

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

**Εφαρμογές Μοριακής Βιολογίας - Μοριακή Γενετική -
Διαγνωστικοί Δείκτες**

ΣΟΦΙΑ ΖΑΧΑΡΗ



ΛΑΡΙΣΑ, 2025

**ΦΑΡΜΑΚΟΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΑΝΑΣΤΟΛΕΩΝ ΤΗΣ
ΙΝΤΕΡΛΕΥΚΙΝΗΣ-23 ΣΤΗΝ ΨΩΡΙΑΣΗ**

**PHARMACOGENETIC ANALYSIS OF IL-23 INHIBITORS IN
PRORIASIS**

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Σαραφίδου Θεολογία, Επίκουρος Καθηγήτρια, Μοριακή Γενετική Ζωικών Οργανισμών (Επιβλέπουσα), Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Ζαφειρίου Ευτέρπη, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Δερματολογία- Αφροδισιολογία, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Γιαννούλης Θεμιστοκλής, Επίκουρος Καθηγητής, Γενετική Ζωικών Πληθυσμών: Γονιδιωματική, Εξέλιξη, Βιοποικιλότητα, Τμήμα Επιστήμης Ζωικής Παραγωγής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η ψωρίαση είναι ένα αυτοάνοσο φλεγμονώδες νόσημα με γενετικό και περιβαλλοντικό υπόβαθρο, το οποίο εκδηλώνεται στο δέρμα με τη μορφή φλεγμονωδών πλακών, το οποίο επηρεάζει χρόνια την ποιότητα ζωής των ασθενών, συνοδευόμενο πολύ συχνά από σοβαρές συννοσηρότητες. Η βαρύτητά του ποικίλει, όπως επίσης και η θεραπευτική αγωγή που επιλέγεται, με βάση τη σοβαρότητα και την έκταση των συμπτωμάτων. Στην περίπτωση της μέτριας ως σοβαρής ψωρίασης, εκτός των συμβατικών θεραπευτικών προσεγγίσεων (κορτικοστεροειδή, τοπικές αγωγές κ.α.), τα τελευταία χρόνια στην κλινική πράξη έχουν εισαχθεί τα μονοκλωνικά αντισώματα ή αλλιώς οι βιολογικοί παράγοντες, οι οποίοι ενεργούν αναστέλλοντας την δράση των κυτταροκινών που συμμετέχουν στην φλεγμονώδη απόκριση, άρα και την παθογένεση της ψωρίασης. Τέτοιοι παράγοντες είναι η γκουσελκουμάμπη και η ρισανκιζουμάμπη, οι οποίοι αποτελούν αναστολείς της ιντερλευκίνης-23. Σύμφωνα με κλινικές δοκιμές, το ποσοστό των ασθενών στο οποίο επιτυγχάνεται ο έλεγχος της νόσου με μείωση του δείκτη βαρύτητας της νόσου, PASI στο 90% και άνω σε χρονικό διάστημα 16 βδομάδων, κυμάνθηκε από 60% ως και 90%. Το γεγονός αυτό αναδεικνύει την ανάγκη εύρεσης των αιτιών ή των γενετικών δεικτών που μπορούν να προβλέψουν την καλή ή κακή απόκριση στους παράγοντες αυτούς, με σκοπό να χορηγείται στους ασθενείς η κατάλληλη αγωγή, σύμφωνα με το γενετικό τους προφίλ.

Στην παρούσα φαρμακολογική ανάλυση βρέθηκε συσχέτιση ($p < 0,01$) μεταξύ της μη απόκρισης στους αναστολείς IL-23 και της παρουσίας αλληλόμορφων 7 SNPs, σε γονίδια που είτε κωδικοποιούν την σύνθεση της IL-23 ή του υποδοχέα της. Ειδικότερα, βρέθηκαν α) τα SNPs *rs72933970*, *rs72931025*, *rs12069919* πλησίον του γονιδίου *IL23R*, το οποίο κωδικοποιεί μία υπομονάδα του υποδοχέα της ιντερλευκίνης *IL-23*, β) το SNP *rs7703959* πλησίον του γονιδίου *IL12B*, το οποίο κωδικοποιεί την υπομονάδα *p40* της ιντερλευκίνης 23, γ) τα SNPs *rs774047*, *rs74891029* πλησίον του γονιδίου *IL23A* το οποίο κωδικοποιεί την υπομονάδα *p19* της ιντερλευκίνης 23, και δ) το SNP *rs380991* πλησίον του γονιδίου *IL12RB1*, το οποίο κωδικοποιεί την υπομονάδα B1 του υποδοχέα. Από τα παραπάνω SNPs, τα *rs72933970*, *rs774047*, *rs380991* αποτελούν eQTLs. Συγκεκριμένα, βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση αλληλόμορφων των SNPs και της έκφρασης των γονιδίων πλησίον στα οποία βρίσκονται, σε ιστούς που σχετίζονται με την ψωρίαση όπως σε κύτταρα του ανοσοποιητικού και το δέρμα. Τα παραπάνω δεδομένα, εφόσον επιβεβαιωθούν με αντίστοιχη ανάλυση σε μεγαλύτερο δείγμα, μπορούν να αποτελέσουν αφετηρία προς την εξατομικευμένη θεραπεία της ψωρίασης.

Λέξεις Κλειδιά: Ψωρίαση, ανάλυση συσχέτισης, αναστολείς IL-23, SNP, γκουσελκουμάμπη, ρισανκιζουμάμπη

ABSTRACT

Psoriasis is an autoimmune multifactorial inflammatory disease which manifests on the skin with “plaque” formations and impacts the life quality of the patients. Psoriasis is often accompanied by serious comorbidities. Its severity varies, so the therapeutic approach is based on severity and the range of the symptoms. In case of moderate to severe psoriasis, besides medications such as steroids, topical agents etc., monoclonal antibodies or biological agents have been lately introduced to clinical practice. Biologics inhibits cytokines from promoting inflammation pathways affecting psoriasis pathogenesis. Guselkumab and risankizumab are biological agents that inhibit cytokine IL-23. According to clinical trials, the percentage of people who achieved a decrease in PASI score, which measures the disease severity, 90% or more, in 16 weeks after the first dose, varied from 60% to 90%. Thus, there is a need to identify the genetic causes that can contribute to predicting the good or bad response of the patients to these agents, in order to provide the appropriate treatment based on patients' genetic profile.

In the current pharmacogenetic analysis, an association ($p < 0,01$) was detected between non-response to IL-23 and the presence of alleles of 7 SNPs, in genes that encode the cytokine IL-23 or the IL-23 receptor. More specifically, the following SNPs have been found, a) *rs72933970*, *rs72931025*, *rs12069919* near *IL23R* gene that encodes one of the IL-23 receptor subunits, b) *rs7703959* near the *IL12B* gene that encodes the p40 IL-23 subunit, c) *rs774047*, *rs7489102* near *IL23A* gene that encodes the p19 subunit of IL-23 and d) *rs380991* near *IL12RB1* gene that encodes the beta 1 subunit of IL-23 receptor. Three out of those SNPs constitute eQTLs (*rs72933970*, *rs774047*, *rs380991*). According to the *Ensembl* database, specific alleles of those eQTLs are associated with differential expression levels of the above genes in specific tissues that are correlated to psoriasis like immune system cells and skin. Those results must be confirmed in a larger population sample and could contribute to personalized treatment of moderate to severe plaque psoriasis.

Key Words: Psoriasis, association study, IL-23 inhibitors, SNP, guselkumab, risankizumab

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. Εισαγωγή στην ψωρίαση.....	8
1.2. Η παθογένεση της ψωρίασης.....	8
1.3. Πρότυπα αξιολόγησης της νόσου.....	10
1.3.1. Δείκτης Psoriasis Area and Severity Index (PASI).....	11
1.3.2. Self-Administered Psoriasis Area and Severity Index (SAPASI).....	11
1.3.3. Body Surface Area (BSA).....	11
1.3.4. Simplified Psoriasis Index (SPI).....	12
1.3.5. Dermatology Life Quality Index (DLQI).....	12
1.3.6. SKINDEX-16.....	12
1.4. Θεραπευτικές προσεγγίσεις στην ψωρίαση.....	12
1.5. Μηχανισμός δράσης και φαρμακολογικά χαρακτηριστικά των Αναστολέων IL23.....	14
1.5.1. Ρισανκίζουμάμπη (Risankizumab, Skyrizi).....	14
1.5.2. Γκουσελκουμάμπη (Guselkumab, Tremfya).....	14
1.5.3. Τιλδρακίζουμάμπη (Tildrakizumab, Ilumya).....	14
1.6. Η σημασία της φαρμακογενετικής ανάλυσης στην κλινική πράξη για τους αναστολείς IL-23, Ρισανκίζουμάμπη και Γκουσελκουμάμπη.....	15
1.7. Σκοπός της εργασίας.....	16

2. ΥΛΙΚΑ & ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1. Ασθενείς.....	18
2.2. Απομόνωση και έλεγχος ποιότητας DNA, γονοτύπηση.....	18
2.3. Στατιστική ανάλυση αποτελεσμάτων.....	18

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1. Κλινικά χαρακτηριστικά ασθενών.....	19
3.2. Απομόνωση DNA.....	19
3.3. Επιλογή των υποψήφιων γονιδίων <i>IL12B</i> , <i>IL23A</i> , <i>IL23R</i> και <i>IL12RB1</i>	20
3.4. Διερεύνηση για eQTLs (expression quantitative trait loci).....	23

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....24

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....27

Λίστα Πινάκων

Πίνακας 1: Απόκριση ΔPASI ≥ 90 για το φάρμακο Ρισανκιζουμάμπη σε κλινικές δοκιμές φάσης III, σε ασθενείς με ψωρίαση κατά πλάκας, στις 16 εβδομάδες (δόση: 150 mg).....	16
Πίνακας 2: Απόκριση ΔPASI ≥ 90 για το φάρμακο Γκουσελκουμάμπη σε κλινικές δοκιμές φάσης III, σε ασθενείς με ψωρίαση κατά πλάκας, στις 16 εβδομάδες.....	16
Πίνακας 3: Κλινικά χαρακτηριστικά ασθενών που έλαβαν θεραπεία με αντι-IL23.....	19
Πίνακας 4: Αριθμός SNPs που εντοπίζονται εντός ή πλησίον των υποψήφιων γονιδίων.....	21
Πίνακας 5: SNPs στα υποψήφια γονίδια που συσχετίστηκαν με την απόκριση στη θεραπεία.....	21
Πίνακας 6: eQTLs που συσχετίζονται με την απόκριση στην γκουσελκουμάμπη και η ρισανκιζουμάμπη.....	23

Λίστα Εικόνων

Εικόνα 1: Τύποι ψωρίασης: α. Πλακώδης ψωρίαση, β. Φλυκταινώδης ψωρίαση, γ. Σταγονοειδής ψωρίαση, δ. Ανάστροφη ψωρίαση, ε. Ερυθροδερμική ψωρίαση, στ. Ψωρίαση των ονύχων.....	9
Εικόνα 2: Η παθογένεση της ψωρίασης, κυτταρικές και μοριακές αλληλεπιδράσεις.....	10
Εικόνα 3: Φαρμακευτικός στόχος των αναστολέων IL-23 (μονοπάτι <i>IL-12</i> και <i>IL-23</i>).....	15
Εικόνα 4: Ηλεκτροφόρηση γονιδιωματικού DNA σε πηκτή αγαρόζης των δειγμάτων #1-16.....	20

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. Εισαγωγή στην ψωρίαση

Η ψωρίαση είναι ένα αυτοάνοσο δερματικό νόσημα, το οποίο προκαλεί πλακώδες εξάνθημα, το οποίο συνοδεύεται από ερύθημα, πόνο και κνησμό. Εμφανίζεται συνήθως στις περιοχές των γονάτων, των αγκώνων και της κεφαλής, ωστόσο πλάκες μπορεί να εκδηλωθούν και σε άλλα σημεία του σώματος. Τα συμπτώματα τείνουν να έχουν εξάρσεις και υφέσεις, με τις εξάρσεις να διαρκούν εβδομάδες ή ακόμη και μήνες. Κατά τη διάρκεια των εξάρσεων ο πόνος και τα δερματικά συμπτώματα επηρεάζουν σημαντικά την ποιότητα ζωής του ασθενούς. Για τον λόγο αυτό, γίνεται προσπάθεια να κατανοηθεί η παθογένεση της ψωρίασης και να διερευνηθεί η δυνατότητα επιλογής της καταλληλότερης θεραπείας για τον κάθε ασθενή με την αξιοποίηση μοριακών δεικτών, που συσχετίζονται με την απόκρισή τους σε συγκεκριμένη φαρμακευτική αγωγή.

