

**UNIVERZITA KARLOVA**  
**Lékařská fakulta v Hradci Králové**

**Psoriáza a její komorbidity. Vzájemný vztah nemoci a procesu stárnutí.**

**Pavel Borský**

**Autoreferát disertační práce**  
**Doktorský studijní program: Hygiena, preventivní lékařství**

**Hradec Králové**

**2022**

Disertační práce byla vypracována v rámci prezenčního studia doktorského studijního programu Hygiena, preventivní lékařství na Ústavu preventivního lékařství Lékařské fakulty v Hradci Králové.

Autor: MUDr. Pavel Borský, Ústav preventivního lékařství

Školitel: prof. Ing. Zdeněk Fiala, CSc., Ústav preventivního lékařství

Školitel konzultant: prof. MUDr. Lenka Borská, Ph.D., Ústav preventivního lékařství

Oponenti: prof. MUDr. Dana Müllerová, Ph.D., Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Plzni, Alej Svobody 1655/76, 323 00 Plzeň 1  
Doc. MUDr. Pavel Dlouhý, Ph.D., Univerzita Karlova, 3. Lékařská fakulta, Ruská 87, 100 00 Praha 10

Obhajoba se bude konat před Komisí pro obhajoby OR Hygiena, preventivní lékařství dne 14.12.2022 v Hradci Králové od 10 hod.

Tato práce vznikla za podpory grantu Univerzity Karlovy v Praze, Lékařské fakulty v Hradci Králové PROGRES Q40/09, Q40-10 a Q40-11 a SVV-260543/2020.

S disertační prací je možno se seznámit na studijním oddělení děkanátu Lékařské fakulty v Hradci Králové, Univerzity Karlovy, Šimkova 870, 500 03 Hradec Králové (tel. 495 816 134).

.....  
*prof. Ing. Zdeněk Fiala, CSc.*

Předseda komise pro obhajoby disertačních prací  
v doktorském studijním programu Hygiena, preventivní lékařství  
Garant studijního programu

## Obsah

Souhrn.....	4
Summary.....	5
Úvod do problematiky.....	6
Cíle disertační práce.....	7
Materiál a metodika.....	8
Výsledky.....	11
Diskuse.....	18
Závěry.....	22
Použitá literatura.....	25
Přehled publikační činnosti autora.....	28

## 1 Souhrn

Psoriasis vulgaris (psoriáza) je autoimunitní onemocnění, které postihuje především kůži. Stárnutí je proces postupného snižování schopností a funkčních kapacit organismu. Osoby s psoriázou se dožívají nižšího věku a mají zvýšenou pravděpodobnost rozvoje asociovaných onemocnění (komorbidit). Možná souvislost mezi dysfunkčním chronickým zánětem vyvolaným procesem stárnutí a procesem autoimunitního onemocnění (psoriázy) nebyla dosud blíže objasněna. Cílem disertační práce bylo (1) posoudit vhodnost (použitelnost) vybraných ukazatelů procesu stárnutí pro modelový systém onemocnění psoriázou a jejími komorbiditami a (2) s použitím vhodných ukazatelů procesu stárnutí provést analýzu vztahů mezi psoriázou, stárnutím a vznikem komorbidit.

Studie se zúčastnilo 132 osob s psoriázou a 167 náhodně vybraných zdravých osob (kontrol). Jako ukazatele stárnutí ze skupiny změněné mezibuněčné komunikace byly vybrány alarminy (HMGB1, IL-33, S100A7, S100A12), IL-17 a CRP, jejichž hladiny byly u pacientů významně zvýšené; endocan významně snížený; VEGF nesignifikantní. Pro hodnocení genomové nestability byla vybrána úroveň oxidačního poškození DNA/RNA, která byla významně vyšší u pacientů. K posouzení epigenetických změn byla užitá úroveň globální methylace (nebyly nalezeny významné rozdíly) a metoda „*epigenetic clock*“, která ukázala významný rozdíl mezi podskupinou žen s psoriázou a zdravými kontrolami. Měření průměrné délky telomer užitá k popisu zkracování telomer odhalilo významně delší průměrné telomery.

Hladiny alarminů byly modelovým systémem onemocnění významně ovlivňovány a lze je pro daný systém považovat za vhodné indikátory stárnutí. Hladina VEGF významně ovlivňována nebyla. Hladiny endocanu a CRP byly významně ovlivňovány, nicméně, oba ukazatele jsou ovlivňovány též faktory životního prostředí a stylu a jejich využití jako ukazatelů stárnutí považujeme za limitované. Metodu *epigenetic clock* považujeme za vhodnější ukazatel stárnutí než stanovení globální methylace. Hladiny oxidačního poškození RNA/DNA byly významně ovlivňovány a s přihlédnutím k faktorům životního stylu je lze považovat za vhodné. Měření délky telomer vykázalo nestandardní nálezy, které prozatím neumožňují objektivní zhodnocení této analýzy jako ukazatele procesu stárnutí.

Analýza vztahů mezi psoriázou, stárnutím a vznikem komorbidit prokázala, že u pacientů s psoriázou dochází k významným změnám parametrů souvisejících s procesem stárnutí. Mezi nejvýznamnější výsledky řadíme nález vyššího epigenetického (biologického věku) u žen s psoriázou. Prokázali jsme, že psoriáza kvalitativně ovlivňuje proces stárnutí a významně zvyšuje vznik a rozvoj komorbidit. Všechny uvedené interpretace a závěry jsou zatíženy odpovídající mírou nejistot.

## **2 Summary. Psoriasis and its comorbidities. Mutual relationship of the disease and the process of aging.**

Psoriasis vulgaris (psoriasis) is an autoimmune disease that primarily affects the skin. Aging is a process of gradual decline in the body's abilities and functional capacities. People with psoriasis live to a younger age and are more likely to develop associated diseases (comorbidities). The possible link between dysfunctional chronic inflammation induced by the aging process and the process of autoimmune disease (psoriasis) has not yet been further elucidated. The aims of this dissertation were (1) to assess the suitability (applicability) of selected indicators of the aging process for a model system of psoriasis and its comorbidities and (2) to analyze the relationship between psoriasis, aging, and the development of comorbidities using appropriate indicators of the aging process.

A total of 132 persons with psoriasis and 167 randomly selected healthy subjects participated in the study. Indicators of altered intercellular communication: alarmins (HMGB1, IL-33, S100A7, S100A12), IL-17, and CRP were significantly increased; endocan significantly decreased; and VEGF was not significant. Genomic instability: the level of oxidative DNA/RNA damage was found to be significantly higher in patients. Epigenetic changes: global methylation level was non-significant and epigenetic clock method showed a significant difference when comparing a subgroup of female patients to female controls. Telomere attrition: Mean telomere length used revealed significantly longer mean telomeres.

Alarmin levels were significantly influenced by the disease model system and can be considered suitable indicators of aging for that system. VEGF levels were not significantly affected. Endocan and CRP levels were significantly affected; however, both parameters are also influenced by environmental and lifestyle factors and their use as indicators of aging is considered limited. We consider the epigenetic clock method to be a more appropriate indicator of aging than the determination of global methylation. Levels of oxidative damage to RNA/DNA were significantly affected and can be considered appropriate considering lifestyle factors. Measurement of telomere length showed non-standard findings that do not yet allow an objective evaluation of this analysis as an indicator of the aging process.

Analysis of the relationship between psoriasis, aging and the development of comorbidities showed that psoriasis patients have significant changes in parameters related to the aging process. Among the most significant results are the findings of higher epigenetic (biological age) in women with psoriasis. We have shown that psoriasis qualitatively affects the aging process and significantly increases the occurrence and development of comorbidities. All interpretations and conclusions are burdened with a corresponding degree of uncertainty.

### 3 Úvod do problematiky

Psoriasis vulgaris (psoriáza) je autoimunitní onemocnění, které postihuje především kůži. Patogeneze psoriázy zahrnuje kombinaci genetických a epigenetických modifikací s nezanedbatelným vlivem faktorů prostředí. Nemoc je charakterizována papuloskvamózními lézemi s hyperproliferaací keratinocytů, angiogenezí a dysregulací normální imunitní odpovědi, která vede k chronickému zánětu. Za ústřední faktor patogenese psoriázy je považována nadměrná aktivace částí adaptivního imunitního systému. Závažnější formy psoriázy bývají asociovány s dalšími onemocněními (komorbiditami). Jedná se o metabolická a kardiovaskulární onemocnění, psoriatickou artritidu, Crohnovu chorobu a psychické/psychiatrické poruchy či uveitida. Mnohé z uvedených komorbidit vykazují významnou souvislost s věkem (biologickým procesem stárnutí člověka) (1-5).

Stárnutí je proces postupného snižování schopností a funkčních kapacit organismu. Jedná se o univerzální děj se značným stupněm variability, který je charakteristický pro všechny vyšší živočichy. Mezi teoriemi popisujícími stárnutí dominuje v současné době teorie akumulace poškození, která integruje dosud známé mechanismy stárnutí. Teorie se opírá o skutečnost, že při patofyziologických procesech dochází v lidském těle k nežádoucím změnám, které lze chápat jako poškození. Vlivem průběžné akumulace těchto poškození dochází následně k deterioraci celého systému. tkáně (6-8). Tento nový pohled na příčiny stárnutí dal vzniknout jednotnému názoru na klíčové změny, odehrávající se v jeho průběhu. Změny pak byly přehledně shrnuty v publikaci „*The Hallmarks of Aging*“, která rozděluje znaky stárnutí na devět vzájemně propojených typů, u nichž bylo prokázáno, že ve větší či menší míře ovlivňují délku života pokusných subjektů. Mezi znaky stárnutí patří změněná mezibuněčná komunikace, epigenetické změny, genomová nestabilita, zkracování telomer, porucha homeostázy proteinů, narušené vnímání dostupnosti živin, mitochondriální dysfunkce, buněčná senescence, vyčerpání kmenových buněk (9). V mojí disertační práci jsem se věnoval zejména čtyřem z devíti znaků stárnutí (změněné mezibuněčné komunikaci, epigenetickým změnám, genomové nestabilitě a zkracování telomer).

Změny v mezibuněčné komunikaci jsou během stárnutí patrné na úrovni autokrinní, parakrinní, endokrinní, neuroendokrinní i neuronální. Průvodním jevem stárnutí je zánět (*inflammaging*), který je důsledkem kombinace celé řady faktorů. Jedná se o akumulaci poškození ve tkáních, snížení schopnosti organismu efektivně se zbavovat patogenů (nefunkčních a poškozených tělních struktur), zvýšení tvorby prozánětlivých působků senescentními buňkami a buňkami imunitního systému a snížení autofagie (9, 10).

