

GDAŃSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY

Szymon Nowakowski

***Analiza polimorfizmu
genów FCGR2A, FCGR2B,
FCGR2C, FCGR3A, FCGR3B
w reumatoidalnym zapaleniu stawów
i w toczniu rumieniowatym układowym***

GDAŃSK 2016

Wydano za zgodą
Dziekana Wydziału Lekarskiego

Klinika Pneumonologii
Katedra Pneumonologii i Alergologii
Gdański Uniwersytet Medyczny

Promotor
prof. dr hab. med. Anna Dubaniewicz

Pracę doktorską zrealizowano dzięki finansowaniu Narodowego Centrum Nauki
(grant badawczy nr 5160/B/P01/2010/39)

Medical University of Gdańsk 2016
ISBN 978-83-65098-34-4

Mojej Rodzinie

Składam serdeczne podziękowania
Promotorowi niniejszej rozprawy doktorskiej,
Pani Profesor Annie Dubaniewicz
za życzliwość, motywację oraz pomoc w trakcie przygotowywania tej rozprawy

Pragnę również podziękować
Panu dr hab. n. med. Krzysztofowi Rębale
za praktyczną pomoc w przeprowadzeniu badań laboratoryjnych

SPIS TREŚCI

| | |
|--|-----------|
| 1. WSTĘP | 11 |
| 1.1 RYS HISTORYCZNY | 11 |
| 1.1.1 Rys historyczny reumatoidalnego zapalenia stawów | 11 |
| 1.1.2 Rys historyczny toczenia rumieniowatego układowego | 11 |
| 1.2 DEFINICJA..... | 12 |
| 1.2.1 Definicja reumatoidalnego zapalenia stawów | 12 |
| 1.2.2 Definicja toczenia rumieniowatego układowego | 12 |
| 1.3 EPIDEMIOLOGIA | 13 |
| 1.3.1 Epidemiologia reumatoidalnego zapalenia stawów..... | 13 |
| 1.3.2 Epidemiologia toczenia rumieniowatego układowego..... | 13 |
| 1.4 OBRAZ KLINICZNY, DIAGNOSTYKA I LECZENIE | 14 |
| 1.4.1 Obraz kliniczny, diagnostyka i leczenie reumatoidalnego zapalenia stawów..... | 14 |
| 1.4.2 Obraz kliniczny, diagnostyka i leczenie toczenia rumieniowatego układowego | 17 |
| 1.5 ETIOPATOGENEZA | 19 |
| 1.5.1 Etiopatogeneza reumatoidalnego zapalenia stawów | 19 |
| 1.5.2 Etiopatogeneza toczenia rumieniowatego układowego | 23 |
| 1.6 RECEPTORY FCY..... | 26 |
| 1.6.1 Budowa, lokalizacja i funkcja receptorów Fcy | 26 |
| 1.6.2 Polimorfizm genów kodujących receptory Fcy..... | 29 |
| 1.6.3 Polimorfizm genów kodujących receptory Fcy w chorobach auto immunizacyjnych..... | 31 |
| 1.6.4 Polimorfizm genów kodujących receptory Fcy w reumatoidalnym zapaleniu stawów i toczeniu rumieniowatym układowym | 31 |
| 2. CEL PRACY | 33 |
| 3. MATERIAŁ I METODY | 34 |
| 3.1 MATERIAŁ BADAWCZY | 34 |
| 3.1.1 Populacja chorych na reumatoidalne zapalenie stawów | 34 |
| 3.1.2 Populacja chorych na toczeń rumieniowaty układowy | 35 |
| 3.1.3 Populacja kontrolna..... | 36 |
| 3.2 ANALIZA PRAWIDŁOWEGO DOBRANIA BADANYCH GRUP POD WZGLĘDEM WIEKU I PŁCI | 36 |
| 3.3 METODY | 37 |
| 3.3.1 Odczynniki..... | 37 |
| 3.3.2 Izolacja DNA..... | 39 |
| 3.3.3 Łańcuchowa reakcja polimerazy..... | 39 |
| 3.3.4 Rozdział produktów amplifikacji | 47 |
| 3.3.5 Barwienie DNA w żelu azotanem srebra..... | 47 |
| 3.3.6 Analiza statystyczna | 48 |
| 4. WYNIKI | 49 |
| 4.1 CZĘSTOŚĆ WYSTĘPOWANIA ALLELI I GENOTYPÓW GENU <i>FCGR2A</i> W BADANYCH GRUPACH: CHORYCH NA REUMATOIDALNE ZAPALENIE STAWÓW (RZS), CHORYCH NA TOCZEŃ RUMIENIOWATY UKŁADOWY (TRU) I U OSÓB ZDROWYCH (KONTROLA) | 49 |

| | | |
|-------|--|----|
| 4.1.1 | Porównanie częstości występowania alleli i genotypów genu <i>FCGR2A</i> pomiędzy pacjentami z RZS a osobami zdrowymi..... | 50 |
| 4.1.2 | Porównanie częstości występowania alleli i genotypów genu <i>FCGR2A</i> pomiędzy wszystkimi pacjentami z TRU a osobami zdrowymi..... | 51 |
| 4.1.3 | Porównanie częstości występowania alleli i genotypów genu <i>FCGR2A</i> pomiędzy pacjentami z nerkową postacią TRU a osobami zdrowymi..... | 51 |
| 4.1.4 | Porównanie częstości występowania alleli i genotypów genu <i>FCGR2A</i> pomiędzy pacjentami z RZS a pacjentami z TRU..... | 51 |
| 4.2 | CZĘSTOŚĆ WYSTĘPOWANIA ALLELI I GENOTYPÓW GENU <i>FCGR2B</i> W BADANYCH GRUPACH..... | 53 |
| 4.2.1 | Porównanie częstości występowania alleli i genotypów genu <i>FCGR2B</i> pomiędzy pacjentami z RZS a osobami zdrowymi..... | 55 |
| 4.2.2 | Porównanie częstości występowania alleli i genotypów genu <i>FCGR2B</i> pomiędzy wszystkimi pacjentami z TRU a osobami zdrowymi..... | 56 |
| 4.2.3 | Porównanie częstości występowania alleli i genotypów genu <i>FCGR2B</i> pomiędzy pacjentami z nerkową postacią TRU a osobami zdrowymi..... | 56 |
| 4.2.4 | Porównanie częstości występowania alleli i genotypów genu <i>FCGR2B</i> pomiędzy pacjentami z RZS a pacjentami z TRU..... | 56 |
| 4.3 | CZĘSTOŚĆ WYSTĘPOWANIA ALLELI I GENOTYPÓW GENU <i>FCGR2C</i> W BADANYCH GRUPACH..... | 58 |
| 4.3.1 | Porównanie częstości występowania alleli i genotypów genu <i>FCGR2C</i> pomiędzy pacjentami z RZS a osobami zdrowymi..... | 60 |
| 4.3.2 | Porównanie częstości występowania alleli i genotypów genu <i>FCGR2C</i> pomiędzy wszystkimi pacjentami z TRU a osobami zdrowymi..... | 60 |
| 4.3.3 | Porównanie częstości występowania alleli i genotypów genu <i>FCGR2C</i> pomiędzy pacjentami z nerkową postacią TRU a osobami zdrowymi..... | 60 |
| 4.3.4 | Porównanie częstości występowania alleli i genotypów genu <i>FCGR2C</i> pomiędzy pacjentami z RZS a pacjentami z TRU..... | 60 |
| 4.4 | CZĘSTOŚĆ WYSTĘPOWANIA ALLELI I GENOTYPÓW GENU <i>FCGR3A</i> W BADANYCH GRUPACH..... | 63 |
| 4.4.1 | Porównanie częstości występowania alleli i genotypów genu <i>FCGR3A</i> pomiędzy pacjentami z RZS a osobami zdrowymi..... | 64 |
| 4.4.2 | Porównanie częstości występowania alleli i genotypów genu <i>FCGR3A</i> pomiędzy wszystkimi pacjentami z TRU a osobami zdrowymi..... | 65 |
| 4.4.3 | Porównanie częstości występowania alleli i genotypów genu <i>FCGR3A</i> pomiędzy pacjentami z nerkową postacią TRU a osobami zdrowymi..... | 65 |
| 4.4.4 | Porównanie częstości występowania alleli i genotypów genu <i>FCGR3A</i> pomiędzy pacjentami z RZS a pacjentami z TRU..... | 65 |
| 4.5 | CZĘSTOŚĆ WYSTĘPOWANIA ALLELI I GENOTYPÓW GENU <i>FCGR3B</i> W BADANYCH GRUPACH..... | 67 |
| 4.5.1 | Porównanie częstości występowania alleli i genotypów genu <i>FCGR3B</i> pomiędzy pacjentami z RZS a osobami zdrowymi..... | 68 |
| 4.5.2 | Porównanie częstości występowania alleli i genotypów genu <i>FCGR3B</i> pomiędzy wszystkimi pacjentami z TRU a osobami zdrowymi..... | 68 |
| 4.5.3 | Porównanie częstości występowania alleli i genotypów genu <i>FCGR3B</i> pomiędzy pacjentami z nerkową postacią TRU a osobami zdrowymi..... | 69 |
| 4.5.4 | Porównanie częstości występowania alleli i genotypów genu <i>FCGR3B</i> pomiędzy pacjentami z RZS a pacjentami z TRU..... | 69 |

| | |
|--|------------|
| 5. DYSKUSJA | 72 |
| 5.1 PORÓWNANIE CZĘSTOŚCI WYSTĘPOWANIA ALLELI I IGENOTYPÓW <i>FCGR2A</i> U PACJENTÓW Z RZS, TRU, Z NERKOWĄ POSTACIĄ TRU I U OSÓB ZDROWYCH | 72 |
| 5.2 PORÓWNANIE CZĘSTOŚCI WYSTĘPOWANIA ALLELI I GENOTYPÓW <i>FCGR2B</i> U PACJENTÓW Z RZS, TRU I OSÓB ZDROWYCH..... | 75 |
| 5.3 PORÓWNANIE CZĘSTOŚCI WYSTĘPOWANIA ALLELI I GENOTYPÓW <i>FCGR2C</i> U PACJENTÓW Z RZS, TRU I OSÓB ZDROWYCH..... | 77 |
| 5.4 PORÓWNANIE CZĘSTOŚCI WYSTĘPOWANIA ALLELI I GENOTYPÓW <i>FCGR3A</i> U PACJENTÓW Z RZS, TRU I OSÓB ZDROWYCH..... | 78 |
| 5.5 PORÓWNANIE CZĘSTOŚCI WYSTĘPOWANIA ALLELI I GENOTYPÓW <i>FCGR3B</i> U PACJENTÓW Z RZS, TRU I OSÓB ZDROWYCH..... | 80 |
| 5.6 PODSUMOWANIE..... | 82 |
| 6. WNIOSKI | 84 |
| 7. PIŚMIENNICTWO | 85 |
| 8. STRESZCZENIE | 103 |
| 9. SUMMARY | 104 |