Υπάρχουν διάφοροι τύποι ψωρίασης, με διαφορετικά μοτίβα συμπτωμάτων, και οι κύριοι παρουσιάζονται παρακάτω:

- Ψωρίαση κατά πλάκας: Αποτελεί την πιο κοινή μορφή ψωρίασης και χαρακτηρίζεται από ξηρά, κνησμώδη και πλακώδη εξανθήματα, που ομοιάζουν με «λέπια». Οι πλάκες ποικίλουν σε πλήθος, μέγεθος και είναι σαφώς καθορισμένες (*Εικόνα 1.α.*).
- Φλυκταινώδης ψωρίαση: Εκδηλώνεται με φλύκταινες κυρίως στα άκρα και μπορεί να συνοδεύεται από πυρετό, έντονο κνησμό, κρυάδες, αλλαγές στον καρδιακό παλμό, κόπωση και μυϊκή αδυναμία (*Εικόνα 1.β.*).
- Σταγονοειδής ψωρίαση: Μπορεί να αποτελεί μετα-στρεπτοκοκκική οξεία νόσο, η οποία υποχωρεί συνήθως μετά από μήνες. Επίσης, μπορεί να εμφανιστεί σε άτομα μεγαλύτερης ηλικίας (>50 ετών). Η κλινική εικόνα χαρακτηρίζεται από μικρές πλάκες, μεγάλης διασποράς (*Εικόνα 1.γ.*).
- Ανάστροφη ψωρίαση: Προσβάλλει τα σημεία του δέρματος με πτυχώσεις, όπως οι μασχάλες, τα γεννητικά όργανα, οι γλουτοί και το στήθος. Εμφανίζεται με λείες και ροδόχροες πλάκες, οι οποίες είναι επώδυνες (*Εικόνα 1.δ.*).
- Ερυθροδερμική ψωρίαση: Είναι η λιγότερο συχνή μορφή ψωρίασης, που μπορεί να καλύπτει όλο το σώμα και συνοδεύεται από έντονο κνησμό, ερύθημα και αίσθημα καύσου. Μπορεί να είναι χρόνια ή οξεία (*Εικόνα 1.ε.*).
- Ψωρίαση των ονύχων: Εκδηλώνεται με βοθρία και κηλίδες στην επιφάνεια των ονύχων, των οποίων η ανάπτυξη είναι ανώμαλη (άνω και κάτω άκρων), γεγονός που μπορεί να οδηγήσει μέχρι και στην απώλεια τους (ονυχόλυση) (*Εικόνα 1.στ.*).

1.2. Η παθογένεση της ψωρίασης

Η ψωρίαση είναι ένα πολυπαραγοντικό νόσημα, το οποίο έχει αποδειχθεί ότι έχει γενετικό υπόβαθρο. Ως φλεγμονώδες νόσημα του δέρματος, οδηγεί τα κερατινοκύτταρα σε ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό και δυσλειτουργική διαφοροποίηση. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την δημιουργία των πλακών της ψωρίασης ως υπερπλασίες στο δέρμα, που εμπλέκουν δένδριτικά κύτταρα του δέρματος, μακροφάγα, Τ-λεμφοκύτταρα και ουδετερόφιλα (*Rendon et al., 2019*) (βλ. *Εικόνα 2*).

Ενδεικτικά, μελέτες συσχέτισης που έχουν πραγματοποιηθεί σε ολόκληρο το γονιδίωμα (μελέτες GWAS), αναφέρουν ότι μετάλλαξη στο γονίδιο του συμπλόκου ιστοσυμβατότητας *HLA-C*06:02* (γνωστό και ως *HLA-Cw6*) συσχετίζεται με την πρώιμη εκδήλωση της ψωρίασης (<35 ετών). Ανοσολογικοί παράγοντες και φλεγμονώδεις κυτταροκίνες όπως οι *IL1β* και *TNFα*, *IL-23* και *IL-17*, είναι υπεύθυνοι για τις κλινικές εκδηλώσεις της ψωρίασης. Επιπλέον, τα γονίδια που κωδικοποιούν την

ιντερλευκίνη 23 και τον υποδοχέα της έχουν συσχετιστεί με αυξημένη πιθανότητα εκδήλωσης της νόσου, καθώς και πάνω από 60 επιπλέον γενετικοί τόποι, που εμπλέκονται σε διάφορες βιολογικές διαδικασίες όπως η φλεγμονή (κυτταροκίνες και οι υποδοχείς τους), η αντιγονοπαρουσίαση, η κυτταρική σηματοδότηση και η ρύθμιση της μεταγραφής (Liang *et al.*, 2017).



Εικόνα 1: Τύποι ψωρίασης: α. Ψωρίαση κατά πλάκας (πηγή: dermnetnz.org), β. Φλυκταινώδης ψωρίαση (πηγή: dermnetnz.org), γ. Σταγονοειδής ψωρίαση (πηγή: dermnetnz.org), δ. Ανάστροφη ψωρίαση (πηγή: mayoclinic.org), ε. Ερυθροδερμική ψωρίαση (πηγή: mayoclinic.org), στ. Ψωρίαση των ονύχων (πηγή: mayoclinic.org)

Η έρευνα στην παθογένεση της ψωρίασης είχε ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη θεραπειών, που στοχεύουν συγκεκριμένα μόρια, που εμπλέκονται στην φλεγμονή, η οποία προκαλεί την εκδήλωση των δερματικών βλαβών, όπως περιεγράφηκε παραπάνω. Η ταυτοποίηση του άξονα IL-23/IL-17 ως το μονοπάτι που οδηγεί στην παθογένεση της ψωρίασης, αποτέλεσε έναυσμα στην ανάπτυξη πιο στοχευμένων και συστημικών θεραπειών με αναστολείς του παράγοντα TNF-α και των ιντερλευκινών IL-12/23, IL-23 και IL-17.

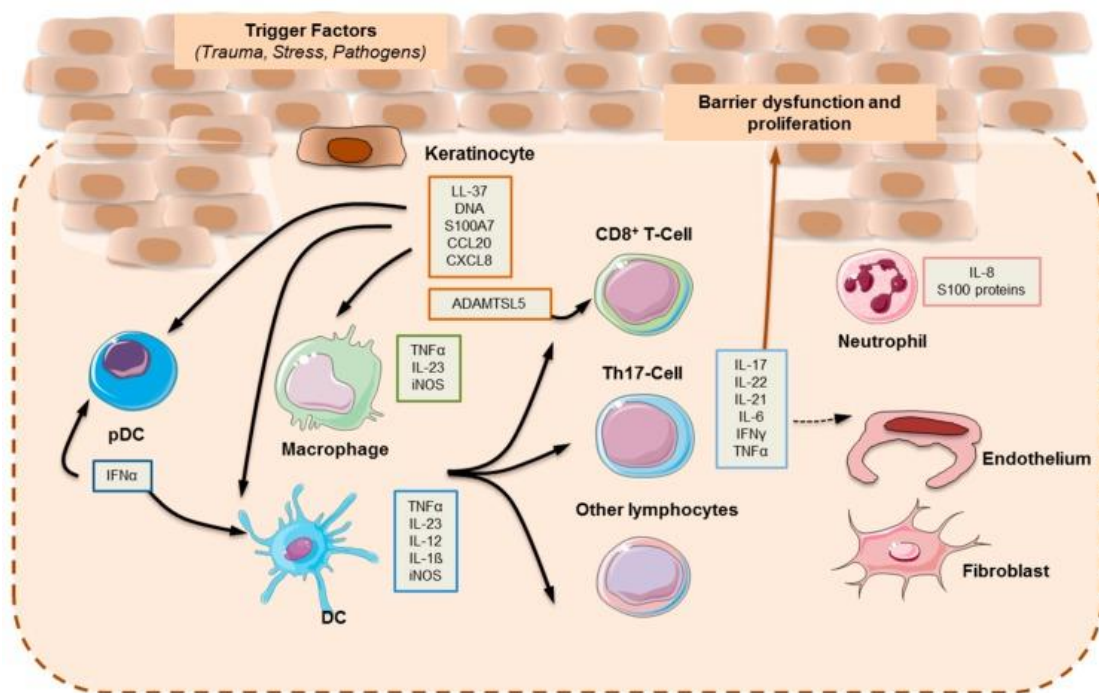
Επιπλέον, ορισμένοι περιβαλλοντικοί παράγοντες έχουν συσχετισθεί με την εμφάνιση του εν λόγω νοσήματος, σε άτομα με γενετική προδιάθεση, όπως λοιμώξεις, πληγές ή εγκαύματα, κάπνισμα, υπερβολική κατανάλωση αλκοόλ ή απότομη διακοπή της αγωγής με κορτικοστεροειδή.

Εκτός των συμπτωμάτων της ψωρίασης, που σχετίζονται με την ύπαρξη των ψωριασικών πλακών, στους πάσχοντες αυξάνεται ο κίνδυνος εκδήλωσης και άλλων νοσημάτων όπως:

- Ψωριασική αρθρίτιδα (πόνος, δυσκαμψία, οίδημα στις αρθρώσεις και γύρω από αυτές)
- Προσωρινές αλλαγές στο χρώμα του δέρματος (μετα-φλεγμονώδης υπερμελάγχρωση ή υπομελάγχρωση)
- Οφθαλμικές παθήσεις (βλεφαρίτιδα, επιπεφυκίτιδα κ.α.)
- Παχυσαρκία

- Διαβήτης τύπου-2
- Υπέρταση
- Καρδιαγγειακά νοσήματα
- Άλλα αυτοάνοσα νοσήματα (κοιλιοκάκη, πολλαπλή σκλήρυνση, νόσος Crohn)
- Συνέπειες στην ψυχική υγεία (χαμηλή αυτοεκτίμηση, κατάθλιψη κ.α.)

Επί του παρόντος, δεν υπάρχει διαθέσιμη φαρμακευτική αγωγή για πλήρη ίαση της ψωρίασης και ο στόχος των διαθέσιμων φαρμάκων, στα οποία θα γίνει αναλυτικότερη αναφορά σε επόμενο κεφάλαιο, είναι η ανακούφιση από τα συμπτώματα κατά την έξαρση της νόσου και η ύφεση της ασθένειας συνολικά, με σκοπό την βελτίωση της ποιότητας ζωής του ασθενούς.



Εικόνα 2. Η παθογένεση της ψωρίασης, κυτταρικές και μοριακές αλληλεπιδράσεις (Rendon et al, 2019).

1.3. Πρότυπα αξιολόγησης βαρύτητας της νόσου

Τα αίτια που καθορίζουν την κλινική εικόνα, ο κίνδυνος συννοσηρότητας από παθήσεις που προαναφέρθηκαν, καθώς και η ποιότητα ζωής των ασθενών με ψωρίαση, είναι πολυπαραγοντικά. Βασικά στοιχεία για τον χαρακτηρισμό της νόσου είναι ο τύπος ψωρίασης, με βάση τον τρόπο που αυτή εκδηλώνεται (βλ. *Εικόνα 1.*), η έκταση που καταλαμβάνουν οι δερματικές αλλοιώσεις και η κατανομή των δερματικών βλαβών (συμπεριλαμβανομένων και ειδικών περιοχών όπως η κεφαλή, οι όνυχες, το πρόσωπο, τα σημεία με πτυχωσίες, οι παλάμες και τα πέλματα).

Τα παραπάνω χαρακτηριστικά ποικίλουν σημαντικά μεταξύ των ασθενών. Για τον λόγο αυτό έχουν οριστεί αντικειμενικά πρότυπα αξιολόγησης και ποσοτικοποίησης της βαρύτητας της νόσου, με σκοπό να βοηθήσουν τον θεράποντα ιατρό στην παρακολούθηση της πορείας του ασθενούς, στην επιλογή της θεραπευτικής

προσέγγισης, καθώς και στην παραπομπή του σε ιατρούς άλλων ειδικοτήτων, σε περίπτωση που υπάρχει υποψία ή εκδήλωση συννοσηρότητας.

Τα βασικά πρότυπα αξιολόγησης της ψωρίασης είναι ο δείκτης PASI (Psoriasis Area and Severity Index), ο οποίος χρησιμοποιείται ως δείκτης αναφοράς, όπως και στην παρούσα εργασία, ο δείκτης DLQI (Dermatology Life Quality Index (DLQI)), ο δείκτης SAPASI και άλλοι, οι οποίοι παρουσιάζονται αναλυτικότερα παρακάτω.