Stárnutí vede k významným změnám organizace chromatinu i DNA. Dochází k ovlivnění methylace DNA, snížení množství heterochromatinu, ke ztrátě a remodelaci nukleozomů a ke změnám na histonech. Methylace DNA je ve stáří celkově snížena, nicméně některé oblasti DNA mohou být i hypermethylovány (cytosin-fosfát-guaninové ostrůvky; CpG) (11).

Vyšší míra poškození DNA zvyšuje pravděpodobnost časného úmrtí (12). V průběhu života jedince je jeho komplex genetických informací ovlivňován řadou faktorů (chemických, fyzikálních a biologických), čímž dochází ke kumulaci defektů DNA. Se zvyšujícím se počtem defektů buňka stárne a roste riziko její smrti a/nebo maligní transformace (13, 14)

Dostatečně dlouhé koncové části chromozomů (telomery) jsou jednou ze základních podmínek pro úspěšné buněčné dělení. Při mitotickém dělení se však telomery zkracují a po dosažení určité kritické délky dojde k zástavě procesu dělení (maximální počet dělení buněk je nazýván Hayflickův limit) (15-17).

Kalendářní věk je přesně definován časovým intervalem mezi narozením a smrtí. Délka a kvalita života každého jedince je přitom modifikována řadou ovlivnitelných a neovlivnitelných faktorů stárnutí/onemocnění (18-21). Studium ukazatelů stárnutí (a biologického věku) si klade za cíl zpřesnění predikce vnímavosti osob ke vzniku a rozvoji onemocnění, k závažnosti jeho průběhu a k pravděpodobnosti výskytu komplikací či smrti. Jinými slovy, aktivity v této oblasti jsou zaměřeny na zpřesnění predikce délky a kvality života jedince a zpřesnění postupů v oblastech primární, sekundární a terciární prevence (15, 22, 23). Chronologický věk je neovlivnitelný, nicméně poslední poznatky naznačují, že biologický věk je proměnnou, kterou je možné ovlivňovat. Z toho vyplývá význam změny paradigmatu lékařského myšlení ve smyslu přijetí biologického věku jako ovlivnitelného rizikového faktoru vzniku a progresu nemoci (18-21).

#### **4 Cíle disertační práce**

##### **STÁVAJÍCÍ STAV:**

Osoby s psoriázou se dožívají nižšího věku a mají zvýšenou pravděpodobnost rozvoje asociovaných onemocnění (komorbidit). Možné souvislosti mezi dysfunkčním chronickým zánětem vyvolaným procesem stárnutí (*inflammaging*) a procesem autoimunitního onemocnění (psoriázy) nebyly dosud blíže objasněny.

## CÍLE:

1. Posoudit vhodnost (použitelnost) vybraných ukazatelů procesu stárnutí pro modelový systém onemocnění psoriázou a jejími komorbiditami.
2. Použít vhodné ukazatele procesu stárnutí pro analýzu vztahů mezi psoriázou, stárnutím a vznikem komorbidit.

## HYPOTÉZA:

Níže uvedené vybrané ukazatele jsou vhodné pro charakteristiku procesu stárnutí a k odhadům biologického věku u modelového systému onemocnění psoriázou a jejími komorbiditami. Psoriáza a její komorbidity všechny vybrané ukazatele stárnutí významně ovlivňují. *Vybrané (posuzované) ukazatele: Hladiny HMGB1, IL-33, S100A7, S100A12, IL-17, VEGF a endocanu, CRP, globální methylace DNA, detailní methylace DNA (epigenetic clock), míra oxidačního poškození DNA/RNA a délka telomer.*

## 5 Materiál a metodika

Odběry vzorků plné krve byly prováděny v letech 2016 až 2020. Celkově byla odebrána krev od 132 osob s psoriázou (pacienti) a 167 náhodně vybraných zdravých osob srovnatelného věku, pohlaví a životního stylu (kontroly). Faktory životního stylu (s důrazem na kouření) byly zjišťovány formou dotazníku. Ve skupině pacientů bylo 72 mužů a 60 žen, ve skupině kontrol 85 mužů a 82 žen.

Byly provedeny tři nezávislé studie, na základě kterých jsme posuzovali vhodnost (použitelnost) vybraných ukazatelů úrovně procesu stárnutí na modelovém systému onemocnění psoriázou a jejími komorbiditami. Sledované ukazatele byly vybrány ze skupiny jednoduchých molekulárních ukazatelů stárnutí a ze skupiny složených ukazatelů stárnutí. Pro hodnocení změněné mezibuněčné komunikace byly vybrány parametry HMGB1, IL-33, S100A7, S100A12, endocan, VEGF, IL-17 a CRP. Pro hodnocení genomové nestability byla vybrána úroveň oxidačního poškození DNA/RNA a ke kvantifikaci epigenetických změn úroveň globální methylace a metoda *epigenetic clock*. Jako klasický znak stárnutí byla vybrána míra zkracování telomer (měřením jejich průměrné délky).



**První studie** byla zaměřena na hodnocení vlivu psoriázy a komorbidit na hladiny ukazatelů zánětu ze skupiny alarminů (HMGB1, IL-33, S100A7, S100A12). Studie se zúčastnilo 63 pacientů (34 mužů, 29 žen) a 95 kontrol (49 mužů a 46 žen).

**Druhá studie** byla zaměřena 1) na hodnocení vlivu psoriázy a jejích komorbidit na hladiny ukazatelů zánětu IL-17, VEGF, endocanu a CRP a 2) na analýzu vztahu mezi epigenetickým a kalendářním věkem pacientů s psoriázou a komorbiditami (epigenetic clock; počítačové vyhodnocení methylace více než 500 genových lokusů DNA souvisejících s věkem). Studie se zúčastnilo 28 pacientů (17 mužů a 11 žen) a 42 kontrol (21 mužů a 21 žen).

**Třetí studie** byla zaměřena na hodnocení vlivu psoriázy a jejích komorbidit 1) na hladiny globální methylace DNA, 2) na hladiny oxidačního poškození DNA/RNA a 3) na změny v délce telomer. Studie se zúčastnilo 41 pacientů (21 mužů a 20 žen) a 30 kontrol (15 mužů a 15 žen).

V případě parametrů stanovovaných ze séra byly vzorky periferní krve z kubitální žíly odebrány pomocí zkumavek Vacutainer (Becton Dickinson). Poté bylo izolováno krevní sérum (odstředěním po dobu 10 minut při 1300 g) a vzorky séra byly až do analýzy zmrazeny (-70 °C). Bylo zabráněno opakovaným cyklům rozmrazování a zmrazování.

Sérové hladiny parametrů (HMGB1, IL-33, S100A7, S100A12, Endocanu a IL-17) byli stanoveny metodou ELISA pomocí komerčních kitů určených k měření příslušného ukazatele. Sérová hladina CRP byla stanovena pomocí imuno-nefelometrie. K měření úrovně oxidačního poškození nukleových kyselin (poškození DNA/RNA) ze séra byla použita sada EIA. Poškození bylo vyhodnoceno jako suma tří oxidovaných guaninových struktur v séru. Konkrétně se jednalo o 8-hydroxy-2-deoxyguanosin uvolněný z DNA, 8-hydroxyguanosin uvolněný z RNA a 8-hydroxyguanin uvolněný z DNA nebo RNA.

Pro účely stanovení úrovně methylace DNA metodou „*epigenetic clock*” byly vzorky žilní krve odebírány pomocí zkumavek Vacutainer Becton Dickinson (ošetřené EDTA). Vzorky byly až do analýzy zmrazeny (-70 °C) a bylo zabráněno opakovaným cyklům rozmrazování a zmrazování. Do doby analýzy byly vzorky chráněny činidlem DNA/RNA Shield™ od společnosti Zymo Research Corp. (CA, USA, kat. č. R1100). Vzorky DNA byly přečištěny z plné krve pomocí soupravy Quick-DNA™ Miniprep Plus (Zymo Research Corp., CA, kat. č. D4068). Všechny vzorky prošly kontrolou kvality provedenou přístrojem Nanodrop. Bisulfitová konverze byla provedena pomocí soupravy EZ DNA Methylation-Lightning™ (Zymo Research Corp., CA, kat. č. D5030) podle standardního protokolu. Vzorky byly poté

obohaceny pro sekvenování > 500 genových lokusů souvisejících s věkem. Hodnoty methylace DNA vzorků plné krve byly získány ze sekvenáčnických dat a použity k posouzení stáří DNA podle patentovaného prediktoru DNAge® společnosti Zymo Research.

Pro měření úrovně globální methylace DNA byla DNA extrahována ze vzorků žilní krve ošetřené EDTA podle pokynů výrobce (QIAamp Blood Mini Kit, Germany). Pro analýzu globální methylace DNA bylo použito 100 ng DNA. Hladina 5-metylcytosinu (5-mC) byla stanovena ELISA metodou pomocí soupravy 5-mC DNA ELISA Kit (Zymo Research Corporation, CA, USA) podle pokynů výrobce.

Po extrakci DNA dle výše uvedeného postupu byla délka telomer stanovována setem Absolute Human Telomere Length Quantification qPCR Assay Kit (ScienCell, USA). Stanovení bylo založeno na přímém měření průměrné délky telomer pomocí technologie PCR (Rotor-Gene 6000, Corbett Research, Austrálie). Podle pokynů výrobce byla získaná data normalizována na referenční vzorek lidské genomové DNA (byl dodán v setu). Výsledky byly vyjádřeny jako průměrná délka telomer (kilobáze, kb) na chromozom.

Všechna data byla statisticky zpracována pomocí programu MedCalc verze 19.0.5 (MedCalc software, Belgie) nebo v programovém prostředí 3.6.1 “nortest”, “compute.es”, a “ggplot2”. nebo v programu Statistica verze 13.5.0.17 (TIBCO Software Inc., CA, USA). Na základě D'Agostinova-Pearsonova testu nebo Anderson-Darlingova nebo Shapiro-Wilkova testu pro rozdělení dat byl použit buď parametrický, nebo neparametrický test pro zajištění správné citlivosti testu. Souvislosti mezi jednotlivými parametry byly hodnoceny pomocí Pearsonova korelačního testu a Spearmanova korelačního testu pořadí. Meziskupinové rozdíly byly hodnoceny pomocí Studentova t-testu nebo Mannova-Whitneyho testu. Rozdíly byly považovány za statisticky významné, pokud byla hladina pravděpodobnosti (p) nižší než hladina alfa 0,05.

Determinace tíže onemocnění byla provedena pomocí standardizované klinické evaluace, tzv. PASI (*Psoriasis area severity index*), které se vypočítává na základě objektivně stanovitelného erytému, deskvamace pokožky a kožní infiltrace (24).

