

3. Gould, S. J. (1990) *Wonderful life: the Burgess Shale and the nature of history*. New York, London: WW Norton & Company
4. Hartfield, M. & Glémin, S. (2014) Hitchhiking of deleterious alleles and the cost of adaptation in partially selfing species. *Genetics*, 196, 281–293.
5. Joshi, A. (1997) Adaptive evolution and the footprints of history. *Current Science*, 72, 944–949.
6. Korona, R. (1997) Powtarzalność ewolucji mikroorganizmów w prostych układach eksperymentalnych. *Wiadomości ekologiczne*, 2, 97–116
7. Kvitek, D.J. & Sherlock, G. (2013) Whole genome, whole population sequencing reveals that loss of signaling networks is the major adaptive strategy in a constant environment. *PLoS genetics*, 9, p.e1003972.
8. Le Gac, M. i in. (2013) Evolutionary history and genetic parallelism affect correlated responses to evolution. *Molecular Ecology*, 22, 3292–3303.
9. Long, A. et al. (2015) Elucidating the molecular architecture of adaptation via evolve and resequence experiments. *Nature Reviews Genetics*, 16, 567–582.
10. Losos, J.B. et al., (1998) Contingency and Determinism in Replicated Adaptive Radiations of Island Lizards. *Science*, 279, 2115–2118.
11. Nguyen, A.H. et al. (2012) Multiple genetic pathways to similar fitness limits during viral adaptation to a new host. *Evolution; international journal of organic evolution*, 66, 363–374.
12. Pelosi, L. i in., 2006. Parallel changes in global protein profiles during long-term experimental evolution in *Escherichia coli*. *Genetics*, 173(4), ss.1851–69.
13. Pigeon, D., Chouinard, A. & Bernatchez, L. (1997) Multiple Modes of Speciation Involved in the Parallel Evolution of Sympatric Lake Whitefish (*Coregonus clupeaformis*, Salmonidae). *Evolution*, 51, 196–205.
14. Segrè, A. V, Murray, A.W. & Leu, J.-Y. (2006) High-resolution mutation mapping reveals parallel experimental evolution in yeast. *PLoS biology*, 4, p.e256.
15. Travisano, M. et al., (1995) Experimental Tests of the Roles of Adaptation, Chance, and History in Evolution. *Science*, 267, 87–90.
16. Wang, L. et al. (2010) Divergence involving global regulatory gene mutations in an *Escherichia coli* population evolving under phosphate limitation. *Genome biology and evolution*, 2, 478–87.
17. Wong, A., Rodrigue, N. & Kassen, R. (2012) Genomics of adaptation during experimental evolution of the opportunistic pathogen *Pseudomonas aeruginosa*. *PLoS genetics*, 8, p.e1002928.

Weronika Marta Banot jest doktorantką w Instytucie Nauk o Środowisku UJ. E-mail: weronika.banot@doctoral.uj.edu.pl

DNA MOCZANOWA JAKO PRZYKŁAD CHOROBY AUTOZAPALNEJ

Nikola Witkowska, Magdalena Chadzińska (Kraków)

Streszczenie

Dna moczanowa jest obecnie coraz częściej występującą chorobą, która dotyka szczególnie mężczyzn. W tym przewlekłym schorzeniu u pacjenta stwierdza się wysokie stężenie kwasu moczowego w surowicy krwi, a sole tego kwasu odkładają się w stawach w postaci kryształków powodując ucisk i dotkliwy ból. Dna moczanowa jest chorobą autozapalną, ponieważ nagromadzenie w ognisku zapalnym kryształów moczanu sodu, zostaje rozpoznane przez obecne w tkance leukocyty. Powoduje to inicjację nasilonej reakcji zapalnej, napływ do ogniska zapalenia neutrofili i makrofagów. Ważnym elementem aktywacji tych komórek jest tworzenie inflamasomu czyli multimerycznego kompleksu białkowego aktywującego kaspazę 1. Enzym ten zaangażowany jest w przekształcanie nieaktywnej formy prozapalnej interleukiny-1 β do jej formy aktywnej. Cytokina ta łącząc się ze swoim receptorem IL-1R aktywuje kolejne etapy zapalenia. Dlatego też nowoczesne terapie dna moczanowej opierają się lub winny się opierać na hamowaniu aktywności inflamasomu i/lub IL-1 β .