1.3.1. Δείκτης Psoriasis Area and Severity Index (PASI)

Ο δείκτης PASI χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά το 1978 από τους Fredriksson και Petersson. Είναι ο πιο αξιόπιστος και ευρέως διαδεδομένος δείκτης αξιολόγησης της κλινικής εικόνας των ασθενών με ψωρίαση, ο οποίος χρησιμοποιείται για δεκαετίες. Σε αυτό το σύστημα αξιολόγησης, τέσσερα σημεία του σώματος το κεφάλι (h), τα άνω άκρα (u), ο κορμός (t) και τα κάτω άκρα (l) αξιολογούνται για τρεις παραμέτρους, το ερύθημα (E), την σκλήρυνση (I) και την ύπαρξη λεπιών (D).

Η κάθε μία από αυτές τις τρεις παραμέτρους βαθμολογείται σε σοβαρότητα σε κλίμακα 0-4 (όπου 0 = απουσία, 1 = ήπια, 2 = μέτρια, 3 = σοβαρή, 4 = πολύ σοβαρή). Όσον αφορά την έκταση του δέρματος επί τοις 100 που πάσχει, βαθμολογείται ως εξής, 1 = <10%, 2 = 11-29%, 3 = 30-49%, 4 = 50-69%, 5 = 70-89% και 6 = >90%. Η βαθμολογία των 3 παραμέτρων πολλαπλασιάζεται με τη βαθμολογία που αφορά την έκταση του πάσχοντος δέρματος και τον συντελεστή κάθε περιοχής του σώματος που είναι 0,1 για την κεφαλή, 0,2 για τα άνω άκρα, 0,3 για τον κορμό και 0,4 για τα κάτω άκρα. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τον παρακάτω τύπο: $PASI = 0.1 (E_h + I_h + D_h) A_h + 0.2 (E_u + I_u + D_u) A_u + 0.3 (E_t + I_t + D_t) A_t + 0.4 (E_l + I_l + D_l) A_l$, όπου A_x η βαθμολογία που αντιστοιχεί για την επί τοις εκατό πάσχουσα περιοχή για κάθε μέρος του σώματος. Η μέγιστη τιμή του δείκτη PASI είναι 72.

Ο δείκτης PASI με ενδείξεις όπως PASI 75 ή PASI 90, που χρησιμοποιείται ευρέως στη βιβλιογραφία, αφορά την μείωση επί τοις εκατό του αρχικού δείκτη PASI (π.χ. PASI 75 = 75% μείωση κ.ο.κ.). Οι μεταβολές του PASI αποτελούν για την παρούσα εργασία, το σύστημα αξιολόγησης των ασθενών με ψωρίαση κατά τη διάρκεια της έρευνας, για την κατάταξή τους σε κατηγορίες αποκριθέντων και μη αποκριθέντων σε αναστολείς IL-23, όπως θα αναφερθεί σε επόμενο κεφάλαιο.

1.3.2. Self-Administered Psoriasis Area and Severity Index (SAPASI)

Ο δείκτης SAPASI (Self-Administered Psoriasis Area and Severity Index), δίνει τη δυνατότητα μέτρησης της σοβαρότητας της ψωρίασης, από τον ίδιο τον ασθενή. Χρησιμοποιείται το ίδιο σύστημα αξιολόγησης με τον δείκτη PASI, με τη διαφορά ότι η μέτρηση δεν γίνεται από ειδικά καταρτισμένο ιατρικό προσωπικό, αλλά από τον ασθενή. Σύμφωνα με έρευνες που έγιναν σε μετρήσεις των ασθενών και τις διαφορές τους με αυτές των ιατρών, διαπιστώθηκε ότι οι ασθενείς κατάφεραν να ακολουθήσουν αρκετά αξιόπιστα το σύστημα αξιολόγησης και να μετρήσουν τη βαρύτητα της νόσου στο δέρμα τους, για μια συγκεκριμένη χρονική στιγμή (Laskowski et al., 2023).

1.3.3. Body Surface Area (BSA)

Ο δείκτης BSA (Body Surface Area), υπολογίζει το ποσοστό της επιφάνειας του δέρματος που πάσχει και αποτελεί ένα σημαντικό δείκτη αξιολόγησης της σοβαρότητας της ψωρίασης. Βοηθά τον θεράποντα ιατρό όχι μόνο στην αξιολόγηση της ψωρίασης μια δεδομένη στιγμή, αλλά και στην αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας μια νέας θεραπευτικής προσέγγισης για τον ασθενή. Χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με άλλους δείκτες, όπως ο δείκτης PASI, από ιατρούς δερματολόγους για την αξιολόγηση της κλινικής εικόνας των ασθενών. Η αύξησή του πολλές φορές υποδεικνύει περαιτέρω επιβάρυνση από άλλα υποκείμενα νοσήματα, όπως αναφέρθηκαν προηγουμένως. Οι

τιμές αυτού του δείκτη έχουν ως εξής: BSA <3% : Ήπια ψωρίαση, BSA 3-10% : Μέτρια ψωρίαση και BSA >10% : Σοβαρή ψωρίαση.

1.3.4. Simplified Psoriasis Index (SPI)

Ο δείκτης SPI (Salford Psoriasis Index) αναπτύχθηκε στα τέλη της δεκαετίας του '90, ώστε να χρησιμοποιηθεί στην αξιολόγηση της βαρύτητας της ψωρίασης, με τρόπο ολιστικό ως προς την κλινική εικόνα (SPI-s, severity), τις ψυχικές-κοινωνικές συνέπειες (SPI-p, psychosocial) και το ιστορικό του ασθενούς. Οι τρεις αυτοί παράγοντες επηρεάζουν την εξέλιξη της νόσου, ωστόσο δεν είναι εύκολο να ενσωματωθούν ποσοτικά. Ο παράγοντας που αφορά την κλινική εικόνα προέρχεται από τον δείκτη PASI, επιπλέον η ψυχική-κοινωνική κατάσταση του ασθενούς αξιολογείται σε μία κλίμακα από 0-10. Τέλος, λαμβάνονται υπόψιν το ιστορικό από την αρχή της νόσου, η εξέλιξη της ασθένειας, καθώς και πιθανές δυσκολίες κατά την διαχείρισή της, οι οποίες χρειάστηκαν κάποια παρέμβαση. Οι παρεμβάσεις αυτές εκφράζονται από το SPI-i score (SPI-i, interventions).

1.3.5. Dermatology Life Quality Index (DLQI)

Ο δείκτης DLQI είναι ένας έγκυρος τρόπος αξιολόγησης της ποιότητας ζωής των ασθενών με ψωρίαση, ο οποίος αποτελείται από ένα ερωτηματολόγιο 10 ερωτήσεων, που συμπληρώνει μόνος του ο ασθενής, εκφράζοντας πώς πιστεύει ο ίδιος, ότι η νόσος επηρεάζει την ποιότητα ζωής του. Το ερωτηματολόγιο χωρίζεται σε 6 κατηγορίες και οι ερωτήσεις βαθμολογούνται με μια κλίμακα 0-3, όπου το 0= καθόλου και το 3= πάρα πολύ. Η μεγαλύτερη τιμή του δείκτη είναι 30 και ισοδυναμεί με τη μέγιστη επιρροή της νόσου στην ποιότητα ζωής του ασθενούς.

1.3.6. SKINDEX-16

Ο στόχος ανάπτυξης της συγκεκριμένης μεθόδου, είναι η μέτρηση της επιρροής που έχει η ψωρίαση και κάθε δερματική πάθηση στην ποιότητα ζωής των ασθενών, με τρόπο κατανοητό και με τη δυνατότητα να ανιχνεύονται οι αλλαγές στο πέρασμα του χρόνου. Ο δείκτης κινείται γύρω από τρεις κεντρικούς πυλώνες, τα συμπτώματα, τα συναισθήματα και τη λειτουργικότητα των ασθενών. Ο SKINDEX-16 είναι η συνοπτική έκδοση του δείκτη SKINDEX, με 16 ερωτήσεις, ο οποίος δεν μετρά μόνο τη συχνότητα των συμπτωμάτων, αλλά και το βαθμό δυσφορίας που αυτά προκαλούν στον ασθενή. Το ερωτηματολόγιο ξεκινά με μία φράση, όπως: Τις τελευταίες «x» εβδομάδες, πόσο συχνά νιώσατε δυσφορία από το σύμπτωμα «y»; Η κλίμακα επτά επιλογών που δίνεται στους ασθενείς ξεκινά με το «Ποτέ δε με ενόχλησε» και φτάνει στο «Με ενοχλούσε συνεχώς». Οι ερωτήσεις χωρίζονται ως εξής: 4 ερωτήσεις για τα συμπτώματα, 7 για τα συναισθήματα και 5 για τη λειτουργικότητα. Τέλος, τα δεδομένα αξιολογούνται σε μια κλίμακα από το 0 ως το 100.

1.4. Θεραπευτικές προσεγγίσεις στην ψωρίαση

Η ψωρίαση είναι ένα νόσημα, που όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, αξιολογείται η βαρύτητά του και αντιστοίχως χορηγείται στους ασθενείς η κατάλληλη θεραπεία. Στους ασθενείς με ήπια κλινική εικόνα, χορηγούνται τοπικά σκευάσματα μόνα ή σε συνδυασμό με άλλα φάρμακα (κορτικοστεροειδή, παράγωγα βιταμίνης D) κ.α. Η χρήση ορισμένων δεν ενδείκνυνται για μακροπρόθεσμη χορήγηση λόγω παρενεργειών (Yamanaka *et al.*, 2021), οπότε, αναδεικνύεται η ανάγκη για διαφοροποίηση της θεραπευτικής προσέγγισης, με σκοπό την βέλτιστη διαχείριση της νόσου με βιώσιμο τρόπο. Οι κύριες κατηγορίες τοπικών θεραπευτικών προσεγγίσεων είναι οι ακόλουθες:

➤ Τοπικές θεραπείες

- Ενυδατικοί και μαλακτικοί παράγοντες, αφρός, τοπική γέλη

- Σκευάσματα πίσσας
- Διθρανόλη
- Σαλικυλικό οξύ
- Παράγωγα της βιταμίνης D (όπως Καλσιποτριόλη)
- Τοπικά κορτικοστεροειδή
- Αναστολείς καλσινευρίνης

➤ **Φωτοθεραπεία:**

- Θεραπεία με υπεριώδη ακτινοβολία UVB
- Θεραπεία με λείζερ
- Φωτοθεραπεία σε συνδυασμό με τοπικές αγωγές

Άλλες προσεγγίσεις στην μέτρια ως σοβαρή ψωρίαση, αποτελούν συμβατικές συστημικές θεραπείες με την χορήγηση υδροξυουρίας ή φουμαρικού διμεθυλεστέρα. Επιπλέον, νεότερες θεραπείες αφορούν την χορήγηση μικρών μορίων (small molecules) όπως η απρεμιλάστη, η δεουκραβασιτινίμπη (deucravacitinib), η μπρεπσοσιτανίμπη (breprocitanib) ή η ροψασιτανίμπη (ropsacitanib), τα οποία είναι εκλεκτικοί αναστολείς κίνησης τυροσίνης 2 (TYK2, που ανήκουν στην οικογένεια των JAK).

Η χορήγηση των παραπάνω φαρμακευτικών αγωγών, τόσο τοπικών όσο και συστημικών, έχει καταστήσει δυνατή την πλήρη ή σε μεγάλο βαθμό εξάλειψη των πλακών ψωρίασης και κατ' επέκταση προσφέρει σημαντική βελτίωση στην ποιότητα ζωής των πασχόντων. Ωστόσο, επειδή ορισμένοι ασθενείς δεν καλύπτονται επαρκώς από τις συμβατικές θεραπευτικές προσεγγίσεις, δημιουργήθηκε η ανάγκη εύρεσης πιο αποτελεσματικών φαρμάκων.

Για τον λόγο αυτό, στην κλινική πράξη έχουν ενταχθεί και άλλες συστημικές θεραπείες με την χρήση βιολογικών παραγόντων. Οι βιολογικοί παράγοντες, δηλαδή τα μονοκλωνικά αντισώματα, δρουν ως αναστολείς υποδοχέων, σε μονοπάτια που εμπλέκονται στην παθογένεση της ψωρίασης και στην φλεγμονώδη απόκριση. Αφορούν την θεραπεία της μέτριας έως και σοβαρής ψωρίασης και δείχνουν να βελτιώνουν σε σημαντικό βαθμό τη νόσο, ενώ ταυτόχρονα έχουν ικανοποιητικό προφίλ ασφάλειας σε σύγκριση με άλλες συμβατικές θεραπείες, όπως η μεθοτρεξάτη, η κυκλοσπορίνη ή η ακιρετίνη.