SKRÓTY

| | |
|-----------|---|
| ACR | <i>American College of Rheumatology</i> / Amerykańskie Kolegium Reumatologiczne |
| ACPA | <i>anti-citrullinated protein antibody</i> / przeciwciała przeciwko cytrulinowanym peptydom |
| ADCC | <i>antibody dependent cell cytotoxicity</i> / cytotoksyczność komórkowa zależna od przeciwciał |
| Ag | <i>antigen</i> / antygen |
| ANA | <i>antinuclear antibodies</i> / przeciwciała przeciwjądrowe |
| anty-CCP | <i>anti-cyclic citrullinated peptide antibodies</i> / przeciwciała przeciwko cyklicznemu cytrulinowanemu peptydowi |
| APC | <i>antigen-presenting cell</i> / komórka prezentująca antygen |
| APS | <i>antiphospholipid syndrome</i> / zespół antyfosfolipidowy |
| ARA | <i>American Rheumatism Association</i> / Amerykańskie Stowarzyszenie Reumatologiczne |
| BCR | <i>B-cell receptor</i> / receptor limfocytów B |
| BILAG | <i>British Isles Lupus Assesment Group</i> / brytyjska skala oceny aktywności układowego tocznia rumieniowatego |
| BLyS/BAFF | <i>B Lymphocyte Stimulator</i> / <i>B-cell activating factor</i> / czynnik stymulujący limfocyty B |
| CI | <i>confidence intervals</i> / przedziały ufności |
| CRP | <i>C-reactive protein</i> / białko C-reaktywne |
| CTLA | <i>cytotoxic T-lymphocyte-associated protein</i> / białko kostymulujące |
| DAMP | <i>danger-associated molecular pattern</i> / wzorce molekularne związane z uszkodzeniem |
| DAS | <i>Disease Activity Score</i> / Wskaźnik Aktywności Choroby |
| DHEA | <i>dehydroepiandrosterone</i> / dehydroepiandrosteron |
| ECLAM | <i>European Consensus Lupus Activity Measure</i> / skala oceny aktywności układowego tocznia rumieniowatego |
| EULAR | <i>European League Against Rheumatism</i> / Europejska Liga Przewlekle Reumatyczna |
| FcγR | <i>receptor for Fc region of the immunoglobulin G</i> / receptor dla fragmentu Fc immunoglobuliny G |
| GBS | <i>Guillain-Barré syndrome</i> / zespół Guillaina- Barrego |
| GCA | <i>giant cell arteritis</i> / olbrzymiokomórkowe zapalenie tętnic |
| GM-CSF | <i>granulocyte-macrophage colony-stimulating factor</i> / czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów |
| GPA | <i>granulomatosis with polyangiitis</i> / ziarniniakowatość z zapaleniem naczyń |
| GPI | <i>glucose-6-phosphate isomerase</i> / izomeraza glukozy-6-fosforanowa |
| hGH | <i>human Growth Hormone</i> / ludzki hormon wzrostu |
| HSP | <i>heat shock protein</i> / białko szoku termicznego |

| | |
|----------------|---|
| IFN- α | <i>interferon alpha</i> / interferon alfa |
| IL | <i>interleukin</i> / interleukina |
| IPF | <i>idiopathic pulmonary fibrosis</i> / idiopatyczne włóknienie płuc |
| ITAM | <i>immunoreceptor tyrosine-based activation motif</i> / sekwencja receptora przewodząca sygnały aktywujące |
| ITIM | <i>immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif</i> / sekwencja receptora przewodząca sygnały aktywujące |
| ITP. | <i>idiopathic thrombocytopenic purpura</i> / pierwotna małopłytkowość immunologiczna |
| KI | <i>immune complexes</i> / kompleksy immunologiczne |
| LDG | <i>low-density granulocytes</i> / granulocyty o niskiej gęstości |
| LN | <i>lupus nephropathy</i> / toczeń nerkowy, nefropatia toczniowa |
| MAC | <i>membrane attack complex</i> / kompleks atakujący błonę |
| MCP | <i>monocyte chemoattractant protein</i> / chemokina |
| MPS | <i>mononuclear phagocyte system</i> / układ fagocytów jednojądrzastych |
| MHC | <i>major histocompatibility complex</i> / główny układ zgodności tkankowej |
| miRNA | <i>micro RNA</i> / mikro RNA |
| MPA | <i>microscopic polyangiitis</i> / mikroskopowe zapalenie naczyń |
| NET | <i>neutrophil extracellular trap</i> / zewnątrzkomórkowa sieć neutrofilów |
| OR | <i>odds ratio</i> / iloraz szans |
| PADI | <i>peptidyl arginine deiminase</i> / gen dezaminazy argininy w peptydach |
| PAF | <i>platelet activating factor</i> / czynnik aktywujący płytki |
| PCR | <i>polymerase chain reaction</i> / łańcuchowa reakcja polimerazy |
| PCR-SSP | <i>polymerase chain reaction with sequence-specific primer</i> / łańcuchowa reakcja polimerazy z użyciem starterów o sekwencji specyficznej do poszczególnych alleli genu |
| PTPN22 | <i>protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 22</i> / gen fosfatazy tyrozynowej |
| pz | <i>base pairs</i> / pary zasad |
| qPCR | <i>quantitative polymerase chain reaction</i> / ilościowa łańcuchowa reakcja polimerazy, łańcuchowa reakcja polimerazy w czasie rzeczywistym |
| RA | <i>rheumatoid arthritis</i> / reumatoidalne zapalenie stawów |
| RF | <i>rheumatoid factor</i> / czynnik reumatoidalny |
| RZS | <i>rheumatoid arthritis</i> / reumatoidalne zapalenie stawów |
| rpm | <i>rounds per minute</i> / obroty na minutę |
| SLE | <i>systemic lupus erythematosus</i> / toczeń rumieniowaty układowy |
| SELENA- SLEDAI | <i>Safety of Estrogens in Lupus Erythematosus National Assessment- Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index</i> / skala aktywności układowego tocznia rumieniowatego |

| | |
|---------------|---|
| SLAM-R | <i>Systemic Lupus Activity Measure, Revised</i> / uaktualniona skala oceny aktywności układowego toczenia rumieniowatego |
| SLICC | <i>Systemic Lupus International Collaborating Clinics</i> / Amerykańskie Stowarzyszenie Reumatologów i współpracujące kliniki zagraniczne |
| SNP | <i>single nucleotide polymorphism</i> / polimorfizm pojedynczego nukleotydu |
| STAT | <i>signal transducer and activator of transcription</i> / czynnik transkrypcyjny |
| TCR | <i>T-cell receptor</i> / receptor limfocytów T |
| TGF- β | <i>transforming growth factor beta</i> / transformujący czynnik wzrostu beta |
| TLR | <i>Toll-like receptor</i> / receptor Toll- podobny |
| TNF- α | <i>tumor necrosis factor alpha</i> / czynnik martwicy nowotworu alfa |
| TRAF | <i>TNF receptor-associated factor</i> / czynnik związany z receptorem dla TNF, element ścieżki sygnalowania |
| TRU | <i>systemic lupus erythematosus</i> / toczeń rumieniowaty układowy |
| UC | <i>ulcerative colitis</i> / wrzodziejące zapalenie jelita grubego |

1. WSTĘP

1.1 RYS HISTORYCZNY

1.1.1 Rys historyczny reumatoidalnego zapalenia stawów

Pierwsze dowody na występowanie reumatoidalnego zapalenia stawów (RZS) w historii ludzkości odnaleziono w Ameryce Północnej. Były to fragmenty szkieletów pochodzące sprzed ok. 4500 lat p.n.e., posiadające charakterystyczne dla RZS zmiany kostne. Podobnych zmian nie obserwowano w szczątkach ludzkich znajdujących w Europie czy Afryce północnej, co doprowadziło do powstania hipotezy mówiącej, że RZS pojawiło się w Europie dopiero po odkryciu Nowego Świata. Tej teorii przeczą opinie niektórych badaczy, którzy twierdzą, że opis objawów choroby mogącej odpowiadać RZS pojawił się już w pismach Hipokratesa. Ponadto niektórzy za dowód obecności choroby w Europie przytaczają dzieła malarstwa renesansowego obrazujące zmiany w przebiegu RZS [47].