Hodnocení přítomnosti metabolického syndromu (MetS) bylo u sledovaných osob provedeno v souladu s kritérii Národního cholesterolového vzdělávacího programu pro dospělé (NCE/ATPIII). Diagnózu MetS lze stanovit, pokud jsou přítomna tři z následujících pěti uvedených kritérií: zvýšený obvod pasu nebo abdominální obezita ( $\geq 102$  cm u mužů a  $\geq 88$  cm u žen), glukózová intolerance prezentovaná vyšší glykemií nalačno ( $\geq 5,6$  mmol/l) nebo

známou léčbou diabetu, zvýšená hladina triglyceridů (TAG;  $\geq 1,7$  mmol/l), snížená hladina lipoproteinů o vysoké hustotě (HDL cholesterol) a zvýšený krevní tlak (systolický krevní tlak  $\geq 130$  mmHg, a/nebo diastolický krevní tlak  $\geq 85$  mmHg) (13).

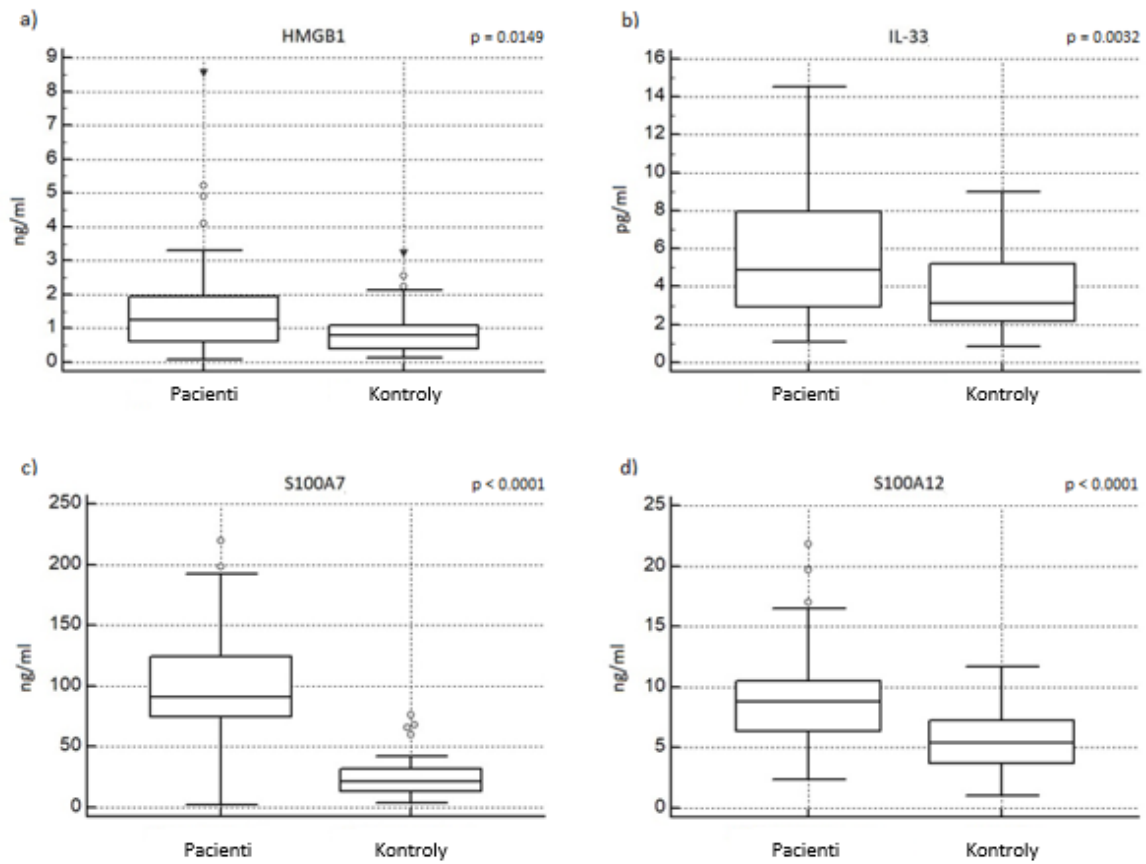
Index tělesné hmotnosti (BMI), který se vypočítá jako hmotnost v kilogramech dělená výškou v metrech čtverečních ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ), je ukazatelem relativní hmotnosti a má přímou souvislost se zdravotními riziky a úmrtností (25).

## 6 Výsledky

### 6.1 Výsledky první studie (hladiny alarminů)

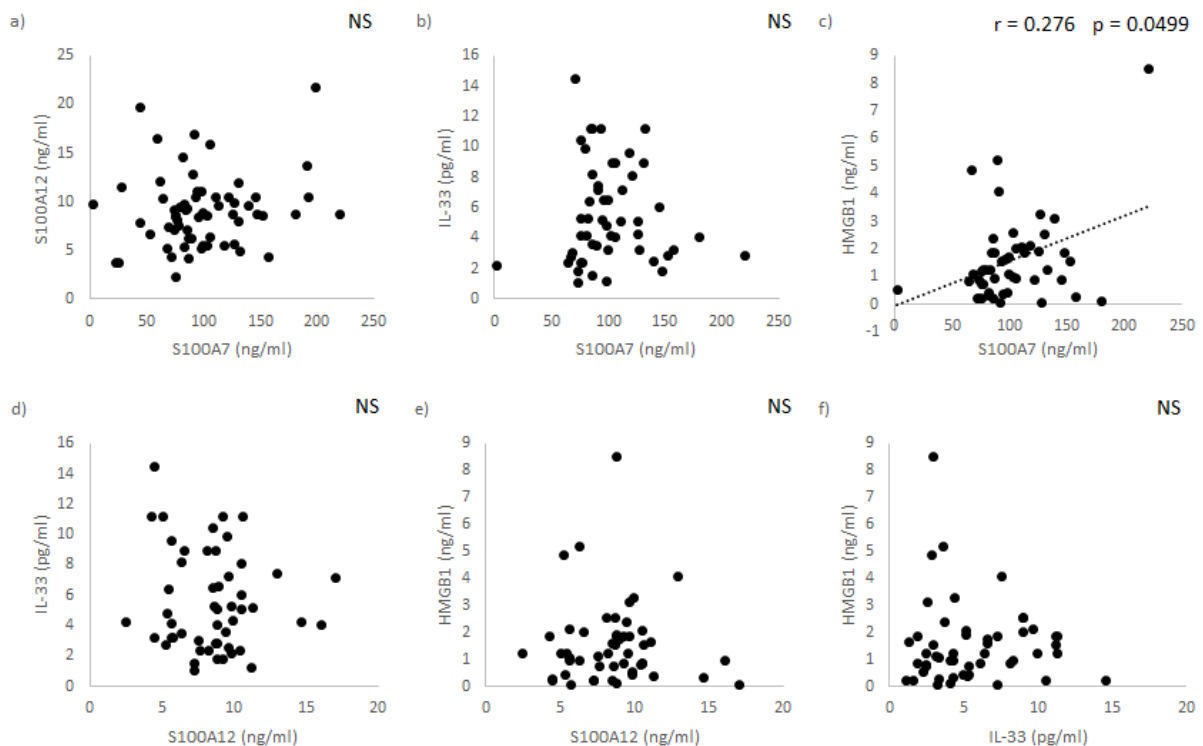
Sérové hladiny všech sledovaných alarminů byly ve skupině pacientů významně zvýšené. Hladina HMGB1 byla významně vyšší ve skupině pacientů (ng/ml; pacienti, N = 51, medián 1,250, mezikvartilové rozpětí 0,608-1,942; kontroly, N = 35, medián 0,810, mezikvartilové rozpětí 0,390-1,092;  $p < 0,05$ ; obrázek 1(a)). Hladina IL-33 byla významně vyšší ve skupině pacientů (pg/ml; pacienti, N = 51, medián 4,890, interkvartilové rozpětí 2,945-7,962; kontroly, N = 35, medián 3,110, interkvartilové rozpětí 2,158-5,200;  $p < 0,01$ ; obrázek 1(b)). Hladina S100A7 byla významně vyšší ve skupině pacientů (ng/ml; pacienti, N = 63, medián 91,0, interkvartilové rozpětí 75,0-124,0; kontroly, N = 60; medián 21,7, interkvartilové rozpětí 13,0-31,7;  $p < 0,0001$ ; obrázek 1(c)). Hladina S100A12 byla významně vyšší ve skupině pacientů (ng/ml; pacienti, N = 63, medián 8,80, mezikvartilové rozpětí 6,35-10,50; kontroly, N = 60; medián: 5,40; mezikvartilové rozpětí 3,70-7,25;  $p < 0,0001$ ; obrázek 1(d)).

Obr. 1. Hladiny alarminů u pacientů a kontrol



Byl nalezen významný vztah mezi HMGB1 a S100A7 (Spearman rho = 0,276,  $p < 0,05$ ) ve skupině pacientů a významný vztah mezi HMGB1 a IL-33 ve skupině kontrol (Spearman rho = 0,416,  $p < 0,05$ ). Mezi PASI a žádným z alarminů nebyl zjištěn významný vztah (Obr. 2).

Obr. 2. Vztahy mezi jednotlivými alarminy ve skupině pacientů



## 6.2 Výsledky druhé studie

### 6.2.1 Hladiny endocanu, VEGF, IL-17 a CRP

U pacientů jsme zjistili významně zvýšené hladiny IL-17 (pg/ml; pacienti,  $N = 28$ , medián 23,35, interkvartilové rozpětí 19,40-26,50; kontroly,  $N = 28$ , medián 18,00, interkvartilové rozpětí 15,30-19,25;  $p < 0,0001$ ) a významně nižší hladiny endocanu ve srovnání s kontrolami (pg/ml; pacienti,  $N = 26$ , medián 278, interkvartilové rozpětí 243-346; kontroly,  $N = 28$ , medián 387, interkvartilové rozpětí 296-483;  $p < 0,001$ ).

Významně nižší hladiny endocanu a vyšší hladiny IL-17 byly zjištěny také v podskupině pacientů mužského pohlaví: endocan (pg/ml; pacienti,  $N = 16$ , medián 274, mezikvartilové rozpětí 246-330; kontroly,  $N = 11$ , medián 429, mezikvartilové rozpětí 300-507;  $p = 0,0042$ ) a IL-17 (pg/ml; pacienti,  $N = 17$ , medián 22,30, interkvartilové rozpětí 18,90-25,10; kontroly,  $N = 11$ , medián 18,90, interkvartilové rozpětí 15,30-21,30;  $p = 0,0286$ ).

Významně vyšší hladiny IL-17 byly zjištěny v podskupině pacientek (pg/ml; pacientky,  $N = 11$ , medián 24,30, interkvartilové rozpětí 21,50-28,90; kontroly,  $N = 17$ , medián 15,70, interkvartilové rozpětí 15,30-18,90;  $p < 0,0001$ ).

Hladiny VEGF významně změněné nebyly.