Οι βιολογικοί παράγοντες διακρίνονται στις εξής κύριες κατηγορίες με βάση τον στόχο τους:

- Αναστολείς του παράγοντα νέκρωσης όγκων-άλφα (TNFα), οι ουσίες αδαλινουμάμπη, ετανερσέπτη, ινφλιξιμάμπη και κερτολιζουμάμπη πεγόλη.
- Αναστολείς της ιντερλευκίνης 17 (IL-17), οι ουσίες ιξεκίζουμάμπη, σεκουκινουμάμπη, μπροδαλουμάμπη και μπιμεκίζουμάμπη.
- Αναστολείς της ιντερλευκίνης 23 (IL-23), οι ουσίες ρισανκίζουμάμπη, γκουσελκουμάμπη, και τιλδρακίζουμάμπη, που στοχεύουν την υπομονάδα p19 της IL-23, και η ουστεκινουμάμπη, που στοχεύει την υπομονάδα p40.

Όπως θα αναλυθεί παρακάτω, η χορήγηση αυτών των καινοτόμων και πολλά υποσχόμενων θεραπειών παρέχει σε πολύ μεγάλο ποσοστό την πλήρη εξάλειψη των δερματικών αλλοιώσεων στους ασθενείς. Ωστόσο, υπάρχει ακόμη ένα ποσοστό ασθενών οι οποίοι δεν ανταποκρίνονται επαρκώς στους βιολογικούς παράγοντες, υπάρχουν άλλοι ασθενείς στους οποίους ο βιολογικός παράγοντας χάνει την δραστηριότητά του με το πέρασμα του χρόνου (δευτερογενής απώλεια απόκρισης) ή ακόμη και ασθενείς στους οποίους μπορεί να προκύψουν σοβαρές παρενέργειες. Ως εκ τούτου, αναδεικνύεται η ανάγκη να διερευνηθούν α) τα αίτια στα οποία οφείλεται η μη-καλή απόκριση σε κάποιον από τους παράγοντες αυτούς και β) η πιθανή συσχέτιση

γενετικών τόπων με την καλή ή κακή απόκριση σε ένα βιολογικό παράγοντα, ώστε να υπάρχει στο μέλλον η δυνατότητα οι θεράποντες ιατροί να παρέχουν εξατομικευμένες θεραπευτικές προσεγγίσεις.

1.5. Μηχανισμός δράσης και φαρμακολογικά χαρακτηριστικά των αναστολέων IL-23

Η ιντερλευκίνη 23 (IL-23) είναι μία κυτταροκίνη, που παράγεται φυσιολογικά από τον οργανισμό, καθώς συμμετέχει στην φλεγμονή και σε άλλες αποκρίσεις του ανοσοποιητικού συστήματος. Εμπλέκεται στην ανάπτυξη, την διαφοροποίηση και την λειτουργία των Τ-βοηθητικών (T_{helper})-17 λεμφοκυττάρων, τα οποία παράγουν την IL-17-A και 17-F, όπως και άλλες προ-φλεγμονώδεις κυτταροκίνες, οι οποίες παίζουν σημαντικό ρόλο στην παθογένεση της ψωρίασης (*Rendon et al., 2019*), όπως και άλλων φλεγμονωδών αυτοάνοσων νοσημάτων (*McGovern et al., 2007*).

Τα τελευταία χρόνια εγκρίθηκαν τρεις βιολογικοί παράγοντες, που στοχεύουν την IL-23, η γκουσελκουμάμπη (2017), η τιλδρακιζουμάμπη (2018) και η ρισανκιζουμάμπη (2019), παράγοντες που χορηγούνται υποδόρια. Οι βιολογικοί παράγοντες αυτοί έχουν μεγάλο χρόνο ημιζωής, γεγονός που δίνει τη δυνατότητα οι δόσεις να δίδονται ανά αραιά χρονικά διαστήματα, βελτιώνοντας περαιτέρω την ποιότητα ζωής των ασθενών. Ειδικότερα, η ρισανκιζουμάμπη έχει χρόνο ημιζωής περίπου 28 ημέρες (*Pang et al., 2019*), η γκουσελκουμάμπη 18 ημέρες (*Yao et al., 2018*) και η τιλδρακιζουμάμπη ένα εύρος από 20 έως 28 ημέρες (*Yiu et al., 2017*).

1.5.1. Ρισανκιζουμάμπη (Risankizumab, Skyrizi)

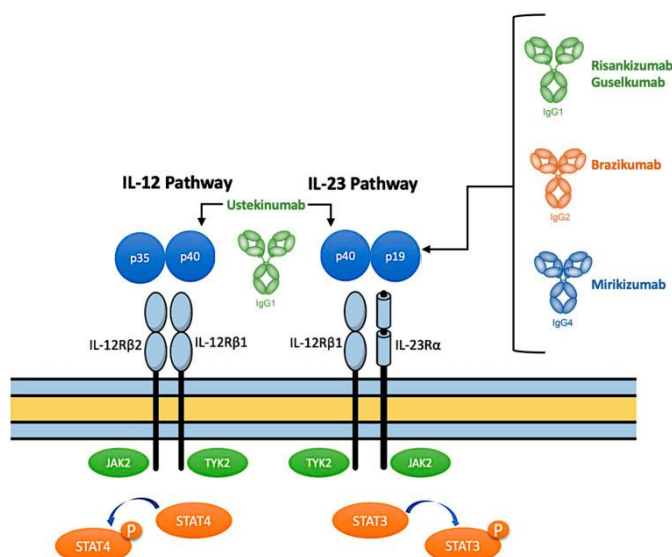
Η ρισανκιζουμάμπη είναι ένα εξανθρωποποιημένο μονοκλωνικό αντίσωμα ανοσοσφαιρίνης G₁ (IgG₁)κ (κ, ο τύπος της ελαφράς αλυσίδας του αντισώματος), το οποίο συνδέεται εκλεκτικά, με μεγάλη συγγένεια (≤ 29 pM) (*Pang et al., 2019b*) στην υπομονάδα p19 της ανθρώπινης κυτταροκίνης IL-23 (βλ. *Εικόνα 3*) και το οποίο φέρει 2 μεταλλάξεις στην περιοχή Fc (*Leu234Ala* και *Leu235Ala*), οι οποίες μειώνουν τις αλληλεπιδράσεις με υποδοχείς Fc gamma (*Pang et al., 2024*). Η αναστολή αυτής της αλληλεπίδρασης μεταξύ της IL-23 με τους υποδοχείς της, έχει ως αποτέλεσμα την αναστολή του μονοπατιού κυτταρικής σηματοδότησης που εξαρτάται από την IL-23, το οποίο θα οδηγούσε στην παραγωγή διαφόρων διαμεσολαβητών της φλεγμονώδους απόκρισης.

1.5.2 Γκουσελκουμάμπη (Guselkumab, Tremfya)

Η γκουσελκουμάμπη είναι ένα πλήρως ανθρώπινο μονοκλωνικό αντίσωμα IgG1λ (λ, ο τύπος της ελαφράς αλυσίδας του αντισώματος), που συνδέεται στην υπομονάδα p19 της ιντερλευκίνης-23 με υψηλή ειδικότητα και συγγένεια. Λειτουργεί με αντίστοιχο τρόπο με την ρισανκιζουμάμπη, διακόπτοντας τη μεσολαβούμενη από την IL-23 κυτταρική σηματοδότηση, άρα και τη βιολογική δράση της στη φλεγμονώδη απόκριση, με σκοπό την εξάλειψη των συμπτωμάτων που οφείλονται σε αυτή.

1.5.3. Τιλδρακιζουμάμπη (Tildrakizumab, Ilumya)

Η τιλδρακιζουμάμπη είναι ένα εξανθρωποποιημένο IgG1/κ μονοκλωνικό αντίσωμα που δεσμεύεται με ειδικότητα στην υπομονάδα p19 της IL-23. Με αντίστοιχο τρόπο με τους προηγούμενους παράγοντες, αναστέλλει την απελευθέρωση προφλεγμονωδών κυτταροκινών και χημειοκινών, μέσω της αναστολής της αλληλεπίδρασης της IL-23 με τους υποδοχείς της.



Εικόνα 3. Φαρμακευτικός στόχος των αναστολέων IL-23 (μονοπάτι *IL-12* και *IL-23*) (Fanizza et al., 2024).

1.6 . Η σημασία της φαρμακογενετικής ανάλυσης στην κλινική πράξη για τους αναστολείς IL-23, Ρισανκιζουμάμπη και Γκουσελκουμάμπη

Η φαρμακογενετική ανάλυση δίνει την προοπτική εύρεσης συσχέτισης μεταξύ γενετικών παραλλαγών και της καλής ή κακής απόκρισης σε ένα φάρμακο επιλογής. Εφόσον, βρεθούν συσχετίσεις και εδραιωθούν στην κλινική πρακτική, θα υπάρχει η δυνατότητα εξατομικευμένης θεραπείας, με τα καλύτερα δυνατά αποτελέσματα για τον χρόνια πάσχοντα, με σκοπό την βελτίωση των συμπτωμάτων χωρίς σοβαρές παρενέργειες.

Μετά από αξιολόγηση των υπάρχουσών κλινικών δοκιμών για τους βιολογικούς παράγοντες ρισανκιζουμάμπη και γκουσελκουμάμπη σε ασθενείς με ψωρίαση, παρατηρούμε ότι τα συμπτώματα εξαλείφονται ή μειώνονται σημαντικά και ταυτόχρονα βελτιώνεται η ποιότητα ζωής των ασθενών. Στις κλινικές δοκιμές χρησιμοποιήθηκε ως κριτήριο ο δείκτης ΔPASI ≥ 90 στις 16 εβδομάδες από την έναρξη της δοκιμής και η αποτελεσματικότητα της ρισανκιζουμάμπης ήταν κατά μέσο όρο 72,5% (βλ. Πίνακας 1), ενώ της γκουσελκουμάμπης κατά μέσο όρο 76,3% (βλ. Πίνακας 2).

Αντίστοιχα, τα αποτελέσματα από ασθενείς που έλαβαν τη θεραπεία μετά την κυκλοφορία του φαρμάκου (real world data), για χρονικό διάστημα μεγαλύτερο των 16 εβδομάδων έδειξαν ότι ο δείκτης ΔPASI ≥ 90 κυμάνθηκε στο 56,8% (36-48 εβδομάδες) για την γκουσελκουμάμπη (Armstrong et al., 2023) και στο 65,6% (48 εβδομάδες) για την ρισανκιζουμάμπη (Strober et al., 2024).

Τα παραπάνω δεδομένα υποδεικνύουν βελτίωση στην κλινική εικόνα ενός σημαντικού ποσοστού των ασθενών. Ωστόσο, για ένα εξίσου σημαντικό ποσοστό των ασθενών που δεν ανταποκρίνεται στη θεραπεία, υπάρχει η ανάγκη διερεύνησης της πιθανότητας ύπαρξης γενετικών τόπων, που συσχετίζονται με την μειωμένη απόκριση στα εν λόγω φάρμακα, με την προσέγγιση της φαρμακογενετικής ανάλυσης.