Autorem pierwszego opisu RZS pochodzącego z 1800 roku jest Augustin Jacob Landré - Beauvais [100]. Wprowadzenie nazwy „rheumatoid arthritis” w 1859 roku przypisuje się brytyjskiemu reumatologowi sir Alfredowi Garrodowi. W leczeniu RZS stosowano rozmaite środki, począwszy od odpoczynku, zimnych okładów, witamin, głodówki, poprzez pokrzywę, jad pszczele, stosowanie miedzianych pierścieni, skończywszy na elektrowstrząsach [63]. Istotnymi wydarzeniami w rozwoju terapii były wynalezienie kwasu acetylosalicylowego przez Felixa Hoffmana, czy wprowadzenie do leczenia soli złota przez Jacques’a Forestier’a w 1929 roku [139].

1.1.2 Rys historyczny toczenia rumieniowatego układowego

Termin „lupus” (łac. *lupus* - wilk) pojawił się w pismach o charakterze medycznym w średniowieczu. Nie wiadomo dokładnie, dlaczego został on włączony do terminologii medycznej. Wg jednej z hipotez, nazwa „lupus” odnosiła się do zmian przypominających blizny po pogryzieniu przez wilka. Inna z teorii głosi, że zmiany określane terminem „lupus” miały charakter destrukcyjny i postępujący, metaforycznie agresywnie niczym wilk.

Początkowo słowo „lupus” pojawiło się w pierwszej klasyfikacji chorób skóry autorstwa Roberta Willana z 1790 roku. Wiliam Osler, w latach 1894-1904, jako jeden z pierwszych badaczy opisał układowy charakter tej choroby. W 1924 roku Emmanuel Libman wraz z Benjaminem Sacks’em? opisali przypadek pacjentki ze zmianami w osierdziu w przebiegu toczenia rumieniowatego układowego. Natomiast, w roku 1902 odnotowano obecność białkomoczu u połowy chorych (Sequeira, Balean), podczas gdy toczniowe zapalenie nerek zostało wyodrębnione w 1935 roku (Baehr, Klemperer, Schrifrin) [113]. W 1924 roku Klemperer i wsp. na podstawie obserwacji zmian histopatologicznych wprowadził termin „kolagenoza”- badacze sugerowali, że choroba wynika z tzw. martwicy włókienkowej spowodowanej zmia-

nami w budowie włókien kolagenu obecnych w tkance łącznej różnych narządów [113].

Wiek XX przyniósł znaczny postęp w diagnostyce toczenia rumieniowatego układowego. W 1906 roku Reinhart wskazał na występowanie fałszywie dodatniego wyniku testu Wassermana u chorych na TRU. W 1948 roku Hargraves, Morton i Richmond ogłosili, że komórki LE (makrofagi lub neutrofile, które sfagocytowały zawartość jądra komórkowego) występują we krwi pacjentów z TRU. Kolejnym etapem w rozwoju diagnostyki tej choroby było odkrycie przeciwciał przeciwjądrowych. Początkowo dowiedziono, że w surowicy krwi występuje czynnik odpowiedzialny za powstawanie w/w komórek LE, by w 1975 roku wykazać za pomocą techniki immunofluorescencji, że substancja absorbująca przeciwciała w jądrze komórkowym to połączenie kwasu nukleinowego z histonami [113]. Wreszcie, w tym samym roku, w surowicy krwi chorych na toczęń wykryto obecność przeciwciał reagujących z kwasem dezoksyrybonukleinowym. W 1969 roku Tan i wsp. udowodnili większą swoistość przeciwciał przeciwko dwuniciowemu DNA (tzw. natywny DNA), w odróżnieniu do przeciwciał przeciwko pojedynczej nici zdenaturowanego DNA [113].

1.2 DEFINICJA

1.2.1 Definicja reumatoidalnego zapalenia stawów

Reumatoidalne zapalenie stawów (RZS) (łac. *arthritis rheumatoidea*, ang. *rheumatoid arthritis*) jest przewlekłą chorobą zapalną, charakteryzującą się obrzękiem i tkliwością stawów, uszkodzeniem struktur je tworzących, prowadząca do ciężkiej niepełnosprawności i przedwczesnej śmiertelności. RZS zaliczane jest do grona chorób autoimmunizacyjnych i cechuje się obecnością autoprzeciwciał takich jak czynnik reumatoidalny (*rheumatoid factor*, RF) i przeciwciała przeciwko cytrulinowanemu peptydom (*anti-citrullinated protein antibody*, ACPA). Proces autoimmunizacyjny jest przyczyną destrukcyjnych zmian w zajętych stawach, co odróżnia RZS od innych chorób reumatycznych, jednak zmiany te mają charakter przewlekły i postępujący, dlatego rzadko są obserwowane we wczesnych stadiach choroby [3]. W 1983 roku RZS włączono na listę układowych chorób tkanki łącznej American Rheumatism Association (ARA) [139].

1.2.2 Definicja toczenia rumieniowatego układowego

Toczeń rumieniowaty układowy (TRU) (łac. *lupus erythematosus disseminatus*, ang. *systemic lupus erythematosus*) jest ogólnoustrojową chorobą autoimmunizacyjną o nieznaną dotąd etiologią. Według klasyfikacji ARA z 1983 roku, TRU jest zaliczany do układowych chorób tkanki łącznej [139]. Zajmuje on wiele narządów i tkanek, prowadząc do zróżnicowanego obrazu klinicznego, może przebiegać z okresami zaostrzeń i remisji. Cechą charakterystyczną TRU jest obecność w suro-

wicy pacjentów autoprzeciwciał, które są elementem mechanizmu patogenetycznego choroby i jednocześnie pełnią istotną rolę w diagnostyce [113].

1.3 EPIDEMIOLOGIA

1.3.1 Epidemiologia reumatoidalnego zapalenia stawów

W drugiej połowie XX wieku odnotowano spadek częstości zachorowań na RZS. Przyczyny tego zjawiska nie są do końca jasne. Uważa się, że zmiana stylu życia, postępujące uprzemysłowienie, rozwój higieny i związana z tym mniejsza ekspozycja na czynniki infekcyjne mogą być przyczyną tego zjawiska [51].

Obecnie w populacji europejskiej i północnoamerykańskiej zapadalność na RZS oceniana jest na 20-50 na 100 000 mieszkańców, a chorobowość 0,5-1,0 %. [176]. Znacznie wyższa chorobowość cechuje niektóre rdzenne plemiona Indian północnoamerykańskich (5,3-6,8 %), podczas gdy mniejsza jest charakterystyczna dla populacji azjatyckiej i południowoafrykańskiej (0,2-0,3 %) [149]. Analizy epidemiologiczne w Polsce wykazują, że na RZS choruje ok. 1% populacji dorosłej [85].

Najwięcej przypadków RZS odnotowuje się w grupie wiekowej 50-75 lat. Choroba występuje 2-4 razy częściej u kobiet, niż u mężczyzn, dlatego chorobowość w populacji żeńskiej w wieku powyżej 65 r.ż sięga 5 % [165]. Częstsze występowanie choroby u kobiet tłumaczy się stymulującym wpływem estrogenów na układ immunologiczny. Estrogeny hamują supresorowe limfocyty T oraz pobudzają limfocyty T pomocnicze [5]. Ponadto polimorfizm receptorów estrogenowych, znajdujących się m.in. na synowocytach i limfocytach T pamięci, jest czynnikiem ryzyka rozwoju RZS [167]. Poziom estradiolu jest wyższy, a poziom testosteronu i dehydroepiandrosteronu (DHEA) niższy wśród mężczyzn chorujących na RZS [170,171]. Ponadto, populację męską chorych cechuje późniejszy wiek zachorowania, częstsze występowanie czynnika reumatoidalnego oraz występowanie wyższych stężeń przeciwciał przeciwko cyklicznemu cytrulinowanemu peptydowi (anty-CCP) [80]. Śmiertelność wśród pacjentów z RZS jest ok. 1,5 większa niż w populacji ogólnej, a głównymi przyczynami zgonu są choroba wieńcowa oraz infekcje. Spośród czynników niekorzystnego rokowania wymienia się płęć męską, niski status socjoekonomiczny, długi czas trwania oraz wysoką aktywność choroby, wyrażaną przyspieszonym OB, zmianami w RTG lub wskaźnikiem DAS28, obecność wspólnego epitopu QKRAA, czynnika reumatoidalnego lub ACPA [77,154].