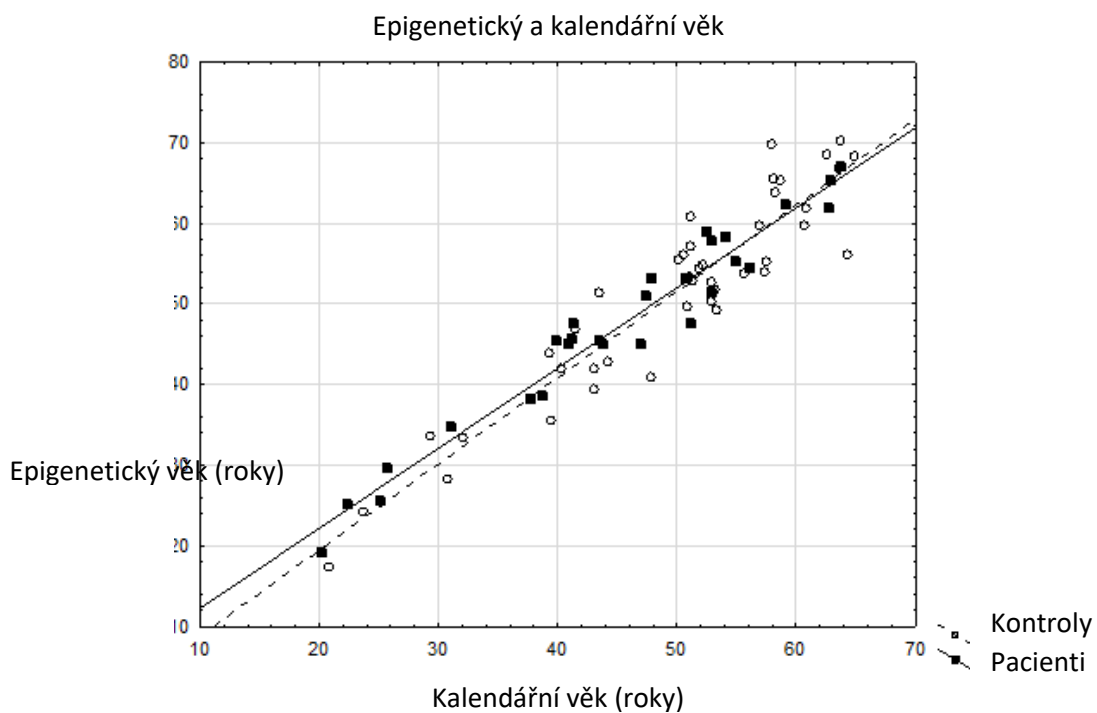
Ve skupině pacientů jsme při medianu PASI 18,7 zjistili významně vyšší hladiny CRP oproti kontrolám (mg/l; pacienti, N = 28, medián 3,1, interkvartilové rozpětí 2,1-5,5; kontroly, N = 22, medián 1,4, interkvartilové rozpětí 1,1-1,7,  $p < 0,001$ ). CRP zároveň pozitivně korelovalo s chronologickým věkem (Spearman rho = 0,590;  $p < 0,001$ ).

### **6.2.2 Úroveň methylace DNA stanovená metodou *epigenetic clock***

Analýza vztahu mezi epigenetickým věkem a chronologickým věkem neprokázala statisticky významný rozdíl mezi kontrolami a pacienty (Obr. 3).

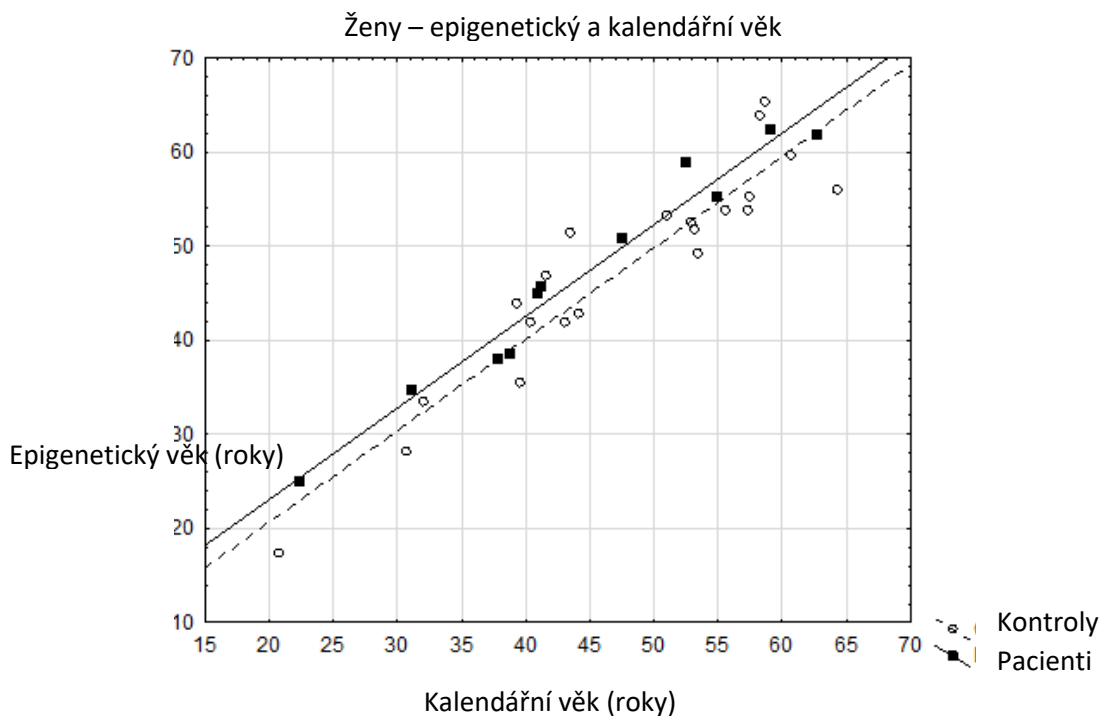
Významný rozdíl mezi kalendářním a epigenetickým věkem byl však nalezen u podskupiny žen s psoriázou. Procentuální rozdíl mezi kalendářním a epigenetickým věkem (Age diff) žen s psoriázou byl vyšší než Age diff žen v kontrolní skupině (%; pacienti, N = 11, medián 7,0, interkvartilové rozpětí 0,4 - 11,0; kontroly, N = 21, medián -3,0, interkvartilové rozpětí -6,0-4,0;  $p=0,0404$ ; Obr. 4 a Obr. 5). Medián rozdílu mezi epigenetickým a chronologickým věkem dosahoval hodnoty 3,2 roku u žen s psoriázou (interkvartilové rozpětí 0,2-4,1 roku), zatímco u zdravých žen (kontrol) hodnoty -1,3 (interkvartilové rozpětí -2,6-2,2 roku). Ženy s psoriázou tak byly zjednodušeně o přibližně čtyři roky biologicky (epigeneticky) starší než ženy zdravé. U podskupiny mužů (pacientů) výše uvedený jev pozorován nebyl.

Obr. 3. Kalendářní a epigenetický věk u pacientů a kontrol



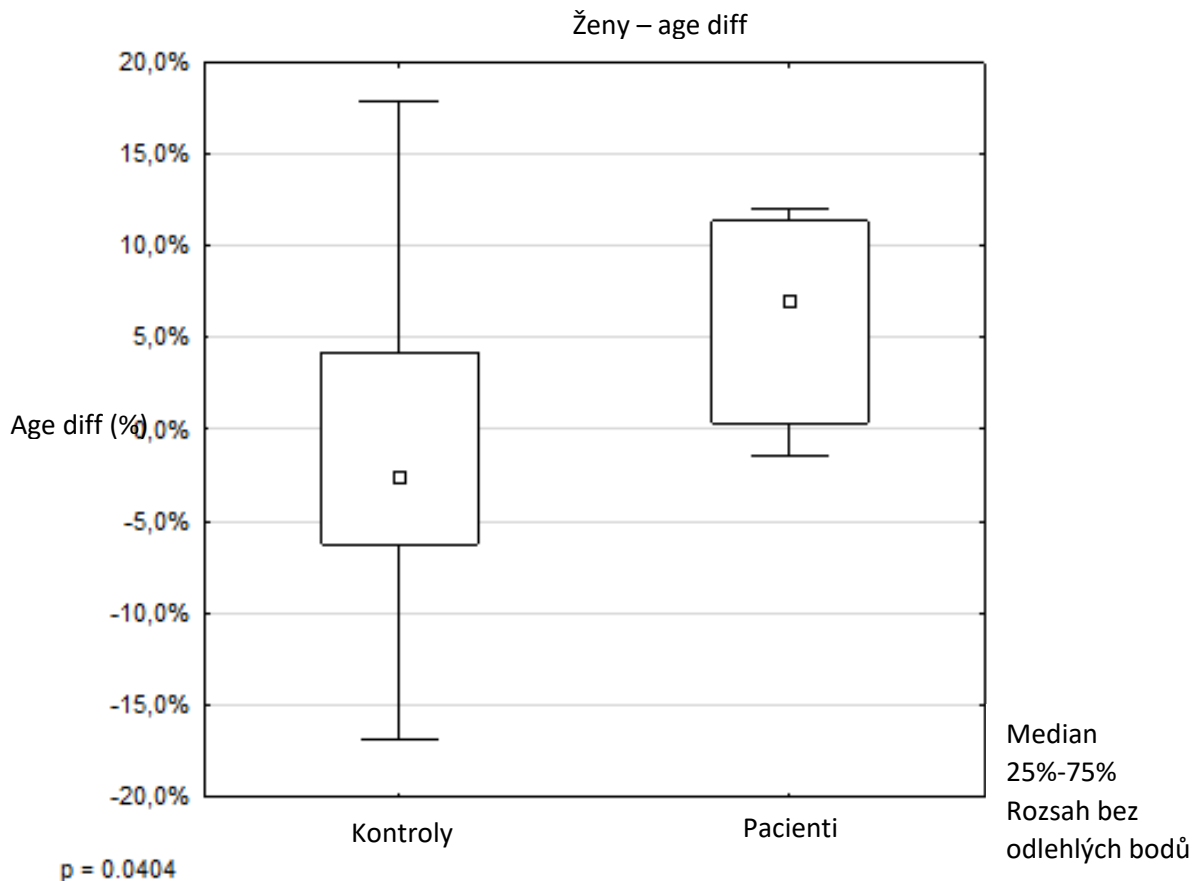
Legenda: Graf rozptylu zobrazuje kontroly jako bílá kolečka a pacienty jako černé čtverce.

Obr. 4. Kalendářní a epigenetický věk u pacientů a kontrol (pouze ženy)



Legenda: Graf rozptylu zobrazuje vztah epigenetického a chronologického věku u žen s psoriázou (pacienti, černé čtverce) a u zdravých žen (kontroly, bílá kolečka).

Obr. 5. Age diff rozdíl mezi pacienty a kontrolami (pouze ženy)



Legenda: Ženy s psoriázou jsou epigeneticky starší než zdravé ženy ( $p = 0,0404$ ). Odlehlý bod je jakákoli hodnota datového bodu  $> 75. \text{ percentil} + 1,5 \cdot (75. \text{ percentil} - 25. \text{ percentil})$  nebo jakýkoli datový bod  $< 25. \text{ percentil} - 1,5 \cdot (75. \text{ percentil} - 25. \text{ percentil})$ .