Πίνακας 1. Απόκριση ΔΡΑΣΙ ≥ 90 για το φάρμακο Ρισανκιζουμάμπη σε κλινικές δοκιμές φάσης III, σε ασθενείς με ψωρίαση κατά πλάκας, στις 16 εβδομάδες (δόση: 150 mg)

A/A	Κλινική δοκιμή- ClinicalTrials.gov ID (Έτος)	Απόκριση (%) σε Placebo/ Αριθμός ατόμων	Απόκριση (%) στη Ρισανκιζουμάμπη/ Αριθμός ατόμων	% Καυκάσιοι στο Συνολικό Δείγμα	Συνολικό Δείγμα
1.	NCT03875482 (2021)	3,8 / 52	62,9 / 105	83%	157
2.	NCT03875508 (2021)	-	66,7 / 108	88%	108
3.	NCT02672852 (2019)	2,0 / 100	73,2 / 407	79,3%	507
4.	NCT03255382 (2019)	-	83,3 / 60	98%	60
5.	NCT03478787 (2021)	-	73,8 / 164	92,1%	164
6.	NCT02684370 (2021)	4,9 / 102	75,3 / 304	67%	406
7.	NCT02694523 (2021)	-	72,4 / 301	81,4%	301

Πίνακας 2. Απόκριση ΔΡΑΣΙ ≥ 90 για το φάρμακο Γκουσελκουμάμπη σε κλινικές δοκιμές φάσης III, σε ασθενείς με ψωρίαση κατά πλάκας, στις 16 εβδομάδες:

A/A	Κλινική δοκιμή- ClinicalTrials.gov ID (Έτος)	Απόκριση (%) σε Placebo/ Αριθμός ατόμων	Απόκριση (%) 50mg Γκουσελκουμ άμπη/ Αριθμός ατόμων	Απόκριση (%) 100mg Γκουσελκουμ άμπη/ Αριθμός ατόμων	Πληθυσμιακή Ομάδα	Συνολικό δείγμα
1.	NCT02325219 (2020)	0 / 64	70,8 / 65	69,8 / 63	Ασιάτες (Ιάπωνες)	192
2.	NCT02905331 (2018)	0 / 16	-	75,8 / 62	90% Καυκάσιοι	78
3.	NCT02207244 (2021)	2,4 / 248	-	70,0 / 496	-	744
4.	NCT02207231 (2021)	2,9 / 174	-	73,3 / 329	-	503
5.	NCT03090100 (2019)	-	-	92,7 / 534	93,4% Καυκάσιοι	534

1.7 Σκοπός της εργασίας

Σύμφωνα με τα δεδομένα των κλινικών δοκιμών, υπάρχει ένα ποσοστό ασθενών που δεν ανταποκρίνεται επαρκώς στην θεραπεία με αναστολείς IL-23. Επίσης, μέχρι σήμερα έχει δημοσιευτεί μία μόνο φαρμακογενετική μελέτη σε 14 ασθενείς που έλαβαν τον συγκεκριμένο βιολογικό παράγοντα. Για τον λόγο αυτό, η παρούσα εργασία επιδιώκει να συνεισφέρει στην διερεύνηση των γενετικών αιτιών, που συσχετίζονται με

την απόκριση των ασθενών εφαρμόζοντας ανάλυση συσχέτισης στα γονίδια που κωδικοποιούν την IL-23 και τον υποδοχέα της. Η παρούσα ανάλυση εντάσσεται σε ένα μεγαλύτερο ερευνητικό στόχο, που αφορά την φαρμακογενετική ανάλυση των φαρμάκων που χορηγούνται για την θεραπεία της ψωρίασης.

2. ΥΛΙΚΑ & ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1. Ασθενείς

Στην μελέτη συμμετείχαν 19 ασθενείς, οι οποίοι έπασχαν από μέτρια έως σοβαρή ψωρίαση, στους οποίους χορηγήθηκε αναστολέας IL-23 (εμπορικές ονομασίες: *Skyrizi* & *Tremfya*, 150 mg/mL και 100mg/mL αντίστοιχα) για τουλάχιστον 16 εβδομάδες. Οι ασθενείς παρακολουθούνται και αξιολογούνται από τη Δερματολογική Κλινική του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας (ΠΓΝΛ). Η αξιολόγηση των ασθενών έγινε με βάση την μεταβολή του δείκτη PASI στις 16 εβδομάδες ή στο κοντινότερο χρονικό διάστημα μετά από αυτές και χωρίστηκαν σε αποκρινέντες και μη-αποκρινέντες με όριο ΔPASI90. Οι ασθενείς που περιλήφθηκαν στην ανάλυση δεν έλαβαν κάποια άλλη συμπληρωματική αγωγή, κατά την χορήγηση αναστολέα IL-23. Τα δείγματα που λήφθηκαν από τους ασθενείς χρησιμοποιήθηκαν με την συγκατάθεση τους και διαχειρίστηκαν με ημι-ανώνυμο τρόπο.

2.2. Απομόνωση και έλεγχος ποιότητας DNA, γονοτύπηση

Η απομόνωση γονιδιωματικού DNA έγινε από ολικό αίμα ασθενών ή από αίμα από το οποίο είχε απομονωθεί σημαντικό ποσοστό λευκών αιμοσφαιρίων, από δείγματα τα οποία χρησιμοποιήθηκαν σε άλλη συναφή μελέτη. Η απομόνωση έγινε με την χρήση του PureLink Genomic DNA Kit (Thermo Fisher Scientific, Η.Π.Α.) σύμφωνα με τις οδηγίες της εταιρίας. Χρησιμοποιήθηκαν 200 μ L ολικού αίματος ή 400 μ L αίματος πτωχού σε λευκά αιμοσφαίρια. Για τα τελευταία δείγματα επιλέχθηκε ο μικρότερος όγκος έκλουσης (30 μ L) με σκοπό την απομόνωση DNA με τη μεγαλύτερη δυνατή συγκέντρωση.

Στην συνέχεια διενεργήθηκε ηλεκτροφόρηση με πηκτή αгарόζης συγκέντρωσης 1%, με σκοπό να ελεγχθεί η ποιότητα του απομονωμένου DNA. Επιπλέον, το απομονωμένο DNA φωτομετρήθηκε στα 260 και τα 280 nm με τη χρήση φασματοφωτόμετρου τύπου Quawell. Κατόπιν, διενεργήθηκε γονοτύπηση στο εργαστήριο Human Genomics Facility (HuGe-F) του Ιατρικού Κέντρου του Πανεπιστημίου Εράσμου (University Medical Centre, Ρότερνταμ, Ολλανδία) χρησιμοποιώντας 200 ng DNA ανά δείγμα με την χρήση του Illumina Infinium Global Screening Array MD v3.0, το οποίο περιέχει περίπου 730.000 SNPs. Τα αποτελέσματα της γονοτύπησης λήφθηκαν σε μορφή αρχείων .ped και .map.

2.3. Στατιστική ανάλυση αποτελεσμάτων

Τα αποτελέσματα της γονοτύπησης φιλτραρίστηκαν με σκοπό να αποκλειστούν ασθενείς και SNPs με call rate < 99%, SNPs με συχνότητα σπάνιου αλληλόμορφου (MAF) <10% και ανισορροπία σύνδεσης $r^2 > 0,8$. Οι συντεταγμένες των γονιδίων που επιλέχθηκαν στην παρούσα ανάλυση συσχέτισης με την απόκριση σε αναστολείς ιντερλευκίνης 23 λήφθηκαν από την βάση δεδομένων Ensembl (<https://grch37.ensembl.org/index.html>) σύμφωνα με την έκδοση GRCh37, επειδή όλες οι συντεταγμένες των SNPs που γονοτυπήθηκαν ήταν διαθέσιμες σε αυτήν την έκδοση του γονιδιώματος. Όλες οι παραπάνω αναλύσεις, καθώς και η ανάλυση συσχέτισης διενεργήθηκαν με τη χρήση του λογισμικού PLINK (PLINK 1.9). Τέλος, τα κλινικά χαρακτηριστικά των αποκρινέντων και μη αποκρινέντων ασθενών συγκρίθηκαν με τη χρήση του t-test.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1. Κλινικά χαρακτηριστικά ασθενών

Στην παρούσα έρευνα συμμετείχαν 19 ασθενείς με ψωρίαση κατά πλάκας, εκ των οποίων οι 11 είναι άνδρες και οι 8 είναι γυναίκες, στους οποίους έχει χορηγηθεί αγωγή με βιολογικό παράγοντα αντι-IL23 (ρισανκιζουμάμπη ή γκουσελκουμάμπη). Τα κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών που συμμετείχαν στην έρευνα, όπως το φύλο, η ηλικία, η διάρκεια της νόσου ως τη χορήγηση της αγωγής, το βάρος, το BMI (ΔΜΣ, Δείκτης Μάζας σώματος) και η τιμή του δείκτη PASI κατά την έναρξη της αγωγής (PASI0) παρουσιάζονται αναλυτικά στον Πίνακα 3. Η μέση ηλικία στην οποία εμφάνισαν την νόσο είναι τα 53,4 έτη στο σύνολο των ασθενών και η μέση διάρκεια της νόσου ως την χορήγηση του συγκεκριμένου βιολογικού παράγοντα είναι τα 20,5 έτη. Κατά την έναρξη της αγωγής η μέση τιμή του δείκτη PASI είναι 8,5, το μέσο BMI 30,2 και το μέσο βάρος τα 90,2 κιλά. Επιπλέον, το ποσοστό των ασθενών στους οποίους μειώθηκε η τιμή του δείκτη PASI σε ποσοστό ίσο ή μεγαλύτερο του 90% στις 16 εβδομάδες ήταν 68,4% και το πλήθος των αποκριθέντων και μη-αποκριθέντων ασθενών με βάση αυτό το κριτήριο ήταν 13 και 6 αντίστοιχα. Στον Πίνακα 3. φαίνονται επίσης τα κλινικά χαρακτηριστικά των αποκριθέντων και μη αποκριθέντων ασθενών.

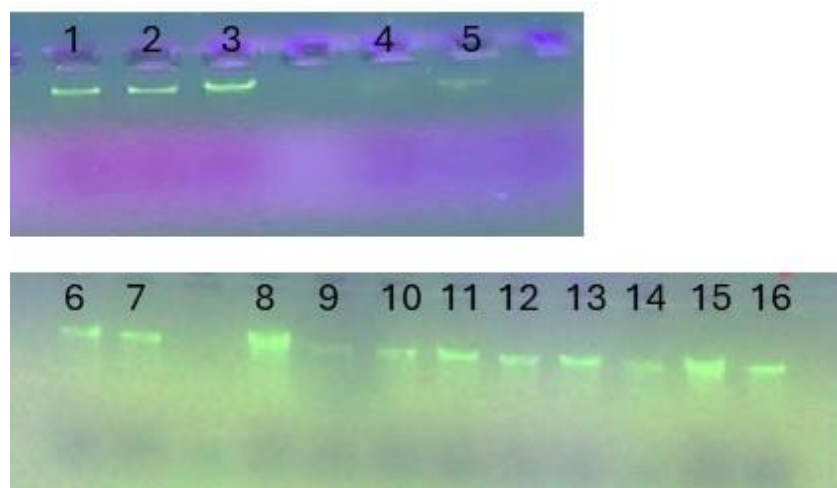
Πίνακας 3. Κλινικά χαρακτηριστικά ασθενών που έλαβαν θεραπεία με αντι-IL23

(SD = τυπική απόκλιση)	Σύνολο Ασθενών (n= 19)	Αποκριθέντες (R, n= 13)	Μη-Αποκριθέντες (NR, n= 6)	p Value
Άρρεν/Θήλυ (Α/Θ)	11/8	5/8	6/0	0,04
Μέση ηλικία εμφάνισης (± SD)	53,4 (SD ±16)	51,8 (SD ±16,9)	57 (SD ±14,7)	0,50
Διάρκεια νόσου ως την αγωγή (έτη)	20,5 (SD ±12)	22,7 (SD ±13,6)	16,5 (SD ±7,9)	0,25
Μέσο βάρος (kg), (± SD)	90,2 (SD ±22,8)	84,1 (SD ±21,6)	103,6 (SD ±21,2)	0,13
Μέσο BMI, (± SD)	30,2 (SD ±7,7)	28,4 (SD ±6,8)	33,4 (SD ±9)	0,31
Μέσο PASI0 (± SD)	8,5 (SD ±6,1)	7,6 (SD ±6,2)	10,1 (SD ±6,1)	0,44

3.2. Απομόνωση DNA

Για την γονοτύπηση του DNA των ασθενών έγινε απομόνωση DNA από ολικό αίμα και στην συνέχεια διενεργήθηκε φωτομέτρηση στα 260 nm και τα 280 nm, για να αξιολογηθεί η ποιότητα του απομονωμένου γενετικού υλικού, όπως επίσης και ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αгарόζης 1%. Ενδεικτικά, στην Εικόνα 4 φαίνονται τα αποτελέσματα της ηλεκτροφόρησης των δειγμάτων. Συνυπολογίζοντας τα αποτελέσματα της ηλεκτροφόρησης και της φωτομέτρησης, η συγκέντρωση των

δειγμάτων ρυθμίστηκε στα 50ng/μl (με αραιώση ή συμπύκνωση) και αυτά τα δείγματα, μαζί με άλλα που είχαν απομονωθεί και ελεγχθεί στο πλαίσιο άλλων εργασιών, εστάλησαν για γονοτύπηση σε SNPs σε όλο το γονιδίωμα.



Εικόνα 4. Ηλεκτροφόρηση γονιδιωματικού DNA σε πηκτή αγαρόζης των δειγμάτων #1-16.