1.3.2 Epidemiologia tocznia rumieniowatego układowego

Na świecie zapadalność na TRU według różnych źródeł wynosi od 1 do 7,6 na 100 000 mieszkańców. W populacji europejskiej zapadalność waha się od 2,6 do 4,8 na 100 000 mieszkańców. Chorobowość na świecie wynosi 5,8- 130 chorych na 100 000 mieszkańców, a w populacji rasy kaukaskiej wynosi około 15-50 na 100 000 mieszkańców [135]. W Polsce, w 2012 roku odnotowano ok. 20 tys. cho-

rych na TRU [57]. W porównaniu do populacji kaukaskiej, najwięcej przypadków TRU występuje wśród Afroamerykanów oraz Azjatów, których cechuje częstsze występowanie objawów zajęcia nerek, serca, błon surowiczych, czy objawów hematologicznych czy neurologicznych [135]. TRU występuje najczęściej w 3. i 4. dekadzie życia, szczególnie u dorosłych kobiet, które wg różnych źródeł chorują od 4,3 do 13,6 razy częściej niż mężczyźni [61,169]. Za przyczynę tej różnicy uważa się stymulujący wpływ estrogenów na odpowiedź immunologiczną [43]. Wg Tan i wsp. u kobiet częściej występowały objawy skórne, nadwrażliwość na światło, owrzodzenia w jamie ustnej, łysienie, objaw Raynaud'a czy bóle stawów. Natomiast populację męską z TRU cechowało częstsze występowanie objawów neuropsychiatrycznych, hematologicznych, zajęcia błon surowiczych, zajęcia nerek czy zakrzepicy [169]. Średnia 5 letnia przeżywalność pacjentów z TRU w wielu krajach wynosi ponad 90 %, a wskaźnik 20- letniej przeżywalności szacuje się na 53- 61 %. Do czynników niekorzystnego rokowania należą zajęcie nerek i/lub płuc, trombocytopenia, wysokie stężenia przeciwciał przeciwko dsDNA, niska aktywność składowych dopełniacza, płeć męska, jak i niski status socjoekonomiczny [135]. Oprócz stopnia zaawansowania choroby podstawowej, infekcje oraz zmiany sercowo-naczyniowe są czynnikami zwiększającymi śmiertelność chorych na TRU.

1.4 OBRAZ KLINICZNY, DIAGNOSTYKA I LECZENIE

1.4.1 Obraz kliniczny, diagnostyka i leczenie reumatoidalnego zapalenia stawów

Pomimo, że u ponad połowy pacjentów (55-65 %), RZS jest chorobą rozwijającą się w sposób powolny i skryty, to choroba może ujawnić się w ciągu kilku tygodni (15-29 %) lub nawet kilku dni (8-15 %). Część pacjentów prezentuje nietypowy obraz choroby, pod postacią wędrującego, przemijającego zapalenia stawów (ang. *palindromic rheumatism*). Podczas gdy, szczególnie u pacjentów powyżej 65 r.ż., objawy choroby mogą przypominać polimialgię reumatyczną [139].

Pacjenci z RZS mogą zgłaszać objawy ogólne choroby takie jak zmęczenie, utratę wagi, stany podgorączkowe, czy depresję [146]. Dominujące objawy pochodzą z układu ruchu. Charakterystycznymi objawami zapalenia stawu są ból, obrzęk i sztywność poranna trwająca ponad pół godziny, spowodowana obecnością wysięku w torebce stawowej. Najczęściej choroba zajmuje stawy śródrečno-paliczkowe oraz międzypaliczkowe bliższe (91 %), nadgarstkowe (78 %), barkowe (65 %), kolanowe (64 %), skokowe (50 %), śródstopno-paliczkowe (43 %) i łokciowe (38 %). Najczęściej występuje zapalenie kilku stawów, ale wystąpić może również zapalenie jednego stawu, które może być jedyną manifestacją choroby, lub przekształcić się w zapalenie wielostawowe. [16]. Inne zmiany ze strony narządu ruchu to zmniejszenie gęstości mineralnej kości (osteopenia, osteoporoza), czy zaniki mięśniowe. Objawy te są niestety również częstym powikłaniem glikokortykosteroidoterapii stosowanej u tych chorych [139].

Oprócz zajęcia układu kostno stawowego pacjenci z RZS prezentują szereg objawów pozastawowych. W tkance podskórnej 20 % występują guzki reumatoidalne, które typowo są zlokalizowane w miejscach narażonych na ucisk, na kończynach, mogą one być obecne również w narządach wewnętrznych (płucach, sercu, ośrodkowym układzie nerwowym) czy w kościach. Ponadto często obserwuje się rumień dłoniowy i ścieńczenie skóry, podczas gdy objaw Raynaud'a występuje rzadko. Jako objaw zajęcia układu oddechowego często występuje choroba śródmiąższowa płuc, niekiedy prowadząca do rozwoju nadciśnienia płucnego, oraz zapalenie opłucnej, które u około 20 % chorych pojawia się równoległe z zapaleniem stawów. Chociaż zapalenie naczyń w RZS występuje rzadko, to jest groźną manifestacją choroby. Mniej spotykane objawy pozastawowe to zapalenie twardówki i nadtwardówki, zapalenie mięśnia sercowego, osierdzia, lub wsierdzia oraz choroba nerek pod postacią amyloidozy, zapalenia naczyń, lub jako powikłanie stosowania niesteroidowych leków przeciwzapalnych [16,146].

Autoprzeciwciała są istotną komponentą w obrazie tej choroby. Czynnikiem reumatoidalny (RF), czyli przeciwciało, najczęściej w klasie IgM, przeciwko części stałej immunoglobuliny IgG, obecny jest u ok. 80 % chorych. Jego swoistość dla RZS szacuje się na ok. 62 %, ponieważ występuje również w innych chorobach reumatycznych, chorobach zakaźnych, nowotworach, a także u osób zdrowych- częstość występowania wzrasta z wiekiem, występując nawet u 1/3 populacji po 70 r.ż. Natomiast przeciwciało przeciwko cyklicznemu cytrulinowanemu peptydowi (anty-CCP), będące jednym z ACPA wykorzystywanym najczęściej w praktyce klinicznej, wykrywa się u 70 % chorych posiadających RF oraz u 33 % pacjentów bez obecności RF w surowicy. Anty-CCP cechuje większa od RF swoistość dla RZS (97 % vs 62 %) [139]. Jego obecność może wyprzedzać kliniczne objawy choroby o wiele lat, ponadto chorych posiadających przeciwciała anty-CCP charakteryzuje większe ryzyko destrukcyjnej postaci choroby i mniejszy odsetek remisji [146]. Ponadto u chorych na RZS, jako wyraz uogólnionej reakcji zapalnej, odnotowuje się przyspieszenie OB, wzrost stężenia białka C-reaktywnego (CRP), fibrynogenu, czy a1-i a2-globulin [44].

W ustaleniu rozpoznania choroby stosuje się kryteria klasyfikacyjne opracowane w 2010 roku przez American College of Rheumatology/ European League Against Rheumatism (ACR/EULAR; tab. 1). Ocenie można poddać pacjentów, którzy: mają co najmniej jeden staw z pewnym klinicznie zapaleniem błony maziowej (obrzękami) oraz przyczyna zapalenia błony maziowej nie jest lepiej wytłumaczona przez inną chorobę. Uzyskanie powyżej 6 punktów pozwala zakwalifikować chorego jako mającego pewne rozpoznanie RZS [160].

Tabela 1. Kryteria klasyfikacyjne reumatoidalnego zapalenia stawów wg ACR/EULAR [160]

Table 1. ACR/EULAR rheumatoid arthritis classification criteria [160]

| | |
|---|---|
| Zajęcie stawów | |
| 1 duży staw | 0 |
| 2–10 dużych stawów | 1 |
| 1–3 małych stawów (z zajęciem lub bez zajęcia dużych stawów) | 2 |
| 4–10 małych stawów (z zajęciem lub bez zajęcia dużych stawów) | 3 |
| > 10 stawów (co najmniej jeden mały staw) | 5 |
| Testy serologiczne | |
| RF i anty-CCP nieobecne | 0 |
| niski poziom RF lub anty-CCP | 2 |
| wysoki poziom RF lub anty-CCP | 3 |
| Wskaźniki ostrej fazy | |
| prawidłowe wartości CRP i OB | 0 |
| nieprawidłowe wartości CRP lub OB. | 1 |
| Czas trwania zapalenia stawów | |
| < 6 tygodni | 0 |
| ≥ 6 tygodni | 1 |
| Kryteria klasyfikacyjne RZS: należy dodać punkty z kategorii A–D. Wartość > 6/10 pozwala zakwalifikować chorego jako mającego pewne RZS | |
| *stawy duże: stawy biodrowe, kolanowe, skokowe, barkowe, łokciowe; ** stawy małe: stawy nadgarstkowe, śródrečno-paliczkowe, z wyłączeniem stawu śródrečno-paliczkowego kciuka, międzypaliczkowe bliższe, staw międzypaliczkowy kciuka, stawy śródstopno-paliczkowe od drugiego do piątego; *** przy określaniu dużej liczby stawów można również uwzględnić: stawy skroniowo-żuchwowe, mostkowo-obojęzykowe i obojęzykowo-barkowe | |

Do najpopularniejszych wskaźników stosowanych w celu oceny aktywności RZS należy indeks aktywności choroby DAS (*Disease Activity Score*) oraz jego modyfikacja, DAS28. Wskaźnik ten uwzględnia takie parametry jak liczba stawów bolesnych, liczba stawów obrzękniętych, wartość OB, czy subiektywną ocenę stanu ogólnego dokonaną przez samego pacjenta. Wg EULAR za parametr niskiej aktywności choroby przyjmuje się wartość DAS <2,4 (lub DAS28 <3,2), natomiast remisję stwierdza się, gdy DAS wynosi <1,6 (lub DAS28 <2,6) [85]. Do oceny zmian w kośćcu obserwowanych na klasycznych zdjęciach RTG stosuje się czterostopniową skalę Steinbrockera oraz pięciostopniową skalę Larsena i Dale'a [139].

Ponieważ leczenie RZS powinno być rozpoczęte jak najwcześniej, aby zapobiec nieodwracalnym zmianom w zajętych narządach, stąd trwają poszukiwania biomarkerów diagnostycznych i prognostycznych w tej chorobie [139].