## 6.3 Výsledky třetí studie

### 6.3.1 Úroveň globální methylace DNA

Úroveň globální methylace DNA (vyjádřená jako procenta 5-mC DNA) byla u pacientů vyšší než u kontrol, avšak rozdíl nedosáhl statistické významnosti (33,20 vs 23,35 %,  $P = 0,234$ ). Vliv pohlaví, kouření, BMI a PASI na stav methylace byl nevýznamný. Byl nalezen



významný vztah mezi úrovní globální methylace a BMI (Spearman rho = 0,417, p = 0,048; Tab. 1).

Tab. 1. Antropometrické charakteristiky souboru respondentů třetí studie, globální methylace, oxidační poškození a délky telomer (mediány a mezikvartilová rozpětí)

<b>Proměnná (jednotky)</b>	<b>Nemocní</b>	<b>Kontroly</b>	<b><i>p</i> hodnota</b>
<b>Věk (roky)</b>			
Ženy	51 (41–68)	53 (40–58)	ns
Muži	60 (44–63)	53 (50–60)	ns
Celkem	53 (41–67)	53 (44–58)	ns
<b>Váha (kg)</b>			
Ženy	78 (68–88)	65 (62–71)	0,008
Muži	83 (79–100)	81 (71–99)	ns
Celkem	81 (72–94)	70 (64–83)	0,009
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>			
Ženy	28,9 (25,1–32,1)	24,2 (22,8–25,6)	<0,001
Muži	28,0 (24,7–30,3)	26,2 (23,7–29,3)	<0,001
Celkem	28,3 (24,8–30,6)	24,7 (23,2–27,7)	<0,001
<b>Globální methylace (% 5-mC)</b>			
Ženy	21,15 (9,65–49,80)	23,35 (2,90–40,10)	ns
Muži	39,90 (10,60–57,60)	20,55 (4,60–45,65)	ns
Celkem	33,20 (10,10–55,60)	23,35 (2,90–40,90)	ns
<b>DNA/RNA oxidace (pg/mL)</b>			
Ženy	4184 (2508–5802)	1985 (1559–2451)	<0,001
Muži	3559 (2568–4369)	2518 (1905–3091)	0,033
Celkem	3758 (2563–5269)	2286 (1559–2635)	<0,001
<b>Délka telomer (kb)</b>			
Ženy	3,65 (3,02–4,57)	3,04 (2,47–3,62)	0,020
Muži	3,33 (2,98–3,96)	2,95 (2,57–3,50)	ns
Celkem	3,57 (2,98–4,11)	3,04 (2,51–3,50)	0,011

Legenda: ns = statisticky nesignifikantní výsledek; % 5-mC = procento 5-methylcytosine v DNA; kb = tisíc nukleotidových bazí na chromosom

### 6.3.2 Hladiny oxidačního poškození

Pacienti s psoriázou měli oproti kontrolám významně vyšší hladinu oxidačního poškození DNA/RNA (3758 vs 2286 pg/ml,  $p < 0,001$ ) jak z pohledu celé skupiny, tak i po rozdělení na muže a ženy (Tab. 1). U pacientů nekuřáků byly nalezeny významně vyšší hladiny oxidačního poškození DNA/RNA ( $n = 25$ ) než u nekuřáků kontrol ( $n = 27$ ; 4228 vs 2287 pg/ml,  $p < 0,001$ ). Hladiny oxidačního poškození DNA/RNA u pacientů s MetS nebyly významně odlišné od pacientů bez MetS (3559 vs 3774 pg/ml,  $p = 0,928$ ). Pacienti bez MetS však měli významně vyšší hladiny oxidačního poškození DNA/RNA ( $n = 18$ ) v porovnání s osobami kontrolní skupiny bez MetS ( $n = 25$ ; 3774 vs 2287 pg/ml,  $p = 0,001$ ).

### 6.3.3 Délka telomer

Ve skupině pacientů (jako celku) a v podskupině pacientů žen (ne však v podskupině pacientů mužů) byla nalezena významně vyšší průměrná délka telomer na chromosom v porovnání s kontrolami (3,57 vs 3,04 kb,  $p = 0,011$ ; 3,65 vs 3,04 kb,  $p = 0,020$ ). U pacientů nekuřáků byly telomery významně delší než u pacientů kuřáků (3,88 vs 3,24 kb,  $p = 0,048$ ) a než u kontrol nekuřáků (3,88 vs 3,03 kb,  $p = 0,002$ ). U pacientů bez MetS byly telomery významně delší (3,84 kb) než u pacientů s MetS (3,38 kb,  $p = 0,024$ ) a kontrol bez MetS (3,03 kb,  $p = 0,001$ ). Byl nalezen významný negativní vztah mezi délkou telomer a kalendářním věkem kontrolních osob (Spearman  $\rho = -0,420$ ,  $p = 0,028$ ).

## 7 Diskuse

### 7.1 Alarminy

Alarminy se podílejí na řízení celé řady intracelulárních a/nebo extracelulárních funkcí, včetně regulace buněčné apoptózy, proliferace, diferenciace, migrace/invaze, energetického metabolismu, homeostázy  $\text{Ca}^{2+}$ , fosforylace proteinů a zánětu v různých typech buněk (26).

Naše výsledky ukázaly, že psoriáza je onemocnění, při kterém jsou ovlivněny hladiny všech zkoumaných alarminů. Nebylo však zjištěno, že by pro změnu těchto parametrů byl rozhodující rozsah onemocnění. Úloha alarminů zůstává nejasná a měla by být v budoucnu důkladně prozkoumána. Zatím není známo, zda jsou alarminy vedlejším produktem autoimunitních procesů, nebo zda se významně podílejí na kaskádě hlubší exacerbace psoriázy.

Prezentovaná studie zjistila vyšší hladiny HMGB1 u pacientů než u kontrol ( $p < 0,05$ ). Ve shodě s našimi výsledky Bergman et al. již dříve prokázali, že HMGB1 je významně zvýšený v séru pacientů s psoriázou; rovněž naznačili, že přítomnost HMGB1 může mít vliv na složení chronického zánětu u psoriázy (27, 28). Vyšší sérové hladiny HMGB1 byly zjištěny také u několika dalších autoimunitních onemocnění, jako je neuromyelitis optica, lupusová nefritida nebo revmatoidní artritida (29-31).

Potvrdili jsme, že pacienti s psoriasis vulgaris mají vyšší hladiny alarminu IL-33 než zdravé kontroly ( $p < 0,01$ ). Toto zjištění je v souladu se studií Mitsui et al, kteří měřili hladiny IL-33 v séru u pacientů s psoriasis vulgaris, psoriatickou artritidou nebo pustulózní psoriázou a zjistili, že jsou vyšší než u kontrol. V naší ani v jejich studii nebyla zjištěna žádná korelace mezi IL-33 a PASI skóre (32).

V naší studii jsme zjistili vyšší hladiny S100A7 (psoriasin) u pacientů než u zdravých kontrol, což je v souladu s výsledky studie Gambichlera et al. Nicméně jsme nezjistili žádný významný vztah S100A7 k PASI, stejně jako Gambichler et al. (33). Tým Andersona a spol. však zjistil u pacientů spíše nižší systémové hladiny psoriasinu. Důvodem byla přítomnost protilátek proti psoriasinu, přičemž psoriasin ani protilátky nebyly navrženy jako validní ukazatele psoriázy (34).

## 7.2 CRP

V naší studii jsme zjistili významně vyšší sérové hladiny CRP u psoriatických pacientů než u kontrol ( $p < 0,001$ ), což svědčí jak o přítomnosti systémového zánětu, tak o zvýšeném kardiovaskulárním riziku a naznačuje přítomnost endoteliální dysfunkce. Věk může významně změnit stupeň systémového zánětu (35). V souladu s touto skutečností jsme ve skupině pacientů zjistili významný vztah mezi hladinou CRP a věkem (Spearman  $\rho = 0,590$ ,  $p < 0,001$ ). Vzhledem k tomuto zjištění lze hladinu CRP považovat za vhodný ukazatel časných stadií kardiovaskulárních komorbidit u psoriatických pacientů v závislosti na věku. Při jeho užití je

samozřejmě třeba chápat jeho proměnlivost vzhledem k přítomnosti akutního zánětlivého onemocnění.

U osob s psoriázou popsaly některé studie významné vztahy mezi CRP a PASI a mezi CRP a BMI (36, 37). Jiné studie však tato zjištění nepotvrdily (38, 39). Výsledky naší studie rovněž nepotvrdily významnost výše uvedených vztahů (CRP s PASI, Spearman rho = -0,291, p = 0,132) a CRP s BMI (Spearman rho = 0,288, p = 0,137).

### **7.3 Endocan, VEGF, IL-17 a *epigenetic clock***

Metoda *epigenetic clock* byla použita k porovnání biologického věku v různých studiích. Tyto studie porovnávaly vliv rasy, pohlaví, cvičení, faktorů životního stylu a nemocí (40-42). U zdravých lidí epigenetický věk striktně koreloval s chronologickým věkem, u patologických stavů se však značně lišil. Nejvýraznějším příkladem je Downův syndrom, u kterého bylo prokázáno, že urychluje epigenetické stárnutí plné krve pacientů. Studie prokázala, že trizomie 21 významně zvyšuje stáří plné krve a mozkové tkáně (v průměru o 6,6 roku, p =  $7,0 \times 10^{-14}$ ). K prohlubování absolutních rozdílů mezi epigenetickým a kalendářním věkem navíc dochází v čase – rozdíl se zvyšuje s věkem jedince (43). V naší studii jsme nemohli dospět k závěru, že by v plné krvi našich pacientů existoval patofyziologický stav způsobující zrychlené stárnutí. Rozdíl mezi epigenetickým a kalendářním věkem se v průběhu života, v rámci jejich expozice onemocnění, nezvyšoval (obr. 3). Zjistili jsme nicméně, že ženy s psoriázou jsou epigeneticky starší než ženy zdravé (obr. 4). To neplatí pro muže, ačkoli právě muži mají obvykle vyšší míru epigenetického stárnutí než ženy (42).

Studie Garshicka et al. jasně uvádí, že psoriáza je u patientek spojena s kardiovaskulárními onemocněními silněji než u pacientů mužského pohlaví (44). Závěry této studie založené na skupině mladých hospitalizovaných pacientů (věk  $\geq 20$  a  $< 35$  let) jsou ve shodě s našimi výsledky, tj. že epigenetický věk je trvale vyšší než chronologický věk po celý život patientek, a to i od raného věku. Tato zjištění by tedy mohla alespoň částečně vysvětlit příčiny kratšího života psoriatických žen.