3.3. Επιλογή των υποψηφίων γονιδίων *IL12B*, *IL23A*, *IL23R* και *IL12RB1*

Σκοπός της εργασίας είναι ο έλεγχος συσχέτισης υποψηφίων γονιδίων με την απόκριση στη θεραπεία με ιντερλευκίνη 23 χρησιμοποιώντας τα δεδομένα απόκρισης 19 ασθενών με ψωρίαση, που περιγράφονται στην παράγραφο 3.1. και τα αποτελέσματα γονοτύπησης αυτών των ασθενών για περίπου 730.000 SNPs (βλ. κεφ. 2.). Ειδικότερα, επιλέχθηκαν για την ανάλυση τα γονίδια *IL12B* και *IL23A* τα οποία κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες, που αποτελούν τις δύο υπομονάδες p40 και p19 της ιντερλευκίνης 23 αντίστοιχα, καθώς και τα γονίδια που κωδικοποιούν τον υποδοχέα της ιντερλευκίνης 23, τα *IL23R* και *IL12RB1*. Μετά τον έλεγχο ποιότητας των δεδομένων γονοτύπησης, την αφαίρεση των SNPs που είχαν MAF <10% και των SNPs που παρουσίαζαν υψηλή ανισορροπία σύνδεσης μεταξύ τους ($r^2 > 0,8$) παρέμειναν για την ανάλυση συσχέτισης 232.235 SNPs. Από αυτά επιλέχθηκαν μόνο τα SNPs που εντοπίζονται εντός των γονιδίων ή σε απόσταση έως 1Mb ανοδικά και καθοδικά, καθώς μπορούν να επηρεάσουν τα επίπεδα έκφρασης των γονιδίων αυτών. Στον Πίνακα 4 φαίνεται ο αντίστοιχος αριθμός των SNPs (2.173) μετά τα βήματα φιλτραρίσματος.

Πίνακας 4. Αριθμός SNPs που εντοπίζονται εντός ή πλησίον των υποψήφιων γονιδίων.

Γονίδιο	Θέση γονιδίου (GRCh38.p14)	SNPs εντός	SNPs πλησίον (± 1 Mb)
<i>IL12B</i>	Chr.5: 159,314,780-159,330,863 (reverse strand)	14	456
<i>IL23A</i>	Chr. 12: 56,334,174-56,340,410	2	595
<i>IL23R</i>	Chr. 1: 67,138,907-67,259,979	39	478
<i>IL12RB1</i>	Chr. 19: 18,058,995-18,098,944 (reverse strand)	18	571

Επιπλέον, επειδή δεν πραγματοποιήθηκε διόρθωση της τιμής p λόγω του μικρού μεγέθους του δείγματος, στον έλεγχο συσχέτισης χρησιμοποιήθηκε η τιμή $p < 0,01$ (και όχι $p < 0,05$ όπως συνηθίζεται), ως αυστηρότερο όριο. Από την ανάλυση βρέθηκαν 7 SNPs, που εμφανίζουν συσχέτιση με την απόκριση σε αναστολής IL-23 (Πίνακας 5).

Πίνακας 5. SNPs στα υποψήφια γονίδια που συσχετίστηκαν με την απόκριση στη θεραπεία

Locus	SNP	*RA AA	Location, HGVS Name	MAF R	MAF NR	MAF R+N R	MAF EUR	P	OR
u. IL23R	rs72933970	T/C	Chr. 1:67095407	0	0,25	0,08	0,051	8×10^{-3}	NA [^]
d. IL23R	rs72931025	T/C	Chr. 1:67304678	0	0,33	0,11	0,024	2×10^{-3}	NA
d. IL23R	rs12069919	A/G	Chr. 1:67618607	0,19	0,67	0,34	0,394	4×10^{-3}	8,4
d. IL12B	rs7703959	T/C	Chr. 5:159029450	0	0,25	0,08	0,064	8×10^{-3}	NA
d. IL23A	rs774047	T/C	Chr. 12:56422138	0,19	0,67	0,34	0,55	4×10^{-3}	8,4
d. IL23A	rs74891029	T/C	Chr. 12:56628296	0	0,25	0,08	0,027	8×10^{-3}	NA
u. IL12RB 1	rs380991	G/A	Chr. 19:18023787	0,27	0,75	0,42	0,529	5×10^{-3}	8,1

*RA: Reference allele, AA: Alternative allele, ^NA: not applicable, u: ανοδικά, d: καθοδικά

Ειδικότερα, εντοπίστηκαν τα παρακάτω αποτελέσματα συσχέτισης:

- Με τιμή $p=0,008$, συσχέτιση της απόκρισης με το SNP *rs72933970*, που βρίσκεται 43.419 bp ανοδικά του γονιδίου *IL23R*. Το σπάνιο αλληλόμορφο (C) συσχετίζεται με τη μη-απόκριση, καθώς στους αποκριθέντες η συχνότητα ήταν 0 και στους μη-αποκριθέντες (NR) ήταν 0,25. Η συχνότητα του σπάνιου αλληλόμορφου, MAF (Minor Allele Frequency) στο σύνολο των ασθενών ήταν 8%, που συνάδει με το αντίστοιχο ποσοστό 5,1% στους Ευρωπαίους στην βάση *Ensembl*.
- Με τιμή $p=0,002$, συσχέτιση της απόκρισης με το SNP *rs72931025*, που βρίσκεται 44.699 bp καθοδικά του γονιδίου *IL23R*. Το σπάνιο αλληλόμορφο (C) συσχετίζεται με τη μη-απόκριση, καθώς στους αποκριθέντες η συχνότητα ήταν 0 και στους μη αποκριθέντες ήταν 0,33. Η MAF στο σύνολο των ασθενών ήταν 11%, με το αντίστοιχο ποσοστό να είναι δύο φορές μεγαλύτερο (24%) στους Ευρωπαίους στη βάση *Ensembl*.
- Με τιμή $p=0,004$, συσχέτιση της απόκρισης με το SNP *rs12069919*, που βρίσκεται 358.628 bp καθοδικά του γονιδίου *IL23R*. Το σπάνιο αλληλόμορφο (G) συσχετίζεται με τη μη-απόκριση, με την συχνότητα MAF στους αποκριθέντες να είναι 0,19 και στους μη αποκριθέντες να είναι 0,67. Η MAF στο σύνολο των ασθενών ήταν 34%, που συνάδει με το αντίστοιχο ποσοστό στους Ευρωπαίους, 39,4%, στη βάση *Ensembl*.
- Με τιμή $p=0,008$, συσχέτιση της απόκρισης με το SNP *rs7703959*, που βρίσκεται 285.330 bp καθοδικά του γονιδίου *IL12B*. Το σπάνιο αλληλόμορφο (C) συσχετίζεται με την μη-απόκριση, με την συχνότητα MAF στους αποκριθέντες να είναι 0 και στους μη αποκριθέντες να είναι 0,25. Η MAF στο σύνολο των ασθενών ήταν 8%, αντίστοιχο με το ποσοστό των Ευρωπαίων στην βάση *Ensembl* (6,4%).
- Με τιμή $p=0,004$, συσχέτιση της απόκρισης με το SNP *rs774047*, που βρίσκεται 81.728 bp καθοδικά του γονιδίου *IL23A*. Το σπάνιο αλληλόμορφο (C) συσχετίζεται με την μη-απόκριση, με την συχνότητα MAF στους αποκριθέντες να είναι 0,19 και στους μη αποκριθέντες να είναι 0,67. Η MAF στο σύνολο των ασθενών ήταν 34%, σε αντίθεση με τη συχνότητα σε Ευρωπαίους (55%) σύμφωνα με τη βάση *Ensembl*.
- Με τιμή $p=0,008$, συσχέτιση της απόκρισης με το SNP *rs74891029*, που βρίσκεται 287.886 bp καθοδικά του γονιδίου *IL23A*. Το σπάνιο αλληλόμορφο (C) συσχετίζεται με την μη-απόκριση, με την συχνότητα MAF στους αποκριθέντες να είναι 0 και στους μη αποκριθέντες να είναι 0,25. Η MAF στο σύνολο των ασθενών ήταν 8%, με την αντίστοιχη MAF στους Ευρωπαίους να είναι 2,7% στη βάση *Ensembl*.
- Με τιμή $p=0,005$ στο SNP *rs380991*, που βρίσκεται 75.158 bp ανοδικά του γονιδίου *IL12RB1*. Το σπάνιο αλληλόμορφο συσχετίζεται με την μη-απόκριση, καθώς η συχνότητα MAF στους αποκριθέντες ήταν 0,27 και στους μη αποκριθέντες ήταν 0,75. Η MAF στο σύνολο των ασθενών ήταν 42%, με την συχνότητα των Ευρωπαίων στην βάση *Ensembl* να είναι 53%.

3.4. Διερεύνηση για eQTLs (expression quantitative trait loci)

Οι μελέτες συσχέτισης σε ολόκληρο το γονιδίωμα (GWAS), έχουν δείξει ότι η πλειοψηφία των γενετικών παραλλαγών εντοπίζονται σε μη-κωδικές περιοχές του γονιδιώματος, οι οποίες πιθανώς συμμετέχουν ρυθμιστικά στην έκφραση ενός γονιδίου ή βρίσκονται σε ανισορροπία σύνδεσης με μία αιτιώδη παραλλαγή, που αυτή συμμετέχει στην τροποποίηση της έκφρασης γονιδίων. Μία ένδειξη ότι μία παραλλαγή συνιστά και την αιτιώδη παραλλαγή είναι η διαπίστωση ότι κάποιο αλληλόμορφο της έχει συσχετιστεί με αλλαγή στα επίπεδα έκφρασης του γονιδίου ενδιαφέροντος. Έτσι, έγινε διερεύνηση της βάσης δεδομένων Ensembl για τα 7 SNPs που συσχετίστηκαν με την απόκριση των ασθενών στους βιολογικούς παράγοντες γκουσελκουμάμπη και ρισανκιζουμάμπη, για το αν συνιστούν eQTLs (expression Quantitative Trait Loci) σε διάφορα κύτταρα και ιστούς συναφείς με το νόσημα (κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος και δέρμα). Ειδικότερα, ένα eQTL είναι ένας γενετικός τόπος, ο οποίος συσχετίζεται με την μεταβολή έκφρασης ενός γονιδίου. Οι τυπικές αναλύσεις eQTL μελετούν την συσχέτιση αυτή σε μεγάλο πληθυσμιακό δείγμα και συνήθως σε περιοχές καθοδικά ή ανοδικά των γονιδίων, σε απόσταση έως 1Mb (cis) (Nica et al., 2013).

Τα δεδομένα που λήφθηκαν από την βάση Ensembl, παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.

Πίνακας 6: eQTLs που συσχετίζονται με την απόκριση στην γκουσελκουμάμπη και η ρισανκιζουμάμπη

Locus*	SNP	P (-log10)**	Effect Size	Tissue
u. IL23R	rs72933970	2,39	0,88	Th17_memory
		1,86	0,77	Treg_memory
d. IL23A	rs774047	1,49	0.13	Th1_memory
u. IL12RB1	rs380991	1,30	-0.08	Monocyte
		1,59	-0.089	Skin

*u: upstream (ανοδικά), d: downstream (καθοδικά)

** Η τιμή p της συσχέτισης ενός αλληλόμορφου με την αλλαγή στην έκφραση γονιδίου σημειώνεται στην βάση Ensembl ως -log10. Συνεπώς για να είναι η συσχέτιση στατιστικά σημαντική, δηλ. $p < 0,05$, θα πρέπει η τιμή -log10 να είναι μεγαλύτερη από 1,3.

Συγκεκριμένα:

- Το SNP *rs72933970* έχει συσχετιστεί με μεταβολή στα επίπεδα έκφρασης του γονιδίου *IL23R* στα βοηθητικά Th17 κύτταρα μνήμης και στα ρυθμιστικά T κύτταρα, τα οποία σχετίζονται με το μονοπάτι της φλεγμονής.
- Το SNP *rs774047* έχει συσχετιστεί με μεταβολή στα επίπεδα έκφρασης του γονιδίου *IL23A* στα βοηθητικά Th1 κύτταρα μνήμης.
- Τέλος, το SNP *rs380991* έχει συσχετιστεί με αλλαγή στα επίπεδα έκφρασης του γονιδίου *IL12RB1* στα μονοκύτταρα και το δέρμα.