W terapii RZS stosowane są najczęściej glikokortykosteroidy z równoległym stosowaniem leków modyfikujących przebieg choroby (LMPCh). W okresach zaostrzeń zastosowanie mają też niesteroidowe leki przeciwzapalne a w przypadku nieskuteczności w/w terapii wdrażane jest leczenie antycytokinowe (tzw. leczenie biologiczne), których mechanizm działania jest związany z fragmentem Fc immunoglobuliny IgG. Wśród tych leków stosowane są najczęściej inhibitory czynnika

martwicy nowotworów alfa (*tumor necrosis factor alpha*, TNF- α), (m.in. infliksymab, etanercept, adalimumab), ale także p/ciało anty-CD20 czy też przeciwciała anty CD80/86 (np. rituximab, abatacept) [175]. Ponieważ leczenie to ma charakter objawowy, często obarczony groźnymi skutkami ubocznymi, stąd trwają poszukiwania innych sposobów hamowania procesu zapalnego w RZS, m.in. z zastosowaniem leków hamujących czynnik stymulujący limfocyty B (BLyS/BAFF), czy wpływających na receptory dla części stałej immunoglobuliny G (Fc γ R) [58,191].

1.4.2 Obraz kliniczny, diagnostyka i leczenie tocznia rumieniowatego układowego

Obraz kliniczny TRU jest bardzo różnorodny i zależy od zajęcia poszczególnych narządów. Objawy takie jak ogólne osłabienie, utrata masy ciała, gorączka występują u 50-70 % tych chorych. U większości pacjentów (80-90 %) odnotowuje się obecność ostrych, podostrych, lub przewlekłych zmian skórnych, owrzodzeń w jamie ustnej czy utraty włosów. U ok. 70 % chorych występuje nadwrażliwość na światło ultrafioletowe (UVB, rzadziej UVA). U chorych na TRU zapalenie stawów jest bardzo częste (80-90 %) i najczęściej przebiega pod postacią symetrycznego zapalenia stawów kolanowych, nadgarstkowych, lub drobnych rąk, które w większości przypadków nie ulegają destrukcji powierzchni stawowej. W wyniku zapalenia tkanek okołostawowych mogą powstawać deformacje (podwichnięcia, „palce butonierkowe”, typu „łabędziej szyjek”). Inne manifestacje zajęcia układu kostno-stawowego to bóle mięśni czy jałowa martwica kości. Objawy choroby nerek występują u około 50 % pacjentów. Wg kryteriów klasyfikacyjnych TRU dowodem na zajęcie nerek są białkomocz $> 0,5$ g/dobę, obecność wałeczków erytrocytowych w osadzie moczu, lub obraz toczniowego zapalenia nerek w biopsji nerki (tab. 2). Zajęcie układu oddechowego występuje najczęściej pod postacią zapalenia opłucnej u 30-60 % chorych. Natomiast rzadziej spotykane jest toczniowe zapalenie płuc, nadciśnienie płucne, rozlane krwawienie pęcherzykowe, lub tzw. zespół obkurczonych płuc (*shrinking lung syndrome*). Do objawów dotyczących układu krążenia należą zapalenie osierdzia (ok. 20-30 % pacjentów) oraz jałowe zapalenie wsierdzia (typu Libmana- Sacksa). Również choroba wieńcowa występuje częściej u chorych na TRU. Postać neuropsychiatryczna tocznia dotyczy 40-60 % pacjentów [139,210]. Również zaburzenia hematologiczne, jak niedokrwistość autoimmunohemolityczna, leukopenia, limfopenia lub trombocytopenia, są częste u chorych na TRU. Objawy dotyczące układu pokarmowego występują u około połowy chorych i są bardzo różnorodne. Mogą być związane z przebiegiem choroby (np. toczniowe zapalenie wątroby, enteropatia z utratą białka), lub są skutkiem leczenia immunosupresyjnego (np. choroba wrzodowa żołądka i dwunastnicy) [16].

Istotną rolę w diagnostyce i monitorowaniu aktywności choroby pełnią badania serologiczne. Obecność przeciwciał przeciwjądrowych (*antinuclear antibodies*, ANA) stwierdza się w surowicy 95-99 % chorych. Najczęściej występującym (u 60 % chorych) i najważniejszym w diagnostyce jest przeciwciało przeciwko dwuniciowemu DNA (anty-dsDNA) [16]. Natomiast w celu monitorowania aktywności cho-

roby stosuje się oznaczenia stężeń składowych dopełniacza (C3, C3a, C3d, C4, C5a) w surowicy [44]. Również badania histologiczne i immunohistochemiczne są wykorzystywane w diagnostyce TRU [113].

W ustaleniu rozpoznania tej choroby pomocne są kryteria klasyfikacyjne ogłoszone w 2012 roku przez grupę Systemic Lupus International Collaborating Clinics (SLICC; tab. 2) [134]. Do rozpoznania TRU konieczne jest spełnienie co najmniej 4 kryteriów, mogących występować różnocozasowo, w tym co najmniej jednego kryterium klinicznego i jednego immunologicznego. Rozpoznanie można postawić również na podstawie obecności cech toczniowego kłębkowego zapalenia nerek w biopsji nerki przy jednoczesnym występowaniu ANA i/lub przeciwciał anty-dsDNA [113].

Tabela 2. Kryteria klasyfikacyjne tocznia rumieniowatego układuowego wg SLICC [113]

Table 2. SLICC systemic lupus erythematosus classification criteria [113]

| Kryteria kliniczne |
|--|
| ostra lub podostra postać skórna tocznia (m.in. rumień na twarzy, nadwrażliwość na światło słoneczne) |
| przewlekła postać skórna tocznia (m.in. klasyczny rumień krążkowy) |
| owrzodzenia błony śluzowej jamy ustnej lub jamy nosowej |
| łysienie bez pozostawiania blizn |
| zapalenie dwóch lub więcej stawów |
| zapalenie błon surowiczych |
| zmiany w nerkach (białkomocz powyżej 0,5 g na dobę, lub wałeczki erytrocytarne w moczu) |
| zmiany neurologiczne (m.in. napady drgawek, zaburzenia psychiczne, neuropatie, ostre zaburzenia świadomości) |
| niedokrwistość hemolityczna |
| leukopenia (<4000/mm ³) lub limfopenia (<1000/mm ³) |
| trombocytopenia (<100 000/mm ³) |
| Kryteria immunologiczne |
| przeciwciała przeciwjądrowe |
| przeciwciała anty ds-DNA |
| przeciwciała anty-Sm |
| przeciwciała antyfosfolipidowe (antykoagulant toczniowy, fałszywie dodatni wynik oznaczania reagin osoczowych, przeciwciała antykardiolipinowe, przeciwciała przeciwko β2- glikoproteinie I) |
| zmniejszone stężenia składowych dopełniacza (C3, C4 lub niska aktywność CH50) |
| Aktywność choroby monitorowana jest za pomocą skal oceny aktywności TRU. Najpopularniejszą z nich jest skala <i>Safety of Estrogens in Lupus Erythematosus Na-</i> |

tional Assessment- Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index (SELENA-SLEDAI) [133]. W tej skali istnieje możliwość oceny zaostrzeń choroby jako niewielkie (zmiana ≥ 3 punktów) lub ciężkie (zmiana ≥ 12 punktów). Umownie, aktywność choroby wg skali SELENA-SLEDAI klasyfikuje się jako niską (< 6 punktów), umiarkowaną (7-12 punktów) lub wysoką (>12 punktów) [113]. Inne ważne skale oceny to: *British Isles Lupus Assessment Group* (BILAG), *Systemic Lupus Activity Measure, Revised* (SLAM-R), *European Consensus Lupus Activity Measure* (ECLAM) [9,65].

Ponieważ naturalny przebieg TRU cechuje występowanie okresów remisji i zaostrzeń, leczenie jest uzależnione od aktywności choroby oraz od zmian narządowych. W zaostrzeniach stosowane są glikokortykosteroidy, niesteroidowe leki przeciwzapalne, a także inne leki immunosupresyjne [139]. W leczeniu opornych na standardowe leczenie postaci choroby zastosowanie znajdują immunoglobuliny podawane dożylnie, plazmaferezy oraz leki biologiczne, jak belimumab, który jest przeciwciałem monoklonalnym hamującym BLys/BAFF [113]. Podobnie jak w RZS, trwają obecnie próby poszukiwania innych bardziej przyczynowych terapii.

1.5 ETIOPATOGENEZA

1.5.1 Etiopatogeneza reumatoidalnego zapalenia stawów

Patogeneza RZS jest złożona i jak dotąd nie do końca poznana. Uważa się, że u osób predysponowanych genetycznie, czynniki środowiskowe indukują rozwój tej choroby. Prawdopodobnie, rozwój choroby rozpoczyna się na kilka lat przed ujawnieniem się jej manifestacji klinicznych, czego dowodem jest występowanie przeciwciał ACPA średnio 3 lata przed wystąpieniem objawów RZS [51]. Podkreśla się szczególnie odmienną jego seropozytywnej i seronegatywnej postaci [68].

1.5.1.1 Czynniki genetyczne

Wpływ czynników genetycznych na rozwój RZS znajduje potwierdzenie w zwiększonym prawdopodobieństwie (od 15 do 50 %) zachorowania wśród bliźniąt jednojajowych, niż dwujajowych [139]. Najistotniejszy wpływ na rozwój choroby przypisuje się genom *HLA-DR4*, występującym u 70-96 % chorych na RZS. Predyspozycja do RZS związana jest z fragmentem od 70 do 74 aminokwasu trzeciego nadzmiennego obszaru łańcuchów DB β , czyli z tzw. wspólnym epitopem o sekwencji glutaminan-leucyna-arginina-alanina-alanina (QKRAA). Do zachorowania predysponuje sekwencja QRRAA (glutaminan-argininia-arginina-alanina-alanina) lub KRRAA (leucyna-argininia-arginina-alanina-alanina). Łańcuchy DR4 β zawierające te sekwencje to odpowiednio: DRB*0401, DRB*0404, DRB*0101, DRB*1402. Fragment QKRAA nie odpowiada bezpośrednio za wiązanie antygeny, dlatego jego rola w rozwoju choroby może być związana z wpływem na proces dojrzewania limfocytów T w grasicy lub wpływem na samą prezentację antygeny.

