initially, there is inflammation that affects the synovium in the joints, the tendon sheaths, and then the inflammation spreads. The synovial membrane overgrows and is infiltrated by cells of the immune system. The reasons for the increased susceptibility to cancer in people with RA may be genomic instability induced by disorders in DNA repair processes.

The aim of the doctoral thesis entitled "Functional, genetic and epigenetic aspects of DNA repair in rheumatoid arthritis" was an evaluation of DNA repair mechanisms in rheumatoid arthritis on genetic, epigenetic and functional level.

Detailed research was aimed at:

- determination of the degree of endogenous damage and sensitivity of peripheral blood mononuclear cells (PBMC) isolated from patients with RA to DNA-damaging agents
- determination of the effectiveness of DNA repair in PBMC cells isolated from RA patients after the use of DNA damaging agents: tert-butyl peroxide and bleomycin
- gene expression analysis related to DNA repair pathways: base excision repair and double-strand break repair system by homologous recombination (HR) and non-homologous end joining (NHEJ)
- hsa-miR-155 microRNA expression analysis
- determination of the level of global DNA methylation in patients with RA
- assessment of genetic variation in RA within the genes of the DNA damage repair system by nitrogenous base excision (BER), nucleotide excision (NER) and the repair of double-strand breaks by homologous recombination (HR) and non-homologous end joining (NHEJ)
- correlation between DNA damage repair and genetic and epigenetic background.

PBMC isolated from RA patients showed a higher level of endogenous damage and were more sensitive to DNA damaging agents compared to healthy individuals. PBMCS

from RA patients had less efficient DNA repair. PBMCs isolated from RA patients show reduced expression of BER genes: OGG1, MUTYH, NTHL1, LIG3, PARP3, APEX1, APEX2, MBD4 and PARP1, and deregulation in DSB genes: RAD51, ATM, PRKDC, and H2AFX and in miR-155. The observed differences in the expression of key protein-coding genes related to DNA repair pathways were not due to a change in the methylation profile of the CpG islands. There is a correlation between RA and polymorphisms rs1801321/RAD51, rs963917/RAD51B, rs132774/XRCC6, rs207906/XRCC5, rs861539/XRCC3, rs7180135/RAD51, rs963918/RAD51B, rs27353 83/NBS1 and rs25487/XRCC1 in the dominant model. There is a strong correlation between DNA damage repair and genetic and epigenetic background that increases the risk of RA, especially in patients with low DNA repair efficiency and no DNA repair. The efficiency of DNA repair has been identified as the most important parameter in ensuring the highest accuracy for the diagnosis of RA.

The above study is part of the global trend of searching for specific markers and targeted therapies aimed at an effective and faster diagnosis of the disease and an effective treatment of patients with rheumatoid arthritis.