Abstract

Gout is increasingly occurring disease that especially affects men. Manifestation of this chronic disease is typically high concentration of uric acid in the patient blood serum and accumulation of crystals of uric acid salts in joints what causes pressure and severe pain. The gout is classified as an autoinflammatory disease, as the accumulation of the sodium urate crystals in the inflammatory foci is recognized by tissue leukocytes. This triggers an increased inflammatory response and migration of neutrophils and macrophages to the site of inflammation. The crucial element of the activation of those cells is formation of inflammasome – the multi-protein complex activating caspase I. This enzyme is involved in converting inactive form of pro-inflammatory interleukin -1 β into its active form. Upon binding to its receptor (IL-1R) IL-1 β activates next stages of inflammation. Therefore, modern therapies of gout are or should be based on the inhibition of the activation of inflammasome and/or IL-1 β .

Dna moczanowa – typy, objawy, przyczyny choroby

Dna moczanowa (łac. *diathesis urica*, skaza moczanowa) jest przewlekłą chorobą metaboliczną zaliczaną do krystalopatii. U chorego w stawach i innych narządach (np. nerkach) odkładają się kryształki moczanu sodu.

Gromadząc się w stawach kryształy te powodują rozwój reakcji zapalnej, ucisk oraz ból. Dolegliwości pojawiają się nagle, przeważnie nad ranem, a ból jest tak dotkliwy, że budzi chorego ze snu. Chory może mieć podwyższoną temperaturę, uczucie ogólnego „rozbiecia” i odczuwać dreszcze. Skóra na zaatakowanym stawie jest zaczerwieniona, nadmiernie ociepłona. Ponadto pojawia się obrzęk, a funkcje stawu są znacznie upośledzone [2]. A zatem podczas ataku dny obserwuje się wszystkie symptomy zapalenia, opisane jeszcze przez Celcjusza przed naszą erą: zaczerwienienie (*rubor*), obrzęk (*tumor*), lokalne podniesienie temperatury (*calor*), ból (*dolor*) i nieco później Galena: czasowa utrata funkcji (*functio laesa*).

Chorobę rozpoznaje się poprzez badanie płynu stawowego i wykrycie w nim obecności kryształów moczanu sodu. Diagnozę można również postawić poprzez badanie krwi, gdzie w surowicy oznacza się stężenie kwasu moczowego. Za prawidłowe uznaje się we krwi stężenie kwasu moczowego w granicach 0,15 do 0,45 mmol/l (2,5–8,0 mg/dl), natomiast stężenia wyższe diagnozuje się jako hiperurykemię, co jest wskazaniem do dalszej diagnostyki w kierunku dny moczanowej

Dna moczanowa była kiedyś uważana za chorobę elit. Cierpieli na nią między innymi angielscy monarchowie, np. król Henryk VIII i królowa Wiktoria, a także Izaak Newton i Leonardo da Vinci. Obecnie, z uwagi na podniesienie standardów życia, diagnozowana jest we wszystkich środowiskach, nie tylko

u ludzi zamożnych. Rośnie też liczba zachorowań. W opublikowanym w 2015 roku pierwszym raporcie Instytutu Ochrony Zdrowia dotyczącym zachorowań na dnę moczanową w naszym kraju szacuje się, że choruje na nią 1 % Polaków. Jednak specjaliści twierdzą, że chorych może być znacznie więcej, gdyż często choroba jest źle diagnozowana.