Obecność wspólnego epitopu QKRAA związana jest z cięższym przebiegiem choroby oraz jej pozastawowymi manifestacjami [51,139]. Również modyfikacje genów spoza układu HLA są związane z predyspozycją do zachorowania na RZS. Do najważniejszych należą: polimorfizm genu fosfatazy tyrozynowej (*protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 22*, PTPN22) hamującej aktywację limfocytów T i B oraz polimorfizm dezaminazy argininy w peptydach (*peptidyl arginine deiminase*, PADI), odpowiadającej za posttranslacyjną przemianę argininy w cytrulinę, której izoforma PADI4 wiąże się z zachorowaniem na RZS w populacji azjatyckiej [197]. Inne polimorfizmy genów związane z regulacją odpowiedzi immunologicznej w RZS obejmują: polimorfizm w rejonie promotorowym genu TNF- α , genach kodujących interleukinę 1 (IL-1) oraz antagonistę receptora IL-1 (IL-1Ra), białko kostymulujące CTLA4 (*cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4*) lub polimorfizmy w elementach wewnątrzkomórkowych ścieżek sygnałowych TRAF1 (*TNF receptor-associated factor 1*) i STAT4 (*signal transducer and activator of transcription 4*) [159]. Również polimorfizmy genów *FCGR2A*, *FCGR2B* i *FCGR3A* kodujących receptory dla fragmentu Fc immunoglobuliny G (Fc γ R) mają związek z zachorowaniem i przebiegiem RZS [26,90,103,140,172].

1.5.1.2 Czynniki epigenetyczne

W RZS odnotowano zaburzenia w epigenetycznej kontroli ekspresji genów, m.in. dla prozapalnej interleukiny-6 (IL-6). Hipometylacja w rejonie promotorowym genu tej cytokiny odpowiada za zwiększoną jej produkcję [124]. Również mikro RNA (miRNA) reguluje produkcję tej cytokiny w RZS. Zmniejszona ekspresja miRNA-124a i zwiększona miRNA-203 odpowiadają za nasiloną syntezę chemokiny MCP-1 (*monocyte chemoattractant protein-1*), IL-6 i metaloproteinaz, które nasilają proces zapalny w zajęтым narządzie [51].

1.5.1.3 Czynniki środowiskowe

Palenie tytoniu jest najistotniejszym czynnikiem środowiskowym związanym z zachorowaniem na seropozytywną postać RZS. W popłuczynach oskrzelowych pochodzących od palaczy tytoniu odnotowano zwiększone stężenie cytrulinowanych peptydów, których obecność może stymulować nieswoistą odpowiedź immunologiczną oraz powstawanie przeciwciał ACPA.

Predyspozycja do zachorowania wzrasta nawet 40-krotnie u palaczy posiadających dwie kopie wspólnego epitopu QKRAA, co jest dowodem na współdziałanie genów i czynników środowiskowych w wywoływaniu choroby [86]. Sugeruje się również udział czynników infekcyjnych w patogenezie choroby. U większości pacjentów z RZS stwierdza się obecność DNA bakterii z grupy *Acinetobacter* i *Bacillus* w synowium, podczas gdy bakterie z rodzaju *Mycoplasma* i *Chlamydia* nieobecne w błonie maziowej stawów indukują powstawanie przeciwciał IgG przeciwko tym patogenom. Ponadto podkreśla się związek RZS z chorobą przyzębia,

wywoływaną przez *Porphyromonas gingivalis*, który dzięki ekspresji PADI4 wywołuje cytrulinację białek [115].

Również wirusy mogą przyczyniać się do rozwoju choroby, szczególnie wirus Ebstein-Barr'a, który z powodu homologii własnych białek (glikoproteiny gp110) do sekwencji wspólnego epitopu QKRAA może aktywować odpowiedź immunologiczną w mechanizmie mimikry molekularnej. Rozważany jest także związek infekcji Parwowirusem B19, wirusem różyczki (lub szczepionki przeciwko różyczce), cytomegalowirusem (CMV) czy wirusem *herpes simplex* z rozwojem zapalenia stawów w RZS [51].

1.5.1.4 Aktywacja układu odporności nieswoistej w RZS

Monocyty/makrofagi, jako jedne z głównych komórek biorących udział w patogenezie RZS, są obecne w zwiększonej ilości w stawach chorych, co może być spowodowane ich zwiększoną chemotaksją, upośledzoną apoptozą lub nawet lokalną proliferacją. Dotyczy to zwłaszcza wykazującej ekspresję FcγIIIa (CD16) populacji CD14^{low}CD16⁺, którą charakteryzuje zdolność do wytwarzania znacznych ilości TNF-α [58]. Podkreśla się również aktywację TLR (*Toll-like receptor*) 2 i 4 na makrofagach CD14^{low}CD16⁺ oraz fibroblastach przez endogenne ligandy, do których należą m.in. białko szoku termicznego (*heat shock protein*, HSP) 22, tenascyna-c, białko HMGB1 (*high-mobility group box chromosomal protein-1*), amyloid A, fragmenty kwasu hialuronowego, czy glikoproteina 96 (gp96) [58]. Makrofagi, biorąc udział w prezentacji antygenów, fagocytozie i wytwarzając znaczne ilości cytokin (m.in. TNF-α, IL-1, IL-6, IL-12, IL-15, IL-18, IL-23), rodników hydroksylowych, enzymów degradujących macierz zewnątrzkomórkową zapoczątkowują i nasilają zapalenie błony maziowej w RZS [115].

Również neutrofile wytwarzają znaczne ilości reaktywnych form tlenu, prostaglandyn, proteaz, m.in. w reakcji na związanie kompleksów immunologicznych przez obecne na powierzchni tych komórek receptory FcγRIIa i FcγRIIb. Ponadto, neutrofile wpływają na inne komórki układu immunologicznego poprzez bezpośredni kontakt, produkcję cytokin oraz tworzenie zewnątrzkomórkowej sieci neutrofilów (*neutrophil extracellular trap*, NET) w procesie NETozy [130].

W synowium chorych na RZS odnotowano zwiększone stężenie białka NALP3 (inaczej kriopiryny) oraz kaspazy 1, elementów tworzących tzw. inflamasom, powstały w odpowiedzi na stymulację receptorów TLR. Jego funkcją jest przemiana pro-IL-1β oraz pro-IL-18 do form aktywnych tych prozapalnych cytokin [58].

1.5.1.5 Aktywacja układu odporności swoistej w RZS

W stawach zajętych procesem chorobowym zaobserwowano zwiększony odsetek komórek dendrytycznych pochodzenia szpikowego (*myeloid dendritic cell*, mDC) w stosunku do komórek pochodzenia limfoidalnego (komórki plazmacytoidalne, *plasmacytoid dendritic cells*, pDC). Komórki pDC, produkujące m.in.

BLys/BAFF, IL-18, INF α , mogą pośrednio odpowiadać za zwiększoną produkcję autooprzeciwciał, indukując różnicowanie i aktywację komórek plazmatycznych [58]. Natomiast obecność komórek mDC z receptorem Fc γ RIIb o podwyższonej ekspresji koreluje z niższą aktywnością choroby poprzez hamujący wpływ na proliferację limfocytów T i ich różnicowanie w kierunku subpopulacji regulatorowej (Treg) [192].

Również limfocyty pomocnicze Th17 odgrywają istotną rolę w patogenezie RZS. Ich różnicowanie jest promowane przez TGF- β (*transforming growth factor beta*), IL-1 β , IL-6, IL-21, IL-23, wytwarzane przez makrofagi i komórki dendrytyczne. Komórki Th17, produkując znaczne ilości cytokin takich jak IL-17, IL-6, IL-21, IL-22 i TNF- α , aktywują synowioocyty, fibroblasty i osteoklasty, działają chemotaktycznie na neutrofile i monocyty, powodują wytwarzanie kolejnych cytokin (CXCL8, CCL2, CCL20), przyczyniając się do rozwoju przewlekłego stanu zapalnego, uszkodzenia tkanki chrzęstnej i kostnej [7].

Limfocyty B w RZS pełnią funkcję komórek prezentujących antygen oraz wytwarzają znaczne ilości prozapalnych cytokin m.in. TNF- α , IL-6 oraz limfotoksyny β . Ponadto, razem z komórkami plazmatycznymi są głównym źródłem autooprzeciwciał [115].

