

## STRESZCZENIE

Choroba Leśniowskiego-Crohna (ChL-C) to schorzenie o podłożu autoimmunologicznym, którego etiologia nie została dokładnie poznana. Dotychczas najskuteczniejszą formą terapii okazały się przeciwciała monoklonalne skierowane przeciw czynnikowi martwicy nowotworów (TNF $\alpha$ ). Pomimo wysokiej skuteczności, leczenie biologiczne nie jest wolne od wad. Szczególny problem to pierwotny brak odpowiedzi na terapię, występujący nawet u 40% pacjentów, a patomechanizm tego zjawiska nie został zbadany. Poznanie przyczyny występowania pierwotnego braku odpowiedzi na przeciwciała monoklonalne jest kluczowe dla identyfikacji markerów farmakogenetycznych, które umożliwią wykluczenie z terapii pacjentów nieodpowiadających. Opracowanie predykcyjnych testów odpowiedzi na leczenie anti-TNF jest wysoce oczekiwane i z pewnością przyczyni się do jego indywidualizacji. W niniejszej pracy podjęto próbę identyfikacji wariantów genetycznych, które mogą wpływać na proces odpowiedzi na leczenie biologiczne anti-TNF. W badaniach wykorzystano materiał od 107 pacjentów z ChL-C, z których 12 nie odpowiedziało na terapię anti-TNF. W oparciu o technologię NGS, zaprojektowano panel farmakogenetyczny, obejmujący 23 geny zaangażowane w działanie TNF $\alpha$ . Dla 5 analizowanych genów uzyskano istotne statystycznie różnice w częstości występowania wariantów genetycznych pomiędzy grupą pacjentów odpowiadających i nieodpowiadających: *FCGR3A*, *TNFRSF1B*, *FAS*, *IL1B*, *IL1R*. Powyższe geny kodują białka zaangażowane w proces apoptozy. Różne warianty genetyczne mogą wpływać na brak odpowiedzi na leczenie anti-TNF ponieważ jednym z potencjalnych mechanizmów tego zjawiska jest oporność limfocytów T na działanie sygnałów apoptotycznych. Wśród wykrytych zmian zidentyfikowano polimorfizmy w regionach 3'-UTR i sekwencji eksonowej, co sugeruje ich funkcjonalne znaczenie. Następnie porównano poziom ekspresji wybranych genów w błonie śluzowej jelita pomiędzy grupą kontrolną, pacjentami odpowiadającymi i nieodpowiadającymi na terapię. Stwierdzono istotne statystycznie różnice w ekspresji mRNA w grupie pacjentów nieodpowiadających, w porównaniu do pacjentów odpowiadających na leczenie i grupy kontrolnej. Na tej podstawie założono, że źródłem braku odpowiedzi na leczenie może być różnica w podatności limfocytów T na apoptozę wywołaną przeciwciałami anti-TNF. Badając wpływ przeciwciał anti-TNF na frakcję limfocytów T, nie stwierdzono wystąpienia istotnej różnicy pomiędzy grupą pacjentów nieodpowiadających, a grupą pacjentów odpowiadających i grupą kontrolną. Zaobserwowano natomiast schematyczny wpływ przeciwciał na ekspresję genów *FAS* i *TNFRSF1B* zaangażowanych w apoptozę i ekspresję genu *FCGR3A*, kodującego

receptor kluczowy dla mechanizmu cytotoksyczności zależnej od przeciwciał. W grupie kontrolnej przeciwciała anty-TNF wywołały wzrost ekspresji wspomnianych genów, u pacjentów odpowiadających na terapię ekspresja pozostała na stałym poziomie, natomiast u pacjentów nieodpowiadających nastąpił istotny statystycznie spadek ekspresji, w stosunku do komórek kontrolnych, nie poddanych działaniu przeciwciał anty-TNF.

Uzyskane w rozprawie doktorskiej wyniki nie dostarczają jednoznacznej odpowiedzi na pytanie, czy uwzględnione w analizie geny, ich aktywność i jej zaburzenia wpływają na skuteczność leczenia biologicznego u pacjentów pierwotnie nieodpowiadających na terapię. Wskazują natomiast wartościowy kierunek badań i przyczyniają się do dokładniejszego opisanie mechanizmu działania przeciwciał anty-TNF, a także identyfikacji markerów predykcyjnych, pożądanych w praktyce klinicznej i mających udział w rozwoju medycyny personalizowanej.