Choroba dotyka osoby dorosłe, głównie mężczyzn w wieku około 40 lat. U kobiet dnę diagnozuje się zdecydowanie rzadziej i chorują zazwyczaj panie w okresie pomenopauzalnym. Dna często współistnieje z innymi chorobami metabolicznymi, takimi jak otyłość, cukrzyca typu II, nadciśnienie tętnicze i hiperlipoproteinemia [9].

Najczęstszym objawem klinicznym dny moczanowej jest ostre zapalenie stawu. Zmiany dotyczą zazwyczaj jednego stawu, choć z czasem może wystąpić postać wielostawowa. Za najbardziej klasyczny objaw dny moczanowej uważa się ostro przebiegające zapalenie pojedynczego stawu śródstopno-paliczkowego pierwszego, zwane podagrą. Jeśli zmiany chorobowe dotyczą stawu kolanowego, nazywane są gonagrą, natomiast stany zapalne stawów rąk to chiroagra [2].

W początkowym okresie choroby napady dny pojawiają się raz w roku lub nawet co dwa lata. Z biegiem czasu dolegliwości występują częściej, zwłaszcza jeśli chory nie poddaje się leczeniu. U osób konsekwentnie nieleczących się choroba przechodzi w stan przewlekły i charakteryzuje się wówczas tzw. guzkami dnawymi (moczanowymi) oraz destrukcją kostną i stawową [9].

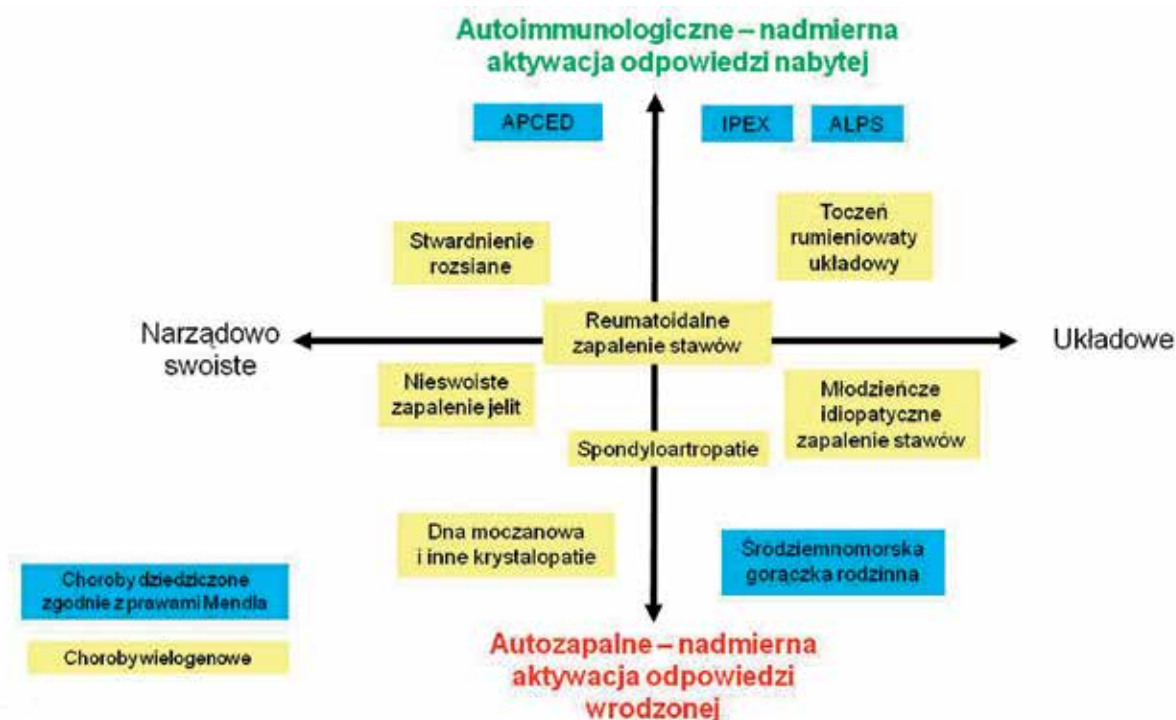
Jak już wspomniano, przyczyną choroby jest odkładanie kryształów moczanu sodu w stawach związane z wysokim stężeniem kwasu moczowego we krwi pacjentów. Warto w tym miejscu przypomnieć, że kwas moczowy jest końcowym produktem przemiany puryn, a puryny są związkami heterocyklicznymi