1.5.1.6 Autooprzeciwciała i autoimmunizacja w RZS

W RZS zidentyfikowano wiele autooprzeciwciał biorących udział w patomechanizmie tej choroby. Jednak nie jest jasne, czy przyczyniają się one do inicjacji procesu autoimmunizacyjnego, czy powstają w trakcie toczącej się już reakcji autozapalnej [51]. Oprócz głównych autooprzeciwciał obecnych u tych chorych, takich jak RF czy przeciwciała anti-CCP, w patogenezie RZS postuluje się udział przeciwciał przeciwko m.in. kolagenowi typu II, glikoproteinie gp39, izomerazie glukozo-6-fosforanowej (*glucose-6-phosphate isomerase*, GPI), przeciwciała przeciwko antygenom jądrowym (anty-RA 33), lub przeciwko ludzkim białkom szoku termicznego HSP40, HSP70 lub HSP65 prątka gruźlicy [51,85,182]. Kompleksy immunologiczne (KI) formowane przez w/w przeciwciała są obecne w dużych ilościach w synowium oraz chrząstce stawowej chorych. KI po przyłączeniu do obecnych na neutrofilach i makrofagach receptorów Fc γ IIa i Fc γ IIIa aktywują te komórki, powodują zwiększone wytwarzanie cytokin (TNF- α , IL-1 β) przyczyniając się do nasilenia procesu zapalnego i destrukcji synowium. Proces ten jest dodatkowo wspomagany przez aktywowane przez KI składowe układu dopełniacza, które wydają się być kluczowym elementem fazy efektorowej procesu zapalnego [58]. W surowicy i płynie stawowym chorych odnotowuje się podwyższone stężenie składowej C5a, odpowiadającej za chemotaksję neutrofilów i zwiększoną przepuszczalność naczyń. Podczas gdy w płynie stawowym, ma miejsce zmniejszona koncentracja składowych C3 i C4, w wyniku toczącego się aktywnego procesu aktywacji komplementu. Również w surowicy i płynie stawowym występuje w zwiększonym stężeniu tzw. kompleks atakujący błonę (*membrane attack complex*, MAC, C5b-9), który oprócz klasycznego działania litycznego, pobudza fibroblasty obecne w błonie maziowej [58]. Ponad-

to fibroblasty i makrofagi wykazują ekspresję receptora C5aR dla wspomnianej wcześniej składowej C5a, która w pozytywny sposób koreluje z aktywnością choroby wyrażoną zwiększonymi obrzękami stawowymi oraz podwyższonym poziomem OB i CRP [200]. W wyniku postępującej destrukcji tkanek uwalniane zostają cząsteczki budujące macierz pozakomórkową, które również posiadają zdolność aktywacji dopełniacza jeszcze bardziej nasilając proces zapalny [58].

1.5.2 Etiopatogeneza tocznia rumieniowatego układowego

1.5.2.1 Czynniki genetyczne

Predyspozycja genetyczna jest istotnym czynnikiem w rozwoju tej choroby, co potwierdzają obserwacje bliźniąt jednojajowych i dwujajowych, posiadające odpowiednio 34 % i 3 % ryzyko rozwoju choroby [158]. Mutacje dotyczą wielu elementów wchodzących w skład mechanizmu patogenetycznego rozwoju TRU. Defekt genów kodujących składowe dopełniacza (*C1Q*, *C1R/C1S*, *C2*, *C4A*, *C4B*, *CFHR1*, *CFHR3*, *CR2*) lub receptory $Fc\gamma$ (*FCGR2A*, *FCGR2B*, *FCGR3A*, *FCGR3B*) skutkuje zaburzeniem usuwania kompleksów immunologicznych i ciał apoptotycznych. Inne mutacje, m.in. w genach *TREX1*, *DNASE1* i *DNASE1L3* przyczyniają się do upośledzonej degradacji kwasów nukleinowych. Ponadto mutacje genów *IRF5/7*, *TLR7/8*, *UBE2L3*, *ETSI*, *ACP5*, odpowiadające za ekspresję receptorów TLR oraz szlak aktywacji interferonu-alfa (IFN- α) przyczyniają się do zwiększonej jego produkcji w tej chorobie. Mutacje dotyczące składowych szlaku sygnałowego NF κ B (*IRAK1*, *TNFAIP3*, *SLC15A4*, *PRKCB*) oraz regulujące wytwarzania cytokin (*IL10*, *IL21*) zostały zidentyfikowane także w TRU. Ponadto, istnieje szereg mutacji związanych z funkcją poszczególnych komórek układu immunologicznego, takich jak monocytów i neutrofilów (gen *ITGAM*), limfocytów B (w genach *BLK*, *BANK1*, *IKZF1*), limfocytów T (w genach *PTPN22*, *TNFSF4*, *STAT4*, *CD247*). Udowodniono również związek MHC, głównie klasy II (*HLA-DRB1*, *DR3*) z zachorowaniem na TRU [37].

1.5.2.2 Czynniki epigenetyczne

Mechanizmy epigenetyczne mające wpływ na rozwój TRU są związane z metylacją DNA, modyfikacją histonów oraz z mikroRNA. U chorych na TRU obserwuje się hipometylację DNA limfocytów T, która powoduje zwiększoną transkrypcję wielu genów (m.in. związanych z produkcją IFN- α), co koreluje z aktywnością tej choroby [35,207]. Hipometylację wywołują m.in. promieniowanie ultrafioletowe oraz niektóre leki (np. prokainamid, hydralazyna), wywołujące toczną polekwoy. Natomiast zwiększona acetylacja histonów nasila transkrypcję DNA co zaobserwowano w monocytach chorych na TRU. Stwierdzono także, że za zahamowanie ekspresji genów (m.in. *IRF5*, *STAT-1*, *TLR7*) na poziomie translacji odpowiada zaburzona ekspresja niektórych miRNA w tej chorobie [37].

1.5.2.3 Czynniki środowiskowe

Infekcje, promieniowanie UV oraz substancje chemiczne są najważniejszymi czynnikami wpływającym na rozwój TRU. Wykryto zwiększoną ilość kopii DNA wirusa EBV u chorych, szczególnie prezentujących postać skórno- stawową [204]. Ponadto, niektóre szczepienia (m.in. przeciwko grypie, WZW B) u osób predysponowanych genetycznie mogą przyczyniać się do rozwoju tej choroby. Promieniowanie UVA2 i UVB poprzez uszkodzanie nici DNA oraz indukcje apoptozy prowadzi do rozwoju lokalnej i systemowej odpowiedzi autoimmunizacyjnej [205]. Podczas gdy, unikanie promieniowania UV wiąże się z niskim stężeniem witaminy D3, które koreluje z wyższą aktywnością choroby [15]. Niektóre leki, m.in. hydralazyna, procainamid, izoniazid, metyldopa, minocyklina, chlorpromazyna, IFN- α czy inhibitory anty-TNF- α , w różnym mechanizmie wywołują zaburzenia odpowiedzi immunologicznej w TRU. Przykładem może być toczeń indukowany lekami (*drug-induced lupus*), który przebiega łagodnie z zajęciem stawów i skóry oraz z obecnością przeciwciał przeciw histonom i przeciwciał anty-Ro [205].

1.5.2.4 Aktywacja układu odporności nieswoistej w TRU

Kluczowym elementem mechanizmu patogenetycznego TRU jest reakcja przeciwko własnym tkankom, która rozwija się w przebiegu stymulacji układu immunologicznego przez autoantygeny uwalniane w procesie apoptozy, nekrozy lub aktywnej śmierci neutrofilów (NETozy). W przebiegu apoptozy dochodzi do licznych modyfikacji autoantygenów, m.in. w procesie (de)metyzacji, (de)fosforylacji, ubikwitynacji, ADP-rybozylacji czy transglutaminacji. W TRU ma miejsce nasilona apoptoza komórek i/lub upośledzone ich usuwanie, spowodowane m.in. zaburzoną funkcją makrofagów ze zmniejszoną ilością receptorów dla dopełniacza CR1, dysfunkcją receptorów Fc γ R, co prowadzi do uwolnienia w/w zmodyfikowanych autoantygenów z ciał apoptotycznych [121]. Natomiast w procesie NETozy neutrofile uwalniają DNA z jądra komórkowego, które wraz z zawartością ziarnistości cytoplazmy (zawierających m.in. białka przeciwbakteryjne LL37 i HNP) tworzą zewnątrzkomórkową sieć neutrofilów (NET), służącą w warunkach fizjologicznych do eliminacji różnych patogenów [24]. IFN- α , którego stężenie w TRU jest podwyższone promuje tworzenie NET przez neutrofile w reakcji na autoprzeciwciała anty-RNP. Również granulocyty o niskiej gęstości (*low-density granulocytes*, LDG) obecne w TRU spontanicznie ulegają procesowi NETozy [36]. Udowodniono, że przyłączenie krążącego KI przez Fc γ RIIa prowadzi do uwolnienia NET przez neutrofile, z kolei KI połączony z Fc γ RIIIb zostaje usunięty bez dalszej indukcji odpowiedzi immunologicznej [32].

W wyniku defektu apoptozy i NETozy dochodzi do gromadzenia autoantygenów, które są rozpoznawane przez receptory TLR jako tzw. wzorce molekularne związane z uszkodzeniem (*danger-associated molecular pattern*, DAMP). Po zinternalizowaniu (m.in. za pomocą receptora Fc γ R) pochodzącego z rozpadłego jądra komórkowego fragmentu kwasu nukleinowego dochodzi do jego połączenia z recep-

torem TLR w tzw. wczesnym endosomie niedojrzałej mieloidalnej komórki dendrytycznej (*myeloid dendritic cell*, mDC). Proces ten skutkuje powstaniem dojrzałej mDC wytwarzającej IL-1, IL-6, TNF- α oraz wykazującej ekspresję MHC, CD86 i CD40, w kontekście których mDC prezentuje zmodyfikowane autoantygeny limfocytom T, prowadząc do ich aktywacji i polaryzacji w kierunku subpopulacji Th1 i Th17 [21]. Również niedojrzałe plazmacytoidalne komórki dendrytyczne (*plasmacytoid dendritic cells*, pDC) po aktywacji receptora TLR-9 wytwarzają znaczne ilości IFN- α , będąc głównym źródłem tej cytokiny w TRU [37]. Z kolei TLR obecne w tzw. późnych endosomach, po przyłączeniu fragmentów jąder komórkowych prowadzą do aktywacji czynników transkrypcyjnych NF- κ B lub MAPK, co przyczynia się do wytwarzania dużych ilości cytokin prozapalnych (IL-6, IL-12, TNF- α , BLYS/BAFF) aktywując swoistą odpowiedź immunologiczną w TRU. Ponadto, receptor BCR obecny na autoreaktywnych komórkach B może przyłączać fragmenty rozpadłych komórek, co prowadzi do aktywacji komórki i ekspresji receptorów dla BLYS/BAFF m.in. TACI (*transmembrane activator and calcium modulator ligand interactor*) [110].