V naší studii jsme zjistili nižší hladiny endocanu u psoriatiků (p < 0,001). Rozdíl byl statisticky významný u mužů; nižší hladiny byly pozorovány také u žen, ale rozdíl nebyl významný (p = 0,08). Literatura je v názoru na endocan u psoriázy nejednotná. Některé studie prokázaly vyšší hladiny endocanu u pacientů (45, 46), zatímco u jiných byly naměřeny nižší hladiny u pacientů než u zdravých kontrol (47).

IL-17 byl významně zvýšen u mužů i žen s psoriázou ve srovnání s kontrolní skupinou, což je v souladu s dostupnou literaturou (48).

#### 7.4 Globální methylace

Dříve stanovená hladina methylace DNA ve vzorcích kůže, ale nikoli v buňkách periferní krve jako v naší studii, pozitivně korelovala s PASI skóre (49). Naše výsledky nepotvrzují význam stanovení globálního stavu methylace DNA ve vzorcích plné krve u pacientů s psoriázou. Ačkoli medián 5-mC DNA, stanovený u pacientů (33,20 %), byl zřejmě vyšší než u kontrol (23,35 %), statistická významnost rozdílu byla znemožněna velkým kolísáním hodnot 5-mC DNA v obou skupinách (10-55,60 % u pacientů vs 2,90-40,90 % u kontrol, viz tab. 2) a relativně nízkým počtem případů uvedených ve studii.

Tisíce hypo- a hypermethylovaných jednotlivých míst v genech patofyziologicky spojených s psoriázou mohou být odhaleny, neboť hrají roli v podpoře nebo snížení exprese genů ovlivňujících patogenezí psoriázy. Nedá se však říci, že by docházelo primárně k hypo- nebo hypermethylovanosti celého genomu. Oproti výše zmíněné metodě *epigenetic clock* je měření globální methylace sice významně levnější, ale zdaleka nedosahuje tak kvalitních výsledků a není schopno s dostatečnou komplexitou obsáhnout změny methylačního profilu u pacientů s psoriázou.

#### 7.5 Oxidační poškození

V naší práci jsme zjistili vyšší obsah oxidovaných DNA/RNA v séru u psoriatických žen i mužů ve srovnání s kontrolami. Oxidační stres přítomný u osob s exacerbovanou psoriázou vulgaris obou pohlaví tak může přispívat k urychlenému stárnutí buněk. Tato zjištění jsou v souladu s některými dalšími studii, které odhalily zvýšené hladiny oxidačního poškození v plazmě i séru psoriatických pacientů. Psoriáza podle těchto studií přispívá ke zvýšení hladin obou účinků výrazněji než metabolický syndrom. (50-52).

Míra oxidativního poškození DNA/RNA se zdá být potenciálně vhodným markerem pro sledování rizika zrychleného stárnutí, resp. zvýšené prevalence komorbidit v mladším (kalendářním) věku pacientů, neboť byla zvýšená hladina prokázána již několika studii s korespondujícími výsledky. Navíc je vzhledem k výše popsaným teoriím stárnutí (a příčinám stárnutí) více než zřejmá souvislost mezi oxidačním poškozením DNA a její nestabilitou

vedoucí ke zrychlenému stárnutí a tím k nižší naději dožití a vyššímu riziku chorob se stárnutím spojeným.

## **7.6 Délka telomer**

Délka telomer v krevní DNA se shoduje s délkou telomer v jiných tkáních a indukované zkracování telomer je spojeno s mnoha zdravotními problémy včetně stárnutí, poruch souvisejících se stárnutím a rakoviny (53, 54). V naší studii jsme předpokládali, že délka telomer v psoriatických krevních buňkách bude nepřímo úměrně souviset s úrovní oxidovaných molekul DNA/RNA, tedy že čím více bude oxidačního poškození, tím kratší nalezneme telomery. Předběžně publikované studie poskytly na toto téma poněkud kontroverzní údaje (55). Naše výsledky ukázaly, že u pacientů s psoriázou jsou telomery na chromozom významně delší než u věkově odpovídajících kontrol. Podobně, jako v jiných studiích, délka telomer u zdravých kontrol negativně korelovala s jejich věkem (56). U psoriatiků jsme však podobný vztah nepozorovali, neboť psoriáza délku telomer ovlivnila. Na základě našich údajů se zdá, že délka telomer v krevních buňkách neodpovídá vysokému oxidačnímu poškození molekul DNA/RNA přítomných u pacientů s psoriázou. Pacienti s psoriázou měli vyšší poškození DNA/RNA a také delší telomery než kontrolní skupina.

Délka telomer je tedy zatím nedostatečně prozkoumaným ukazatelem stárnutí u psoriatiků. Její souvislost s věkem, rozvojem komorbidit a rizikem úmrtí je vzhledem k našim výsledkům a nejednoznačností ve vědecké literatuře stále nejasná.

## **8 Závěry**

### **8.1 Závěry prvního cíle**

Byla posouzena vhodnost (použitelnost) vybraných ukazatelů biologického stárnutí pro modelový systém onemocnění psoriázou a jejími komorbiditami.

Alarminy představují ukazatele procesu stárnutí popisující změněnou mezibuněčnou komunikaci a byly modelovým systémem onemocnění významně ovlivňovány. Lze je tedy pro tento systém považovat za vhodné. Další z vybraných ukazatelů změněné mezibuněčné komunikace, VEGF modelovým systémem ovlivňován nebyl a za vhodný ukazatel jej zřejmě

považovat nelze. Změněnou mezibuněčnou komunikaci (znak stárnutí) indikují i další vybrané ukazatele endocan, IL-17 a CRP. V modelovém systému onemocnění bylo pozorováno významné snížení endocanu a významné zvýšení IL-17 a CRP. V těchto případech je však nutné brát v úvahu skutečnost, že tyto ukazatele mohou být ovlivňovány řadou dalších faktorů životního/pracovního prostředí a životního stylu. Jejich využití jakožto ukazatelů stárnutí v modelovém systému onemocnění proto připadá v úvahu spíše na úrovni populace, nikoliv však na úrovni jedince.

Ze zástupců ukazatelů stárnutí popisujících epigenetické změny se ukázala jako vhodnější metoda *epigenetic clock* (oproti metodě globální methylace), která umožňuje podrobně charakterizovat jednotlivá methylační místa na epigenomu. Použití umělé inteligence výrazně zvyšuje výpovědní hodnotu měření, v tomto případě hodnotu odhadu stavu procesu stárnutí v modelovém systému onemocnění.

Měření genomové nestability pomocí oxidačního poškození RNA/DNA se zdá být slibnou metodou pro kvantifikaci míry rychlosti stárnutí v modelovém systému onemocnění. I v tomto případě je však nutné brát v úvahu silný vliv faktorů životního/pracovního prostředí a životního stylu (například kouření) na hodnocené ukazatele.

Měření délky telomer přineslo neočekávané nálezy, které neumožňují formulovat objektivní hodnocení vhodnosti této metody jako ukazatele procesu stárnutí v modelovém systému onemocnění. Jinými slovy, v tuto chvíli nelze říci, zda měření průměrné délky telomer v periferní krvi metodou PCR je schopno správně kvantifikovat rychlost stárnutí v modelovém systému onemocnění.

## **8.2 Závěry druhého cíle**

Za použití vhodných ukazatelů procesu stárnutí byla provedena analýza vztahů mezi psoriázou, stárnutím a vznikem komorbidit. Prokázali jsme (podle literárních údajů zřejmě jako první), že u pacientů s psoriázou (modelový systém onemocnění) dochází k významným změnám parametrů souvisejících s procesem stárnutí. Nejvýznamnějším důkazem je nález vyššího epigenetického (biologického věku) u žen s psoriázou.

## **8.3 Vyhodnocení hypotézy**

Stanovená hypotéza nebyla potvrzena. Jen část vybraných ukazatelů procesu stárnutí byla významně ovlivňována modelovým systémem onemocnění psoriázou a jejími

komorbiditami a lze je tedy považovat (pro tento systém) za vhodné pro charakterizaci procesu stárnutí a k odhadům biologického věku. Jedná se o HMGB1, IL-33, S100A7, S100A12, IL-17 a detailní metylaci DNA (epigenetic clock). S určitými výhradami (zejména z důvodu možného ovlivnění řadou faktorů) by bylo možné akceptovat i endocan, CRP a míru oxidačního poškození RNA/DNA.

Závěrem lze konstatovat, že i když předkládané výsledky nejsou zcela jednoznačné z pohledu kvantitativního a jsou zatíženy dále uvedenými nejistotami, zdá se, že psoriáza kvalitativně ovlivňuje proces stárnutí a významně zvyšuje vznik a rozvoj komorbidit. Tato zjištění dávají základ pro další vědeckou práci na tomto poli.

#### **8.4 Analýza nejistot**

Výpovědní hodnota výsledků, jejich interpretací a zobecňujících závěrů je limitována především počtem respondentů a s tím souvisejícím počtem provedených měření. Důvodem této nejistoty jsou v první řadě omezené finanční zdroje školícího pracoviště na velmi nákladná měření (zejména na metody *epigenetic clock*). Dalším zdrojem nejistoty pro zobecňování závěrů je demografické rozložení sledované populace (v dané geografické poloze) a silný vliv faktorů životního/pracovního prostředí a životního stylu na hodnocené ukazatele stárnutí.