składającymi się z cząsteczek pirymidyny i imidazolu ($C_5H_4N_4$). Pochodnymi puryn są zasady azotowe wchodzące w skład kwasów nukleinowych: adenina i guanina. Związki te wchodzą także w skład koenzymów (FAD, NAD, NADP). Źródłem puryn są endogenne przemiany metaboliczne (obróć wewnętrzny) oraz te pozyskane z pokarmem w wyniku trawienia kwasów nukleinowych. Zawarte w pokarmie kwasy nukleinowe są degradowane w jelitach pod wpływem nukleaz soku trzustkowego, skutkując uwolnieniem adeniny i guaniny, skąd mogą być wchłonięte do krwiobiegu lub metabolizowane w nabłonku jelitowym do kwasu moczowego i wydalone z kałem. Większość zasad purynowych zawartych w pokarmach jest wchłania-

i mały cząłkkształtne nie posiadają tego enzymu bowiem na skutek mutacji gen kodujący urokinazę stał się tzw. pseudogenem, czyli genem który utracił swoją funkcjonalność [5].

Choroby autozapalne

Nieprawidłowe funkcjonowanie układu odpornościowego często powoduje choroby autoimmunologiczne (związane z nadmierną aktywacją odporności nabytej i obecnością autoreaktywnych, rozpoznających własne białka, limfocytów) lub choroby autozapalne (związane z nadmierną aktywacją odporności wrodzonej, w której najważniejszą rolę odgrywają



Ryc. 1. Schematyczny podział chorób na autoimmunologiczne i autozapalne. IPEX - sprzężony z chromosomem X zespół dysregulacji immunologicznej, poliendokrynopatii i enteropatii, ALPS – zespół autoimmunologicznej limfoproliferacji, APCED – autoimmunologiczny zespół niedoczynności wielogruzołowej typu 1.

na, a następnie metabolizowana do kwasu moczowego, głównie w wątrobie. Tylko niewielka część wykorzystywana jest do syntezy kwasów nukleinowych. U ludzi końcowym produktem przemian puryn (endogennych i egzogennych) jest kwas moczowy. A na jego stężenie we krwi wpływają takie czynniki, jak ilość spożywanych z pokarmem zasad purynowych, biosynteza endogennych puryn i klirens (zdolność filtracji) kwasu moczowego w nerkach [9].

Co ciekawe, w przypadku większości zwierząt kwas moczowy jest dalej rozkładany do alantoiny, mocznika lub amoniaku i wydalany z organizmu. Kluczowym dla tych przemian enzymem jest urykaza (oksydaza moczanova). Zaskakująco człowiek

fagocyty, czyli neutrofile i makrofagi) (Ryc. 1). Tak jak inne krystalopatie, dna moczanova zaliczana jest właśnie do chorób autozapalnych, czyli takich, w których mamy do czynienia z nawracającymi objawami zapalenia, wówczas gdy w organizmie nie występuje zakażenie. Przykładami chorób autozapalnych są także śródziemnomorska rodzinna gorączka (FMF) i rodzinna zimna pokrzywka (FCAS, zespół objawów zapalnych po ekspozycji na zimno).