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η έρευνα στην ψωρίαση έχει προσφέρει σημαντικές πληροφορίες για την παθογένεση και τους μηχανισμούς της νόσου, υποδεικνύοντας έναν συνδυασμό γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων που συμβάλουν σε αυτή. Αποτέλεσμα της γνώσης αυτής ήταν η ανάπτυξη καινοτόμων θεραπευτικών προσεγγίσεων με βιολογικούς παράγοντες και η εισαγωγή τους στην κλινική πράξη. Οι παράγοντες αυτοί διαθέτουν ασφαλές φαρμακολογικό προφίλ και αποτελεσματικότητα στην μείωση ή ακόμη και την εξάλειψη τόσο των ψωριασικών πλακών όσο και των συμπτωμάτων που τις συνοδεύουν. Επιλέγονται στην κλινική πράξη για την θεραπεία της μέτριας ως και της σοβαρής ψωρίασης με εξαιρετικά αποτελέσματα, ωστόσο παραμένει η ανάγκη αποσαφήνισης των λόγων για τους οποίους ορισμένοι ασθενείς δεν ανταποκρίνονται ή δεν ανταποκρίνονται το ίδιο καλά στην χορήγηση βιολογικών παραγόντων.

Με βάση αυτά τα δεδομένα, η παρούσα εργασία επιχειρεί την διερεύνηση των αιτιών για τις οποίες δεν ανταποκρίνονται όλοι οι ασθενείς το ίδιο θετικά στην χορήγηση αναστολέων IL-23 μέσω φαρμακογενετικής ανάλυσης στα υποψήφια γονίδια *IL23A*, *IL-12B*, *IL12RB1* και *IL23R*. Από τα 2.173 SNPs για τα οποία προέκυψαν δεδομένα γονοτύπησης, εντός των υποψήφιων γονιδίων και σε απόσταση έως 1Mb από αυτά, 7 SNPs συσχετίστηκαν με την απόκριση των ασθενών στην αγωγή (*rs72933970*, *rs72931025*, *rs12069919*, *rs7703959*, *rs774047*, *rs74891029*, *rs380991*). Τα παραπάνω SNPs ήταν αποτέλεσμα της ανάλυσης που περιεγράφηκε χωρίς να έχει γίνει διόρθωση της τιμής p , λόγω του μικρού δείγματος ασθενών. Για τον λόγο αυτό επιλέχθηκε το αυστηρότερο όριο τιμής $p < 0,01$. Επιπλέον, τρία από αυτά τα SNPs (*rs72933970*, *rs774047*, *rs380991*, βλ. Αποτελέσματα) βρέθηκε ότι συνιστούν eQTLs, καθώς η παρουσία του σπάνιου αλληλόμορφου τους συσχετίστηκε με αλλαγή στην έκφραση των γονιδίων *IL23R*, *IL23A*, *IL12RB1* αντίστοιχα, σε κύτταρα του ανοσοποιητικού και του δέρματος.

Συγκεκριμένα, όσον αφορά τα eQTLs, το SNP *rs72933970*, το οποίο βρίσκεται ανοδικά του γονιδίου *IL23R*, στην υπάρχουσα βιβλιογραφία έχει συσχετισθεί με αυξημένο κίνδυνο εκδήλωσης της ψωρίασης με $p = 1.23 \times 10^{-8}$, σε ανάλυση GWAS που διενεργήθηκε σε πληθυσμό Ασιατών (Zuo et al. 2015). Σχετικά με τα SNPs *rs774047*, *rs380991* δεν υπάρχει προηγούμενη βιβλιογραφία, που να αναφέρει κάποια συσχέτιση. Ομοίως, για τα SNPs *rs72931025*, *rs7703959* και *rs74891029* που δεν συνιστούν eQTLs, δεν υπάρχει αναφορά σε προηγούμενη βιβλιογραφία. Τέλος, το SNP *rs12069919*, το οποίο δεν είναι eQTL, δεν αναφέρεται σε υπάρχουσα βιβλιογραφία συσχετιζόμενο με κάποιο νόσημα, ωστόσο αποτελεί μέρος ενός διαγνωστικού kit, κατοχυρωμένου με δίπλωμα ευρεσιτεχνίας, το οποίο χρησιμοποιείται για την διάγνωση και τον χαρακτηρισμό της κοινής ποικίλης ανοσοανεπάρκειας (CVID) (αριθμός ευρεσιτεχνίας: US9109254B2).

Εκτός της παρούσας φαρμακογενετικής ανάλυσης, έχει πραγματοποιηθεί φαρμακογενετική ανάλυση από τους Loras et al. (2024) σε σύνολο 88 ασθενών που έλαβαν διάφορους βιολογικούς παράγοντες, οι οποίοι έπασχαν από μέτρια ως σοβαρή ψωρίαση, εκ των οποίων οι 14 έλαβαν γκουσελκουμάμπη ή ρισανκιζουμάμπη (13 και 1 ασθενείς αντίστοιχα). Το ιστορικό των ασθενών και η κλινική τους κατάσταση αξιολογήθηκε στους 3 και τους 12 μήνες από την έναρξη της θεραπείας. Οι ασθενείς ανάλογα με την ληφθείσα αγωγή χωρίστηκαν σε τέσσερις κατηγορίες, με την πρώτη

ομάδα ατόμων να λαμβάνει αγωγή με παράγοντα αντί-IL17 (σεκουκινουμάμπη ή ιξεκιζουμάμπη), η δεύτερη ομάδα αγωγή με παράγοντα αντί-IL23 (γκουσελκουμάμπη και ρισανκιζουμάμπη), η τρίτη ομάδα αγωγή με παράγοντα αντί-IL12/IL23 (ουστεκινουμάμπη) και η τέταρτη κατηγορία αγωγή με αναστολείς TNF-α (ινφλιξιμάμπη, ανταλινουμάμπη, ετανερσέπτη ή κερτολιζουμπάμπη).

Επιπρόσθετα, επιλέχθηκαν 21 SNPs για ανάλυση συσχέτισης με την απόκριση (Loras et al., 2024) τα οποία σχετίζονται με γονίδια που κωδικοποιούν μόρια μεταφορείς (*SLC12A8*, *PDE3A-SLCO1C1*), υποδοχείς (*TNFRSF1B*, *CD84*, *FCGR2A* και *FCGR3A*, *IL17RA*, *IL23R*, *TLR* γονίδια, *PGLYRP4*), κυτταροκίνες (*TNF*, *IL* γονίδια, *TNFAIP3*), άλλες σχετικές πρωτεΐνες (*LY96*, *TIRAP*, *FBXL19*, *ERAP1*) και γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες που έχουν συσχετιστεί με την παθογένεση της ψωρίασης (*CDKAL1*, *CARD14*, *PTTG1*, *MAP3K1*, *ZNF816A*, *GBP6*, *CTNNA2*, *HTR2A*, *CTLA4*, *TAP1*). Οι γενετικοί δείκτες που επιλέχθηκαν στην παρούσα εργασία είχαν σκοπό τον έλεγχο συσχέτισης όλων των SNPs στις περιοχές των γονιδίων που κωδικοποιούν α) την IL-23, η οποία αποτελεί φαρμακευτικό στόχο της γκουσελκουμάμπης ή της ρισανκιζουμάμπης, και β) του υποδοχέα της IL-23. Τα κοινά μελετώμενα γονίδια, είναι το γονίδιο *IL23R*, το οποίο κωδικοποιεί την σύνθεση της μίας εκ των δύο υπομονάδων του υποδοχέα της ιντερλευκίνης 23 και το *IL12B* το οποίο κωδικοποιεί την σύνθεση της μίας εκ των δύο υπομονάδων της IL-23, την p40 με την διαφορά ότι στην παρούσα εργασία ελέγχθηκαν όλα τα SNPs (2173) εντός ή πλησίον των επιλεγμένων γονιδίων.

Στην μελέτη των Loras et al., οι ασθενείς ομαδοποιήθηκαν ανάλογα με την αποτελεσματικότητα της κάθε θεραπείας, α) με βάση την μεταβολή του δείκτη PASI και β) με βάση την απόλυτη τιμή του. Όσον αφορά την μεταβολή του δείκτη PASI χαρακτηρίστηκαν ως μη-αποκριθέντες όσοι επέδειξαν ΔPASI50, ως αποκριθέντες με όριο την τιμή ΔPASI75 και ως υπέρ-αποκριθέντες όσοι έδειξαν απόκριση ΔPASI90, στους 3 και τους 12 μήνες. Τα ποσοστά της απόκρισης των ασθενών με αγωγή αντι-IL23 που συμμετείχαν ήταν τα εξής:

- Μη αποκριθέντες: 20% στους 3 μήνες και 12% στους 12 μήνες.
- Αποκριθέντες: 7% στους 3 μήνες και 6% στους 12 μήνες.
- Υπέρ-αποκριθέντες: 67% στους 3 μήνες και 82% στους 12 μήνες.

Όσον αφορά την ταξινόμηση με βάση την απόλυτη τιμή PASI οι ασθενείς κατηγοριοποιήθηκαν, α) με όριο PASI <3 και β) με όριο την τιμή PASI <1. Οι ασθενείς με αγωγή αντι-IL23 με τιμή PASI <3 ήταν 20% στους 3 μήνες και 33% στους 12 μήνες και με τιμή PASI <1 ήταν 60% στους 3 μήνες και 67% στους 12 μήνες.

Στην παρούσα ανάλυση με κριτήριο την επίτευξη ή όχι ΔPASI90 στους 4 μήνες από την πρώτη δόση, οι ασθενείς χαρακτηρίστηκαν ως αποκριθέντες ή μη αποκριθέντες, αντίστοιχα. Η επιλογή του ορίου ΔPASI90 καθίσταται δυνατή, καθώς σε αντίθεση με παλαιότερα φάρμακα, οι βιολογικοί παράγοντες παρέχουν πολύ υψηλά ποσοστά βελτίωσης του PASI και αυτά τα θετικά αποτελέσματα εμφανίζονται από τις πρώτες 16 εβδομάδες μετά την δόση εφόδου. Επομένως, σε συνδυασμό με το μικρό μέγεθος δείγματος, δεν υπάρχει ανάγκη περαιτέρω κατηγοριοποίησης των μη-αποκριθέντων της μελέτης μας, όπως γίνεται από τους Loras et al.

Μετά την στατιστική ανάλυση των Loras et al., με όριο την τιμή $p \leq 0,05$ και χωρίς διόρθωση, τα 3 από τα 21 SNPs που επιλέχθηκαν έδειξαν στατιστικά σημαντική

συσχέτιση με την απόκριση στην αγωγή με αντι-IL23 για τιμή PASI<1 στους 12 μήνες. Αυτά τα SNPs εντοπίζονται στα γονίδια *TLR2* (*rs11938228*) με τιμή $p=0,00418$, *TLR5* (*rs5744174*) με τιμή $p=0,00143$ και *ANKRD55* (*rs96844*) με $p=0,00338$. Στα κοινά μελετώμενα γονίδια δεν βρέθηκε συσχέτιση κάποιου SNP με την απόκριση σε βιολογικό παράγοντα αντί-IL23, είτε με βάση το κριτήριο ΔPASI είτε με βάση την απόλυτη τιμή PASI.

Επιπλέον, στην παρούσα έρευνα, η ανάλυση έγινε σε 19 άτομα και βρέθηκε ότι τα σπάνια αλληλόμορφα των SNPs *rs72933970*, *rs774047*, *rs380991* σχετίζονται με την μη- απόκριση των ασθενών στη γκουσελκουμάμπη ή την ρισανκιζουμάμπη με όριο τους 4 μήνες και τιμή ΔPASI90. Το γεγονός ότι αυτά τα SNPs συνιστούν eQTLs, όπως προαναφέρθηκε, ενισχύει την πιθανότητα αυτά να είναι και τα αιτιώδη της μη καλής απόκρισης στην αγωγή. Εναλλακτικά, άλλα SNPs που βρίσκονται σε υψηλή ανισορροπία σύνδεσης με αυτά μπορεί να είναι οι αιτιολογικοί παράγοντες.