## 9 Použitá literatura

1. Burfield L, Burden AD. Psoriasis. *J R Coll Physicians Edinb.* 2013;43(4):334-8; quiz 9.
2. Woo YR, Cho DH, Park HJ. Molecular Mechanisms and Management of a Cutaneous Inflammatory Disorder: Psoriasis. *Int J Mol Sci.* 2017;18(12).
3. Henseler T, Christophers E. Disease concomitance in psoriasis. *J Am Acad Dermatol.* 1995;32(6):982-6.
4. Christophers E. Comorbidities in psoriasis. *Clin Dermatol.* 2007;25(6):529-34.
5. Naldi L, Mercuri SR. Epidemiology of comorbidities in psoriasis. *Dermatol Ther.* 2010;23(2):114-8.
6. Levine HJ. Rest heart rate and life expectancy. *J Am Coll Cardiol.* 1997;30(4):1104-6.
7. Borsky P, Holmannova D, Fiala Z, Borska L, Hruska L, Kucera O. Physiology of ageing. *Cas Lek Cesk.* 2022;161(1):11-6.
8. Phoenix C, de Grey AD. A model of aging as accumulated damage matches observed mortality patterns and predicts the life-extending effects of prospective interventions. *Age (Dordr).* 2007;29(4):133-89.
9. Lopez-Otin C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M, Kroemer G. The hallmarks of aging. *Cell.* 2013;153(6):1194-217.
10. Anan JR, Watson MM, Hagland HR, Soreide K. Molecular and biological hallmarks of ageing. *Br J Surg.* 2016;103(2):e29-46.
11. Kane AE, Sinclair DA. Epigenetic changes during aging and their reprogramming potential. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 2019;54(1):61-83.
12. Whittmore K, Martinez-Nevado E, Blasco MA. Slower rates of accumulation of DNA damage in leukocytes correlate with longer lifespans across several species of birds and mammals. *Aging (Albany NY).* 2019;11(21):9829-45.
13. Borska L, Kremlacek J, Andrys C, Krejsek J, Hamakova K, Borsky P, et al. Systemic Inflammation, Oxidative Damage to Nucleic Acids, and Metabolic Syndrome in the Pathogenesis of Psoriasis. *Int J Mol Sci.* 2017;18(11).
14. Qiu GH, Zheng X, Fu M, Huang C, Yang X. The protective function of non-coding DNA in DNA damage accumulation with age and its roles in age-related diseases. *Biogerontology.* 2019;20(6):741-61.
15. Aubert G, Lansdorp PM. Telomeres and aging. *Physiol Rev.* 2008;88(2):557-79.
16. Zhu Y, Liu X, Ding X, Wang F, Geng X. Telomere and its role in the aging pathways: telomere shortening, cell senescence and mitochondria dysfunction. *Biogerontology.* 2019;20(1):1-16.
17. Steenstrup T, Kark JD, Verhulst S, Thinggaard M, Hjelmborg JVB, Dalgard C, et al. Telomeres and the natural lifespan limit in humans. *Aging (Albany NY).* 2017;9(4):1130-42.
18. Fan H, Xie Q, Zhang Z, Wang J, Chen X, Qiu P. Chronological Age Prediction: Developmental Evaluation of DNA Methylation-Based Machine Learning Models. *Front Bioeng Biotechnol.* 2021;9:819991.
19. Orkaby AR. Moving beyond chronological age: frailty as an important risk factor for cardiovascular disease. *Eur Heart J.* 2021;42(37):3866-8.
20. Elguezabal-Rodelo R, Ochoa-Precoma R, Vazquez-Marroquin G, Porchia LM, Montes-Arana I, Torres-Rasgado E, et al. Metabolic age correlates better than chronological age with waist-to-height ratio, a cardiovascular risk index. *Med Clin (Barc).* 2021;157(9):409-17.
21. Robertson JD, Gale RE, Wynn RF, Dougal M, Linch DC, Testa NG, et al. Dynamics of telomere shortening in neutrophils and T lymphocytes during ageing and the relationship to skewed X chromosome inactivation patterns. *Br J Haematol.* 2000;109(2):272-9.
22. Fujii H, Shao L, Colmegna I, Goronzy JJ, Weyand CM. Telomerase insufficiency in rheumatoid arthritis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106(11):4360-5.

23. Sagers L, Melas-Kyriazi L, Patel CJ, Manrai AK. Prediction of chronological and biological age from laboratory data. *Aging (Albany NY)*. 2020;12(9):7626-38.
24. Salihbegovic EM, Hadzigrabic N, Suljagic E, Kurtalic N, Hadzic J, Zejcirovic A, et al. Psoriasis and dyslipidemia. *Mater Sociomed*. 2015;27(1):15-7.
25. Consultation WHOE. Appropriate body-mass index for Asian populations and its implications for policy and intervention strategies. *Lancet*. 2004;363(9403):157-63.
26. Donato R, Cannon BR, Sorci G, Riuzzi F, Hsu K, Weber DJ, et al. Functions of S100 proteins. *Curr Mol Med*. 2013;13(1):24-57.
27. Strohbuecker L, Koenen H, van Rijssen E, van Cranenbroek B, Fasse E, Joosten I, et al. Increased dermal expression of chromatin-associated protein HMGB1 and concomitant T-cell expression of the DNA RAGE in patients with psoriasis vulgaris. *Psoriasis (Auckl)*. 2019;9:7-17.
28. Bergmann C, Strohbuecker L, Lotfi R, Sucker A, Joosten I, Koenen H, et al. High mobility group box 1 is increased in the sera of psoriatic patients with disease progression. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2016;30(3):435-41.
29. Uzawa A, Mori M, Masuda S, Muto M, Kuwabara S. CSF high-mobility group box 1 is associated with intrathecal inflammation and astrocytic damage in neuromyelitis optica. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2013;84(5):517-22.
30. Zickert A, Palmblad K, Sundelin B, Chavan S, Tracey KJ, Bruchfeld A, et al. Renal expression and serum levels of high mobility group box 1 protein in lupus nephritis. *Arthritis Res Ther*. 2012;14(1):R36.
31. Andersson U, Harris HE. The role of HMGB1 in the pathogenesis of rheumatic disease. *Biochim Biophys Acta*. 2010;1799(1-2):141-8.
32. Mitsui A, Tada Y, Takahashi T, Shibata S, Kamata M, Miyagaki T, et al. Serum IL-33 levels are increased in patients with psoriasis. *Clin Exp Dermatol*. 2016;41(2):183-9.
33. Gambichler T, Bechara FG, Scola N, Rotterdam S, Altmeyer P, Skrygan M. Serum levels of antimicrobial peptides and proteins do not correlate with psoriasis severity and are increased after treatment with fumaric acid esters. *Arch Dermatol Res*. 2012;304(6):471-4.
34. Anderson KS, Wong J, Polyak K, Aronzon D, Enerback C. Detection of psoriasin/S100A7 in the sera of patients with psoriasis. *Br J Dermatol*. 2009;160(2):325-32.
35. Beranek M, Fiala Z, Kremlacek J, Andrys C, Krejsek J, Hamakova K, et al. Changes in circulating cell-free DNA and nucleosomes in patients with exacerbated psoriasis. *Arch Dermatol Res*. 2017;309(10):815-21.
36. Coban M, Tasli L, Turgut S, Ozkan S, Tunc Ata M, Akin F. Association of Adipokines, Insulin Resistance, Hypertension and Dyslipidemia in Patients with Psoriasis Vulgaris. *Ann Dermatol*. 2016;28(1):74-9.
37. Sudhesan A, Rajappa M, Chandrashekar L, Ananthanarayanan PH, Thappa DM, Sathesh S, et al. Association of C-Reactive Protein (rs1205) Gene Polymorphism with Susceptibility to Psoriasis in South Indian Tamils. *J Clin Diagn Res*. 2016;10(10):GC01-GC4.
38. Gisondi P, Lora V, Bonauguri C, Russo A, Lippi G, Girolomoni G. Serum chemerin is increased in patients with chronic plaque psoriasis and normalizes following treatment with infliximab. *Br J Dermatol*. 2013;168(4):749-55.
39. Baran A, Flisiak I, Jaroszewicz J, Swiderska M. Effect of psoriasis activity on serum adiponectin and leptin levels. *Postepy Dermatol Alergol*. 2015;32(2):101-6.
40. Horvath S. DNA methylation age of human tissues and cell types. *Genome Biol*. 2013;14(10):R115.
41. Marioni RE, Shah S, McRae AF, Ritchie SJ, Muniz-Terrera G, Harris SE, et al. The epigenetic clock is correlated with physical and cognitive fitness in the Lothian Birth Cohort 1936. *Int J Epidemiol*. 2015;44(4):1388-96.

42. Horvath S, Gurven M, Levine ME, Trumble BC, Kaplan H, Allayee H, et al. An epigenetic clock analysis of race/ethnicity, sex, and coronary heart disease. *Genome Biol.* 2016;17(1):171.
43. Horvath S, Garagnani P, Bacalini MG, Pirazzini C, Salvioli S, Gentilini D, et al. Accelerated epigenetic aging in Down syndrome. *Aging Cell.* 2015;14(3):491-5.
44. Garshick MS, Vaidean G, Nikain CA, Chen Y, Smilowitz NR, Berger JS. Sex differences in the prevalence of vascular disease and risk factors in young hospitalized patients with psoriasis. *Int J Womens Dermatol.* 2019;5(4):251-5.
45. Balta I, Balta S, Demirkol S, Mikhailidis DP, Celik T, Akhan M, et al. Elevated serum levels of endocan in patients with psoriasis vulgaris: correlations with cardiovascular risk and activity of disease. *Br J Dermatol.* 2013;169(5):1066-70.
46. Sabry HH, Sabry JH, Daifalla AEH, Akl EM, Hamed AM, Torky AAA. Serum markers for asymptomatic atherosclerosis in Egyptian psoriatic patients: study controlled by Doppler estimation of carotid intima-media thickness. *Vasc Health Risk Manag.* 2018;14:145-52.
47. Sigurdardottir G, Ekman AK, Verma D, Enerback C. Decreased Systemic Levels of Endocan-1 and CXCL16 in Psoriasis Are Restored following Narrowband UVB Treatment. *Dermatology.* 2018;234(5-6):173-9.
48. Malakouti M, Brown GE, Wang E, Koo J, Levin EC. The role of IL-17 in psoriasis. *J Dermatolog Treat.* 2015;26(1):41-4.
49. Zhang P, Su Y, Chen H, Zhao M, Lu Q. Abnormal DNA methylation in skin lesions and PBMCs of patients with psoriasis vulgaris. *J Dermatol Sci.* 2010;60(1):40-2.
50. Borska L, Andrys C, Krejsek J, Palicka V, Vorisek V, Hamakova K, et al. Influence of dermal exposure to ultraviolet radiation and coal tar (polycyclic aromatic hydrocarbons) on the skin aging process. *J Dermatol Sci.* 2016;81(3):192-202.
51. Lin X, Huang T. Oxidative stress in psoriasis and potential therapeutic use of antioxidants. *Free Radic Res.* 2016;50(6):585-95.
52. Borska L, Andrys C, Krejsek J, Palicka V, Chmelarova M, Hamakova K, et al. Oxidative damage to nucleic acids and benzo(a)pyrene-7,8-diol-9,10-epoxide-DNA adducts and chromosomal aberration in children with psoriasis repeatedly exposed to crude coal tar ointment and UV radiation. *Oxid Med Cell Longev.* 2014;2014:302528.
53. Njajou OT, Cawthon RM, Damcott CM, Wu SH, Ott S, Garant MJ, et al. Telomere length is paternally inherited and is associated with parental lifespan. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104(29):12135-9.
54. Cawthon RM, Smith KR, O'Brien E, Sivatchenko A, Kerber RA. Association between telomere length in blood and mortality in people aged 60 years or older. *Lancet.* 2003;361(9355):393-5.
55. Tosevska A, Franzke B, Hofmann M, Vierheilig I, Schober-Halper B, Oesen S, et al. Circulating cell-free DNA, telomere length and bilirubin in the Vienna Active Ageing Study: exploratory analysis of a randomized, controlled trial. *Sci Rep.* 2016;6:38084.
56. Tamayo M, Mosquera A, Rego JI, Fernandez-Sueiro JL, Blanco FJ, Fernandez JL. Differing patterns of peripheral blood leukocyte telomere length in rheumatologic diseases. *Mutat Res.* 2010;683(1-2):68-73.