Przykładowo FMF pojawia się u ludności zamieszkującej region Morza Śródziemnego i charakteryzuje się nawrotowymi epizodami gorączek, którym z reguły towarzyszą objawy ze strony przewodu pokarmowego i płuc lub zapalenie stawów. FMF jest

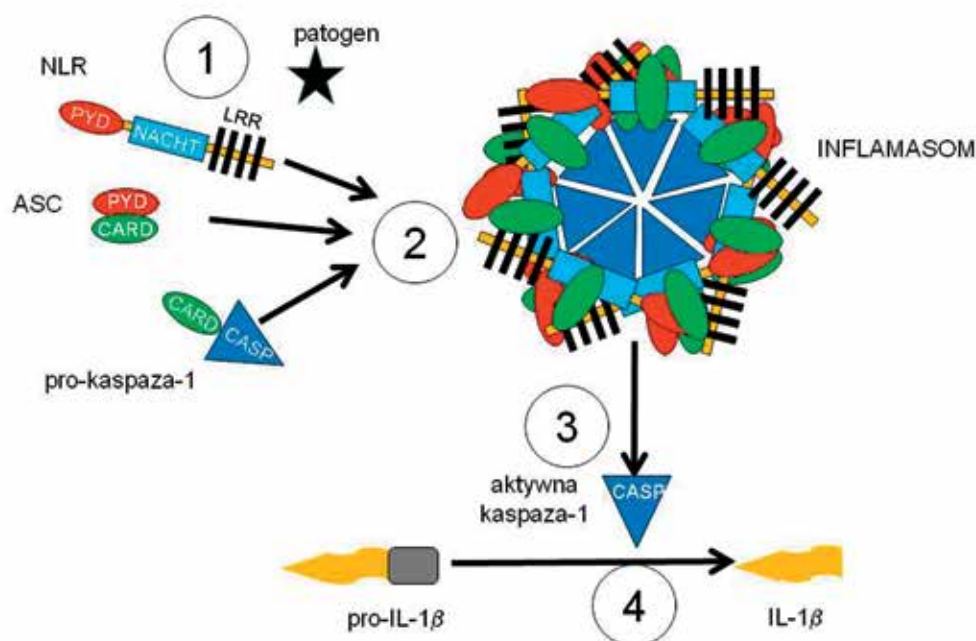
uwarunkowa genetycznie i związana z mutacją genu kodującego białko o nazwie piryna [8]. Białko to wiąże specyficznie inne białka zawierające tzw. domeny pirynowe, zaangażowane w tworzenie inflamasomu.

Inflamasom

Inflamasom jest wewnątrzkomórkowym multimericznie złożonym kompleksem białkowym. Po raz pierwszy pojęcie to zostało wprowadzone w 2002 roku przez Tschoppa [6].

Inflamasom składa się z tzw. receptorów rozpoznających wzorce molekularne związane z patogenami (PRR, ang. *pattern recognition receptor*), należących do rodziny białek podobnych do NOD (NLR, ang. *NOD-like receptor*), białek adaptorowych i enzymów z rodziny kaspaz. Białka, które tworzą inflamasom, są ze sobą połączone poprzez podobne domeny, które tworzą kompleksy siedmiu lub więcej takich samych części białka (Ryc. 2) [3].

apeck-like protein). Interakcja NLR i ASC zachodzi za pośrednictwem homologicznych domen PYD obecnych w obydwu tych białkach. Z kolei ASC, za pośrednictwem domeny CARD wiąże homologiczną domenę CARD pro-kaspazy 1, co powoduje powstanie aktywnej formy tego enzymu (kaspaza 1). Pod wpływem aktywnej kaspazy-1 od nieaktywnej pro-IL-1 β odcinana jest prodomena i uwalniana jest aktywna interleukina 1 β (Ryc. 2) [4]. Pobudza ona następnie ekspresję innych mediatorów zapalenia, co powoduje napływ w to miejsce wysiękowych leukocytów i rozwój pełnoobjawowego stanu zapalnego (ryc. 3). W wielu wypadkach aktywacja inflamasomu prowadzi do śmierci komórki tzw. pyroptozy. Ten rodzaj śmierci jest zależny od kaspazy-1. Pod jej wpływem dochodzi do zmian w strukturze komórki, które powodują jej pęcznienie a następnie rozerwanie błon komórkowych. Charakterystyczny dla pyroptozy jest towarzyszący stan zapalny [10].