Περαιτέρω στόχοι είναι να προστεθούν επιπλέον ασθενείς, στο σύνολο των 19 ασθενών που αναλύθηκαν, στους οποίους θα πραγματοποιηθεί γονοτύπηση. Η ύπαρξη eQTLs μεταξύ των SNPs που θα βρεθούν με στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ αποκριθέντων και μη-αποκριθέντων, καθώς και τα συμπεράσματα της ανάλυσης που θα προκύψουν, θα δημοσιευτούν. Η εύρεση αιτιωδών SNPs τα οποία επηρεάζουν την έκφραση γονιδίων, που εμπλέκονται στην απόκριση ή την μη-απόκριση στους βιολογικούς παράγοντες γκουσελκουμάμπη και ρισανκιζουμάμπη, είναι πολλά υποσχόμενη. Η δυνατότητα μιας εξατομικευμένης θεραπευτικής προσέγγισης για τους ασθενείς με ψωρίαση, θα δίνει τη δυνατότητα να επιλέγεται η κατάλληλη αγωγή, στην οποία ο ασθενής σύμφωνα με το γενετικό του προφίλ έχει τη μεγαλύτερη πιθανότητα να αποκριθεί.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Κλινικές δοκιμές

1. A Study to Assess the Efficacy of Risankizumab Compared to FUMADERM in Subjects with Moderate to Severe Plaque Psoriasis Who Are Naïve to and Candidates for Systemic Therapy, *ClinicalTrials.gov*. (n.d.-e). <https://clinicaltrials.gov/study/NCT03255382>
2. A Study to Assess Usability of Risankizumab Autoinjector Combination Product in Participants With Moderate to Severe Plaque Psoriasis *ClinicalTrials.gov*. (n.d.-d). <https://clinicaltrials.gov/study/NCT03875508>
3. An Efficacy and Safety of CNTO 1959 (Guselkumab) in Participants With Moderate to Severe Plaque-type Psoriasis *ClinicalTrials.gov*. (n.d.-b). <https://clinicaltrials.gov/study/NCT02325219>

Ερευνητικά άρθρα

1. Armstrong, A. W., Fitzgerald, T., McLean, R. R., Teeple, A., Uy, J. P., Olurinde, M., Rowland, K., Guo, L., Shan, Y., & Callis Duffin, K. (2023). Real-World Effectiveness of 9-12 Months of Guselkumab Therapy among Patients with Moderate-to-Severe Plaque Psoriasis in the CorEvitas Psoriasis Registry. *Dermatology and therapy*, 13(2), 629–640. <https://doi.org/10.1007/s13555-022-00879-8>
2. Blauvelt, A., Gordon, K. B., Lee, P., Bagel, J., Sofen, H., Lockshin, B., Soliman, A. M., Geng, Z., Zhan, T., Alperovich, G., & Stein Gold, L. (2022). Efficacy, safety, usability, and acceptability of risankizumab 150 mg formulation administered by prefilled syringe or by an autoinjector for moderate to severe plaque psoriasis. *The Journal of Dermatological Treatment*, 33(4), 2085–2093. <https://doi.org/10.1080/09546634.2021.1914812>
3. Chren M. M. (2012). The Skindex instruments to measure the effects of skin disease on quality of life. *Dermatologic clinics*, 30(2), 231–xiii. <https://doi.org/10.1016/j.det.2011.11.003>
4. Chularojanamontri, L., Griffiths, C. E., & Chalmers, R. J. (2013). The Simplified Psoriasis Index (SPI): a practical tool for assessing psoriasis. *The Journal of investigative dermatology*, 133(8), 1956–1962. <https://doi.org/10.1038/jid.2013.138>
5. Crowley, J. J., Langley, R. G., Gordon, K. B., Pinter, A., Ferris, L. K., Rubant, S., Photowala, H., Xue, Z., Wu, T., Zhan, T., Beeck, S., Shah, M., & Warren, R. B. (2022). Efficacy of Risankizumab versus Secukinumab in Patients with Moderate-to-Severe Psoriasis: Subgroup Analysis from the IMMerge Study. *Dermatology and therapy*, 12(2), 561–575. <https://doi.org/10.1007/s13555-021-00679-6>
6. Fanizza, J., D'Amico, F., Lusetti, F., Fasulo, E., Allocca, M., Furfaro, F., Zilli, A., Parigi, T. L., Radice, S., Peyrin-Biroulet, L., Danese, S., & Fiorino, G. (2023). The Role of IL-23 Inhibitors in Crohn's Disease. *Journal of clinical medicine*, 13(1), 224. <https://doi.org/10.3390/jcm13010224>
7. Ferris, L. K., Ott, E., Jiang, J., Hong, H. C., Li, S., Han, C., & Baran, W. (2020). Efficacy and safety of guselkumab, administered with a novel patient-controlled injector (One-Press), for moderate-to-severe psoriasis: results from the phase 3 ORION study. *The Journal of dermatological treatment*, 31(2), 152–159. <https://doi.org/10.1080/09546634.2019.1587145>
8. *Generalised pustular psoriasis. Generalised pustulosis | DermNet*. (n.d.). <https://dermnetnz.org/topics/generalised-pustular-psoriasis>
9. Laskowski, M., Schiöler, L., Wennberg, A. M., Torén, K., & Gustafsson, H. (2023). Translation and Validation of the Self-Assessment Psoriasis Area

- Severity Index. *Dermatology (Basel, Switzerland)*, 239(5), 794–801. <https://doi.org/10.1159/000530045>
10. Lebwohl, M. G., Soliman, A. M., Yang, H., Wang, J., Hagan, K., Padilla, B., & Pinter, A. (2022). Impact of Risankizumab on PASI90 and DLQI0/1 Duration in Moderate-to-Severe Psoriasis: A Post Hoc Analysis of Four Phase 3 Clinical Trials. *Dermatology and therapy*, 12(2), 407–418. <https://doi.org/10.1007/s13555-021-00660-3>
 11. Liang, Y., Sarkar, M. K., Tsoi, L. C., & Gudjonsson, J. E. (2017). Psoriasis: a mixed autoimmune and autoinflammatory disease. *Current opinion in immunology*, 49, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2017.07.007>
 12. Loras, A., Gil-Barrachina, M., Hernando, B., Perez-Pastor, G., Martinez-Domenech, A., Mahiques, L., Pitarch, G., Valcuende-Cavero, F., Ballester-Sanchez, R., Marques-Torrejon, M. A., & Martinez-Cadenas, C. (2024). Association between several immune response-related genes and the effectiveness of biological treatments in patients with moderate-to-severe psoriasis. *Experimental dermatology*, 33(1), e15003. <https://doi.org/10.1111/exd.15003>
 13. Manchanda, Y., De, A., Das, S., & Chakraborty, D. (2023). Disease Assessment in Psoriasis. *Indian journal of dermatology*, 68(3), 278–281. https://doi.org/10.4103/ijd.ijd_420_23
 14. McGovern, D., & Powrie, F. (2007). The IL23 axis plays a key role in the pathogenesis of IBD. *Gut*, 56(10), 1333–1336. <https://doi.org/10.1136/gut.2006.115402>
 15. Nica, A. C., & Dermitzakis, E. T. (2013). Expression quantitative trait loci: present and future. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 368(1620), 20120362. <https://doi.org/10.1098/rstb.2012.0362>
 16. Ogdie, A., Shin, D. B., Love, T. J., & Gelfand, J. M. (2022). Body surface area affected by psoriasis and the risk for psoriatic arthritis: a prospective population-based cohort study. *Rheumatology (Oxford, England)*, 61(5), 1877–1884. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/keab622>
 17. Pang, Y., D'Cunha, R., Winzenborg, I., Veldman, G. M., Pivorunas, V., & Wallace, K. (2024). Risankizumab: Mechanism of action, clinical and translational science. *Clinical and Translational Science*, 17(1). <https://doi.org/10.1111/cts.13706>
 18. Pang, Y., Khatri, A., Suleiman, A. A., & Othman, A. A. (2019). Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of risankizumab in psoriasis patients. *Clinical Pharmacokinetics*, 59(3), 311–326. <https://doi.org/10.1007/s40262-019-00842-5>
 19. Papp, K. A., de Vente, S., Zeng, J., Flack, M., Padilla, B., & Tying, S. K. (2021). Long-Term Safety and Efficacy of Risankizumab in Patients with Moderate-to-Severe Chronic Plaque Psoriasis: Results from a Phase 2 Open-Label Extension Trial. *Dermatology and therapy*, 11(2), 487–497. <https://doi.org/10.1007/s13555-021-00490-3>
 20. Reich, K., Armstrong, A. W., Langley, R. G., Flavin, S., Randazzo, B., Li, S., Hsu, M. C., Branigan, P., & Blauvelt, A. (2019). Guselkumab versus secukinumab for the treatment of moderate-to-severe psoriasis (ECLIPSE): results from a phase 3, randomised controlled trial. *Lancet (London, England)*, 394(10201), 831–839. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)31773-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)31773-8)
 21. Reich, K., Gordon, K. B., Strober, B. E., Armstrong, A. W., Miller, M., Shen, Y. K., You, Y., Han, C., Yang, Y. W., Foley, P., & Griffiths, C. E. M. (2021). Five-year maintenance of clinical response and health-related quality of life improvements in patients with moderate-to-severe psoriasis treated with

- guselkumab: results from VOYAGE 1 and VOYAGE 2. *The British journal of dermatology*, 185(6), 1146–1159. <https://doi.org/10.1111/bjd.20568>
22. Rendon, A., & Schäkel, K. (2019). Psoriasis Pathogenesis and Treatment. *International journal of molecular sciences*, 20(6), 1475. <https://doi.org/10.3390/ijms20061475>
 23. Ruggiero, A., Picone, V., Martora, F., Fabbrocini, G., & Megna, M. (2022). Guselkumab, Risankizumab, and Tildrakizumab in the Management of Psoriasis: A Review of the Real-World Evidence. *Clinical, cosmetic and investigational dermatology*, 15, 1649–1658. <https://doi.org/10.2147/CCID.S364640>
 24. Ruiz-Villaverde, R., Rodriguez-Fernandez-Freire, L., Armario-Hita, J., Pérez-Gil, A., & Galán-Gutiérrez, M. (2021). Guselkumab: Mid-term effectiveness, drug survival, and safety in real clinical practice. *Dermatologic Therapy*, 34(2). <https://doi.org/10.1111/dth.14798>
 25. Shellard, E. M., Rane, S. S., Eyre, S., & Warren, R. B. (2024). Functional Genomics and Insights into the Pathogenesis and Treatment of Psoriasis. *Biomolecules*, 14(5), 548. <https://doi.org/10.3390/biom14050548>
 26. Strober, B., Ferris, L. K., Duffin, K. C., Janak, J. C., Šíma, A., Eckmann, T., Patel, M. R., Photowala, H., Garg, V., & Armstrong, A. W. (2024). Real-world effectiveness of risankizumab in patients with moderate-to-severe psoriasis using the CorEvitas Psoriasis Registry. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 90(1), 82–90. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2023.08.097>
 27. Yamanaka, K., Yamamoto, O., & Honda, T. (2021). Pathophysiology of psoriasis: A review. *Journal of Dermatology*, 48(6), 722–731. <https://doi.org/10.1111/1346-8138.15913>
 28. Yao, Z., Hu, C., Zhu, Y., Xu, Z., Randazzo, B., Wasfi, Y., Chen, Y., Sharma, A., & Zhou, H. (2018). Population Pharmacokinetic Modeling of Guselkumab, a Human IgG1 λ Monoclonal Antibody Targeting IL-23, in Patients with Moderate to Severe Plaque Psoriasis. *Journal of Clinical Pharmacology*, 58(5), 613–627. <https://doi.org/10.1002/jcph.1063>
 29. Yiu, Z. Z., & Warren, R. B. (2017). The potential utility of tildrakizumab: an interleukin-23 inhibitor for the treatment of psoriasis. *Expert opinion on investigational drugs*, 26(2), 243–249. <https://doi.org/10.1080/13543784.2017.1274734>
 30. Yiu, Z. Z., & Warren, R. B. (2017). The potential utility of tildrakizumab: an interleukin-23 inhibitor for the treatment of psoriasis. *Expert opinion on investigational drugs*, 26(2), 243–249. <https://doi.org/10.1080/13543784.2017.1274734>
 31. Zuo, X., Sun, L., Yin, X., Gao, J., Sheng, Y., Xu, J., Zhang, J., He, C., Qiu, Y., Wen, G., Tian, H., Zheng, X., Liu, S., Wang, W., Li, W., Cheng, Y., Liu, L., Chang, Y., Wang, Z., Li, Z., ... Zhang, X. (2015). Whole-exome SNP array identifies 15 new susceptibility loci for psoriasis. *Nature communications*, 6, 6793. <https://doi.org/10.1038/ncomms7793>

Ιστοσελίδες (προέλευση εικόνων)

- Mayo Clinic (2022) *Psoriasis*. 8 October 2022 [Online] Available from: <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/psoriasis/symptoms-causes/syc-20355840>.
- Psoriasis - Symptoms and causes - Mayo Clinic. (2024, April 6). Mayo Clinic. <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/psoriasis/symptoms-causes/syc-20355840>
- Psoriasis: symptoms, treatment, images and more - DermNet. (n.d.). <https://dermnetnz.org/topics/psoriasis>