## 10 Přehled publikační činnosti autora

### Původní vědecké práce v impaktovaném časopise

Ranna D, Andrys C, Krejsek J, Hamakova K, Kremlacek J, Fiala Z, **Borsky P**, Borska L. Elevated levels of circulating biomarkers of cell death (nucleosomes) in the patients with plaque psoriasis treated with the Goeckerman regimen. *Bratisl Lek Listy*. 2014;115(4):229-32. doi: 10.4149/bll\_2014\_047. PMID: 24797598. IF=0,439; Q4

Borska L, Andrys C, Krejsek J, Palicka V, Vorisek V, Hamakova K, Kremlacek J, **Borsky P**, Fiala Z. Influence of dermal exposure to ultraviolet radiation and coal tar (polycyclic aromatic hydrocarbons) on the skin aging process. *J Dermatol Sci*. 2016 Mar;81(3):192-202. doi: 10.1016/j.jdermsci.2015.12.010. Epub 2015 Dec 28. PMID: 26748978. IF=3,739; Q1

Borska L, Andrys C, Chmelarova M, Kovarikova H, Krejsek J, Hamakova K, Beranek M, Palicka V, Kremlacek J, **Borsky P**, Fiala Z. Roles of miR-31 and endothelin-1 in psoriasis vulgaris: pathophysiological functions and potential biomarkers. *Physiol Res*. 2017 Dec 20;66(6):987-992. doi: 10.33549/physiolres.933615. Epub 2017 Sep 22. IF=1,324; Q4

Borska L, Kremlacek J, Andrys C, Krejsek J, Hamakova K, **Borsky P**, Palicka V, Rehacek V, Malkova A, Fiala Z. Systemic Inflammation, Oxidative Damage to Nucleic Acids, and Metabolic Syndrome in the Pathogenesis of Psoriasis. *Int J Mol Sci*. 2017 Oct 25;18(11). IF=3,687; Q2

Beranek M, Malkova A, Fiala Z, Kremlacek J, Hamakova K, Zaloudkova L, **Borsky P**, Adamus T, Palicka V, Borska L. Goeckerman Therapy of Psoriasis: Genotoxicity, Dietary Micronutrients, Homocysteine, and MTHFR Gene Polymorphisms. *Int J Mol Sci*. 2019 Apr 17;20(8):1908. doi: 10.3390/ijms20081908. IF=4,556, Q2

**Borsky P**, Fiala Z, Andrys C, Beranek M, Hamakova K, Malkova A, Svadlakova T, Krejsek J, Palicka V, Borska L, Rehacek V. Alarmins HMGB1, IL-33, S100A7, and S100A12 in Psoriasis Vulgaris. *Mediators Inflamm*. 2020 Apr 15;2020:8465083. doi: 10.1155/2020/8465083. eCollection 2020. IF=3,758; Q2

Holmannova D, Borska L, Andrys C, **Borsky P**, Kremlacek J, Hamakova K, Rehacek V, Malkova A, Svadlakova T, Palicka V, Krejsek J, Fiala Z. The Impact of Psoriasis and Metabolic Syndrome on the Systemic Inflammation and Oxidative Damage to Nucleic Acids. *J Immunol Res*. 2020 May 20;2020:7352637. doi: 10.1155/2020/7352637. eCollection 2020. IF=3,327; Q2

**Borsky P**, Chmelarova M, Fiala Z, Palicka V, Beranek M, Kremlacek J, Andrys C, Hamakova K, Malkova A, Borska L. Variation of selected genotoxic and epigenetic markers due to therapeutic exposure to PAHs and ultraviolet radiation. *Bratisl Lek Listy*. 2020;121(8):558-564. doi: 10.4149/BLL\_2020\_093. IF=1,2; Q4

Holmannova D, **Borsky P**, Borska L, Andrys C, Hamakova K, Rehacek V, Svadlakova T, Malkova A, Beranek M, Palicka V, Krejsek J, Fiala Z. Metabolic syndrome, clusterin and elafin in patients with psoriasis vulgaris. *Int J Mol Sci*. 2020 Aug 5;21(16):E5617. doi: 10.3390/ijms21165617. IF=4,556; Q2

Malkova A, Borska L, Smejkalova J, Hamakova K, Kremlacek J, Svadlakova T, **Borsky P**, Holmannova D, Fiala Z. Genotoxic effect of simultaneous therapeutic exposure to polycyclic

aromatic hydrocarbons and UV radiation. *J Appl Toxicol*. 2020 Oct 4. doi: 10.1002/jat.4074. Online ahead of print. IF=2,997; Q2

**Borsky P**, Chmelarova M, Fiala Z, Hamakova K, Palicka V, Krejsek J, Andrys C, Kremlacek J, Rehacek V, Beranek M, Malkova A, Svadlakova T, Holmannova D, Borska L. Aging in psoriasis vulgaris: female patients are epigenetically older than healthy controls. *Immun Ageing*. 2021 Mar 3;18(1):10. doi: 10.1186/s12979-021-00220-5. PMID: 33658053; PMCID: PMC7927262. IF=5,52; Q2

**Borsky P**, Fiala Z, Andrys C, Beranek M, Hamakova K, Kremlacek J, Malkova A, Svadlakova T, Krejsek J, Palicka V, Rehacek V, Kotingova L, Borska L. C-reactive protein, chemerin, fetuin-A and osteopontin as predictors of cardiovascular risks in persons with psoriasis vulgaris. *Physiol Res*. 2021 Jul 12;70(3):383-391. doi: 10.33549/physiolres.934654. Epub 2021 May 12. PMID: 33982577; PMCID: PMC8820567. IF=1,881; Q4

Malkova A, Svadlakova T, Singh A, Kolackova M, Vankova R, **Borsky P**, Holmannova D, Karas A, Borska L, Fiala Z. In Vitro Assessment of the Genotoxic Potential of Pristine Graphene Platelets. *Nanomaterials (Basel)*. 2021 Aug 27;11(9):2210. doi: 10.3390/nano11092210. PMID: 34578525; PMCID: PMC8470272. IF=3,504; Q1

Karas A, Holmannova D, **Borsky P**, Fiala Z, Andrys C, Hamakova K, Svadlakova T, Palicka V, Krejsek J, Rehacek V, Esterkova M, Kovarikova H, Borska L. Significantly Altered Serum Levels of NAD, AGE, RAGE, CRP, and Elastin as Potential Biomarkers of Psoriasis and Aging-A Case-Control Study. *Biomedicines*. 2022 May 13;10(5):1133. doi: 10.3390/biomedicines10051133. PMID: 35625870; PMCID: PMC9138308. IF=6,018; Q1

### **Ostatní práce v impaktovaném časopise**

Holmannova D, Borsky P, Svadlakova T, Borska L, Fiala Z. Reproductive and Developmental Nanotoxicity of Carbon Nanoparticles. *Nanomaterials (Basel)*. 2022 May 17;12(10):1716. doi: 10.3390/nano12101716. PMID: 35630937; PMCID: PMC9144754. IF = 5,076; Q2

### **Původní vědecké práce v recenzovaném neimpaktovaném časopise**

**Borský P**, Andrýs C, Krejsek J, Hamáková K, Kremláček J, Málková A, Bartošová L, Fiala Z, Palička V, Borská L. Serum Level of Antibodies (IgG, IgM) Against Benzo[a]pyrene-7,8-diol-9,10-epoxide-DNA Adducts in Children Dermatologically Exposed to Coal Tar. *Acta Medica*. 2017;60(1):27-31.

Holmannová D, Císařová B, **Borský P**, Fiala Z, Andrýs C, Hamáková K, Švadlákova T, Krejsek J, Palička V, Kotingová L, Borská L. Goeckerman Regimen Reduces Alarmin Levels and PASI Score in Paediatric Patients with Psoriasis. *Acta Medica (Hradec Kralove)*. 2021;64(4):204-212. doi: 10.14712/18059694.2022.3. PMID: 35285442.

## Ostatní práce v recenzovaném neimpaktovaném časopise

**Borský P**, Holmannová D, Fiala Z, Borská L, Hruška L, Kučera O. Physiology of ageing. Cas Lek Cesk. 2022 Spring;161(1):11-16. English. PMID: 35354289.

### Aktivní účast na odborných setkáních:

Málková, A., Švadlákova, T., Fiala, Z., Holmannová, D., **Borský, P.**, Beránek, M., Borská, L. Možný genotoxický potenciál grafenu. XXXIV. Kongres pracovního lékařství s mezinárodní účastí, 34. Teisingerův den průmyslové toxikologie a 43. Benův den fyziologie a psychofyziologie práce (Mariánské Lázně 24. – 25.9.2019).

Malkova, A., Borska, L., **Borsky, P.**, Kremlacek, J., Hamakova, K., Beranek, M., Andrys, C., Svadlakova, T, Fiala, Z. The influence of psoriasis and metabolic syndrome on the level of systemic inflammation and oxidative stress. 17th International Congress of Immunology, IUIS 2019 Beijing, China 19-23 October

Borská, L., Andrys, C., Beranek, M., Hamakova, K., Kremlacek, J., Malkova, A., Švadlákova, T., Krejsek, J., Palička, V., Beránek, M., **Borský, P.**, Fiala, Z. C-reactive protein, Chemerin, Fetuin-A and Osteopontin as possible predictors of cardiovascular risks in persons with psoriasis vulgaris. 17th International Congress of Immunology, IUIS 2019 Beijing, China 19-23 October

Borska, L., Andrys, C., Kremlacek, J., Malkova, A., Svadlakova, T., **Borsky, P.**, Fiala Z. Occupational exposure to bitumen fumes. EUROTOX 2018 Brusel, Belgie 2. - 5. 9. 2018).

**Borsky, P.**, Beranek, M., Malkova, A., Fiala, Z., Kremlacek, J., Hamakova, Zaloudkova, L., Adamus, T., Palicka, V., Borska, L.: Genotoxicity, homocysteine, dietary micronutrients and MTHFR gene polymorphisms in psoriatic patients treated by Goeckerman regimen. EUROTOX 2018 Helsinky, Finland 7. - 11. 9. 2019).

**Borsky, P.**, Fiala, Z., Borska, L.: AGING IN PSORIASIS VULGARIS. 17. fakultní konference studentů DSP, Fakultní nemocnice Hradec Králové, 25. 10. 2021

### Kapitoly v mezinárodních monografiích:

Holmannova D., **Borsky P.**, Borska L., Andrys C., Hamakova K., Rehacek V., Svadlakova T., Malkova A., Beranek M., Palicka V., Krejsek J., Fiala Z.. Metabolic Syndrome, Clusterin and Elafin in Patients with Psoriasis Vulgaris. Prime Archives in Molecular Sciences. Vide Leaf; 2020; ISBN: 978-93-90014-20-0