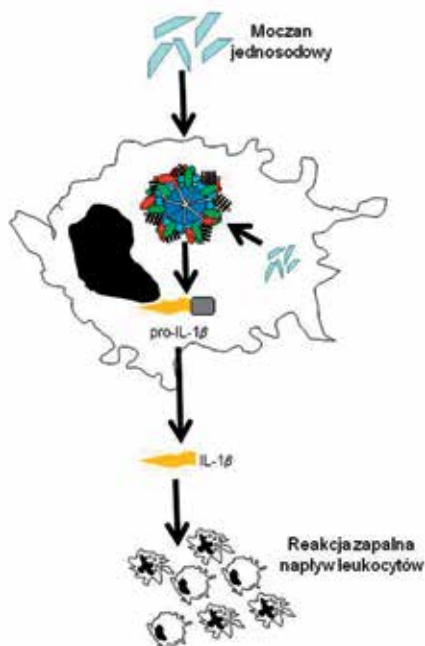


Ryc. 2. Schemat przedstawiający powstawanie inflamasomu i w konsekwencji aktywację interleukiny-1 β (IL-1 β). NLR – receptor NOD-podobny, składający się z bogatej w leucynę domeny LRR rozpoznającej patogen, domeny NACHT i odpowiedzialnej za łączenie NLR z białkiem adaptorowym ASC domeny PYD. CARD – domena odpowiedzialna za łączenie ASC z prokaspazą-1, CASP – kaspaza 1.

Proces tworzenia się inflamasomu składa się z kilku etapów. Na początku rozpoznanie patogenów przez zewnątrzkomórkowe receptory PRR pobudza ekspresję receptorów NLR, ale także nieaktywnych części cytokin pro-zapalnych, z których najważniejsza w tym wypadku jest pro-interleukina IL-1 β [10]. Następnie aktywacja NLR prowadzi do wiązania części adaptorowej ASC (ang. *apoptosis-associated*

speck-like protein). Inflamasom bierze udział także w rozwoju choroby autozapalnej, bowiem wchodzące w jego skład NLR aktywują się po kontakcie z kryształami moczanu jednosodowego [7]. Tak jak w przypadku innych chorób autozapalnych, nadmierna aktywacja inflamasomu powoduje wydzielanie dużych ilości aktywnej IL-1 β , która po połączeniu się ze swoim receptorem pobudza ekspresję innych czynników prozapalnych.

Następstwem tego jest napływ do miejsca zapalenia neutrofili. W przypadku, gdy wyżej opisane zmiany utrzymują się ciągle, mamy do czynienia z przewlekłą dną, z zapaleniem błon maziowych, charakteryzującą się częstymi nawrotami lub nieustępującymi rzutami choroby [7].



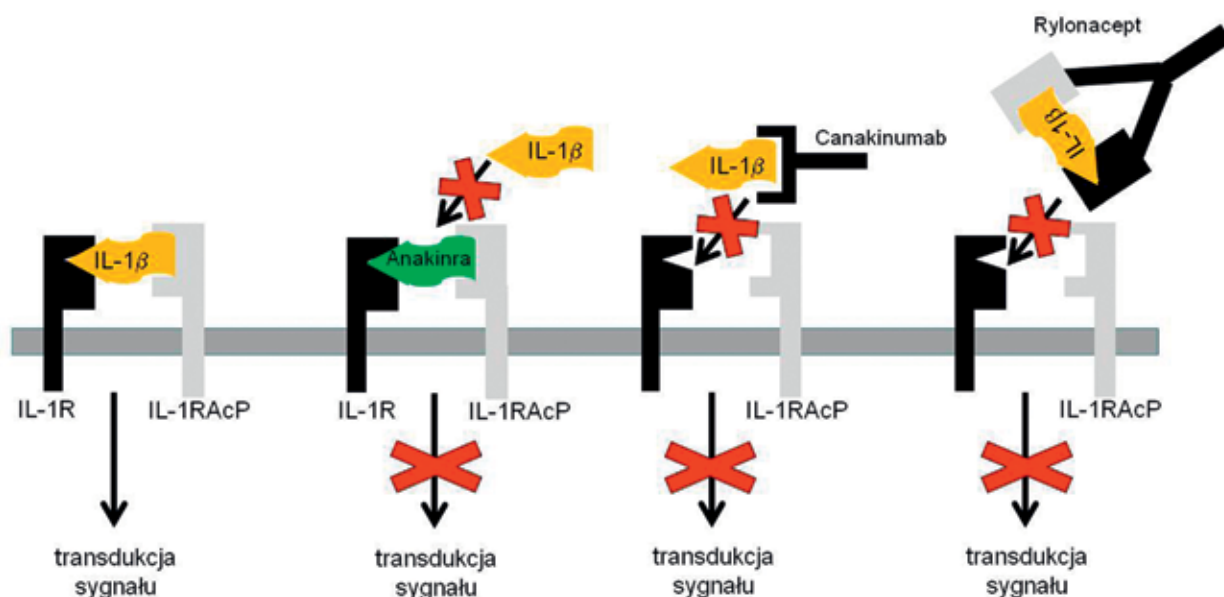
Ryc. 3. Schemat przedstawiający wpływ kryształów moczanu jednosodowego na aktywację inflamasomu i w konsekwencji aktywację interleukiny-1β (IL-1β).

Terapie i próby nowych terapii w dnie moczanowej

Leczenie dny jest zadaniem problematycznym, terapia powinna bowiem przyczyniać się do zmniejszenia bólu i stanu zapalnego, obniżenia stężenia kwasu moczowego, ale także powinna obejmować leczenie chorób współistniejących. Do tej pory większość terapii polega tylko na objawowym leczeniu dny, a w procesie tym możemy wyróżnić leczenie niefarmakologiczne, które zazwyczaj jest stosowane w stanach bezobjawowej hiperurykემii. Takie leczenie obejmuje zmianę w diecie pacjenta, która powinna być uboga w puryny pochodzenia zwierzęcego oraz ograniczenie spożywania alkoholu, szczególnie piwa. Bardzo ważna jest również aktywność fizyczna w celu obniżenia ciężaru ciała, dlatego też chorym zaleca się uprawianie sportów rekreacyjnych.

Terapia ostrego napadu dny jest związana z leczeniem farmakologicznym, w którym zazwyczaj podaje się niesteroidowe leki przeciwzapalne, a w przypadku przeciwwskazań do takiej terapii proponuje się dostawowe podanie glikokortykoidów. Jako trzecią ścieżkę postępowania rekomenduje się podanie kolchicyny, która jest niezwykle skuteczna w przypadku ostrego ataku choroby, ale niestety źle tolerowana przy dłuższym stosowaniu, przede wszystkim z uwagi na efekty uboczne w postaci zaburzeń ze strony układu pokarmowego [1].

Jedną z innowacyjnych metod leczenia dny moczanowej jest zastosowanie terapii, która ma na celu zahamowanie działania IL-1β. W tym przypadku



Ryc. 4. Schemat przedstawiający mechanizm receptorowego działania anakinry, canakinumabu i rylonceptu. IL-1b - interleukina-1b, IL-1R – receptor dla IL-1b, IL-1RAcP - pomocnicze białko receptora IL-1b.

stosuje się najczęściej lek immunosupresyjny o nazwie anakinra, będący antagonistą receptorów wiążących IL-1. Anakinra poprzez zablokowanie receptorów IL-1R nie dopuszcza do ich związania się z IL-1 β , a przez to wyhamowuje kaskadę czynników prozapalnych i obniża natężenie reakcji zapalnej (Ryc. 4). Stwierdzono, że już po trzech dniach od podania anakinry u 90 % badanych pacjentów nastąpiło całkowite wyciszenie reakcji zapalnej.

Innym lekiem hamującym działanie IL-1 β jest ryloncept. Jest to białko powstałe w wyniku połączenia (fuzji) zewnątrzkomórkowej części receptora dla interleukiny-1 (IL-1R) i pomocniczego białka receptora IL-1 β (IL-1RAcP), połączonych z przeciwciałem (Ryc. 4). Ryloncept jest swoistego rodzaju pułapką wiążącą IL-1 i uniemożliwiającą jej połączenie z receptorem na powierzchni komórki i przez to blokującą jej aktywność. Obecnie prowadzi się także badania dotyczące zastosowania w leczeniu dny moczanowej przeciwciał monoklonalnych wiążących IL-1 β , o nazwie canakinumab. Mechanizm ich działania jest zbliżony do działania rylanoceptu, bowiem wiązanie IL-1 β z przeciwciałem uniemożliwia jej wiązanie się do receptora na powierzchni komórki (Ryc. 4).

Podsumowanie

Dna moczanowa jest chorobą wywoływaną przez odkładające się kryształy moczanu sodu. Do ich rozpoznania zachodzi za pośrednictwem receptorów NLR, co w konsekwencji prowadzi do powstania kompleksu białkowego, tzw. inflamasomu. Wchodząca w skład inflamasomu kaspaza-1 aktywuje prozapalną cytokinę – IL-1 β , co powoduje dalszy rozwój reakcji zapalnej. Odkrycie zaangażowania inflamasomu w rozwój dny pozwoliło na zakwalifikowanie tej choroby do grupy chorób autozapalnych, ale też stworzyło nadzieję na wprowadzenie do leczenia nowych leków, których działanie opiera się bądź na hamowaniu aktywności inflamasomu bądź uniemożliwieniu wiązania się aktywnej IL-1 β z jej receptorem.

Niniejszy artykuł oparty jest na pracy licencjackiej Pani Nikoli Witkowskiej, przygotowanej pod kierunkiem dr hab. Magdaleny Chadzińskiej w Zakładzie Immunologii Ewolucyjnej, Instytutu Zoologii i Badań Biomedycznych Uniwersytetu Jagiellońskiego.

Bibliografia:

1. Bolanowski J., Wrzosek Z., 2007: Choroby reumatyczne, Wydawnictwo AWF, Wrocław.
2. Domagała W., Chosia M., Urańska E., 2010: Dna moczanowa – zapalenie moczanowe stawów. W: Podstawy patologii (red. Plewa A.). Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, s. 614.
3. Hoffman H.M., Broderick L., 2016: The role of the inflammasome in patients with autoinflammatory diseases. *J Allergy Clin Immunol.* 138: 3–14.
4. Ichinohe T., Lee H.K., Ogura Y., Flavell R., Iwasaki A., 2009: Inflammasome recognition of influenza virus is essential for adaptive immune responses. *J Exp Med.* 206: 79–87.
5. Kratzer J.T., Lanasa M.A., Murphy M.N., Cicerchi C., Graves C.L., Tipton P.A., Ortlund E.A., Johnson R.J., Gaucher E.A., 2014: Evolutionary history and metabolic insights of ancient mammalian uricases. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 111: 3763–8.
6. Martinon F., 2010: Mechanisms of uric acid crystal-mediated autoinflammation. *Immunol Rev.* 233: 218–32.
7. Neogi T., 2011: Gout. *N Engl J Med.* 364: 443–52.
8. Sag E., Bilginer Y., Ozen S. 2017: Autoinflammatory diseases with periodic fevers. *Curr Rheumatol Rep.* 19: 41.
9. Samborski W., Brzosko M., 2011: Dna moczanowa i inne choroby wywołane przez kryształy. W: Reumatologia praktyczna (red. Brzosko M., Fliciński J., Prajs K.), Wolters Kluwer Polska, Warszawa.
10. Żeromski J., Kaczmarek M., Samara H., Dworacki G., Kowala-Piaskowska A., Mozer-Lisewska I., Mechanizmy molekularne obrony ustroju w chorobach wirusowych. *Post Biol Kom.* 42: 765–779.