1.5.2.5 Aktywacja układu odporności swoistej w TRU

W TRU odnotowano zaburzenia aktywacji limfocytów T. Jedną z przyczyn jest polimorfizm genów kodujących cząsteczki MHC, prowadzący do zaburzonej prezentacji autoantygenów limfocytom T przez komórki prezentujące antygen (*antigen presenting cells*, APC) [omówiono w [37]. Ponadto obwodowe limfocyty T u pacjentów z TRU cechuje zaburzenie aktywacji komórki spowodowane dysfunkcją kompleksu receptora TCR (*T-cell receptor*). Jego przyczyną jest ograniczona ekspresja łańcucha zeta ζ (CD3- ζ), co prowadzi do jego zastąpienia przez homologiczny łańcuch Fc γ receptora dla IgE (Fc ϵ RI), który łącząc się z kinazą tyrozynową SYK (w odróżnieniu od łańcucha ζ aktywującego kinazę ZAP70) aktywuje szlak sygnałowy prowadzący do zwiększonej produkcji IL-17, a zmniejszenia syntezy IL-2 [48]. Zaburzony stosunek pomiędzy limfocytami Th17 a limfocytami regulatorowymi (Treg) został zaobserwowany w TRU. Mogą się do tego przyczyniać wspomniane powyżej zwiększone stężenie produkowanej przez mDC IL-6, niezbędnej do różnicowania limfocytów w kierunku fenotypu Th17 oraz zahamowanie syntezy IL-2, która wraz z TGF- β prowadzi do rozwoju limfocytów Treg [144]. Również obecne m.in. w nerkach chorych na TRU podwójnie negatywne limfocyty CD3⁺CD4⁻CD8⁻ produkują duże ilości IL-17, działając chemotaktycznie i wzmagając lokalny proces zapalny [38]. W TRU zwiększona jest również populacja krążących pęcherzykowych pomocniczych limfocytów T (*follicular T helper*, T_{FH}), które stymulują dojrzewanie antygenowo-specyficznych limfocytów B [110].

W TRU zaburzona jest negatywna selekcja autoreaktywnych limfocytów B w ośrodkach rozmnażania grudek chłonnych [125]. Przyczyniać się to może zwiększona stymulacja przez limfocyty pomocnicze, defekt w przekazywaniu sygnału lub nadmiar autoantygenów pochodzących z zaburzonego procesu apoptozy [110]. Również zmniejszona ekspresja hamującego receptora Fc γ RIIb na limfocy-

tach B przyczynia się do rozwoju choroby w eksperymentalnych modelach TRU [25,156]. Pomimo, że ilość krążących limfocytów B jest obniżona, to jest zwiększona ilość autoreaktywnych komórek pamięci oraz komórek plazmatycznych osiadłych w szpiku i centrach rozmnażania w zajętych narządach, które dzięki stymulacji, m.in. przez BLys/BAFF, APRIL, IL-6, TGF- β , VCAM, nie wykazują dopowiedzi na leczenie immunosupresyjne, w tym w/w leki blokujące komórki B [110,113]. Długo żyjące komórki plazmatyczne wraz komórkami preplazmatycznymi wytwarzają znaczne ilości autoprzeciwciał obecnych w TRU [113].

1.5.2.6 Autoprzeciwciała i autoimmunizacja w TRU

Do tej pory w TRU zidentyfikowano około 180 rodzajów autoprzeciwciał, spośród których wiele występuje również w innych schorzeniach [198]. Klasycznie, za przeciwciała charakterystyczne dla TRU uważa się przeciwciała przeciwko dwuniciowemu DNA (anty-dsDNA) oraz anty-Smith (Sm) [113]. Niektóre rodzaje przeciwciał korelują obrazem choroby: anty-Smithanty-RNP z zajęciem nerek, anty-Ro i anty-La z zespołem Sjögrena, przeciwciała antyfosfolipidowe z zakrzepicą. Przeciwciała przyczyniają się do uszkodzenia komórek i tkanek formując krążące lub osiadłe w tkankach KI, aktywujące składowe układu dopełniacza, które tworzą MAC lub indukują inne komórki układu odpornościowego [113,198]. Ponadto autoprzeciwciała łącząc się z elementami komórki docelowej powodują jej fagocytozę, lub wywołują reakcję cytotoksyczności komórkowej zależnej od przeciwciał (*antibody dependent cell cytotoxicity*, ADCC) za pośrednictwem obecnych na komórkach efektorowych (monocytach, makrofagach, neutrofilach, komórkach NK) receptorów Fc γ R [125].

1.6 RECEPTORY FC γ

1.6.1 Budowa, lokalizacja i funkcja receptorów Fc γ

Receptory dla części stałej immunoglobuliny G (Fc γ R), razem z receptorami dla IgE (Fc ϵ RI i Fc ϵ R2), IgA (Fc α RI i Fc α / μ R) i IgM (Fc α / μ R), wchodzi w skład grupy receptorów dla immunoglobulin (Ig). Istnieją trzy podklasy Fc γ R: Fc γ RI (CD64), Fc γ R2 (CD32), Fc γ R3 (CD16), a każda z nich (z wyjątkiem Fc γ RI) posiada dwie lub trzy izoformy (odpowiednio Fc γ R2a, Fc γ R2b, Fc γ R2c, Fc γ R3a, Fc γ R3b). Geny kodujące te receptory (oznaczone symbolami odpowiednio: *FCGR1*, *FCGR2A*, *FCGR2B*, *FCGR2C* oraz *FCGR3A*, *FCGR3B*) są zlokalizowane na chromosomie 1q23–24 [78,108].

Ekspresja Fc γ R jest cechą wielu komórek układu immunologicznego. Fc γ RI występuje w sposób konstytucjonalny na monocytach, makrofagach oraz komórkach dendrytycznych, natomiast w wyniku aktywacji pojawia się również na neutrofilach i eozynofilach. Monocyty, makrofagi i neutrofile cechuje również ekspresja receptora Fc γ R3a. W odróżnieniu od niego receptor Fc γ R2b jest obecny głównie na mono-

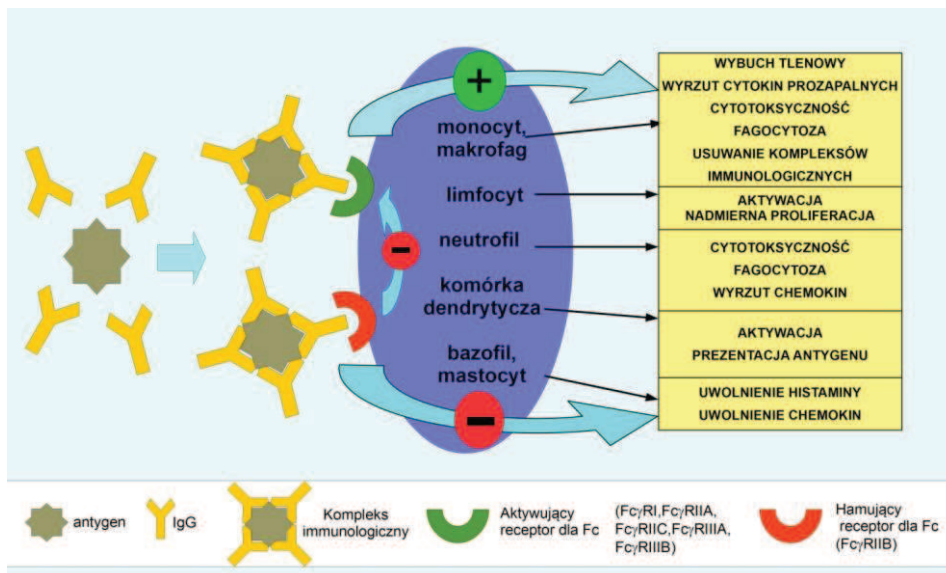
cytach, makrofagach, neutrofilach, limfocytach B, niektórych komórkach dendrytycznych oraz u 3 % osób w populacji ogólnej również na komórkach NK [67,122]. Receptor FcγIIc występuje klasycznie na powierzchni komórek NK, ponadto udowodniono jego ekspresję również na monocytach, neutrofilach i limfocytach B [67,109]. Receptor FcγIIIa jest również obecny na komórkach NK, ale także na eozynofilach, makrofagach, monocytach, komórkach dendrytycznych i tucznych, limfocytów $\gamma\delta$ T. Natomiast receptor FcγIIIb obecny jest przede wszystkim na neutrofilach, ale również na bazofilach oraz na stymulowanych eozynofilach [78,108].

FcγRI jest jedynym receptorem posiadającym zdolność wiązania wolnych IgG (szczególnie podklas IgG1 i IgG3). Podczas gdy FcγRII i FcγRIII przyłączają Ig związane z antygenem w kompleksach immunologicznych, co jest niezbędne do ich eliminacji. Udział w tym procesie biorą m.in. monocyty/makrofagi, które dzięki ekspresji FcγRIIa i FcγRIIIa posiadają zwiększoną aktywność fagocytarną oraz zdolność do reakcji zależnej od przeciwciał cytotoxyczności komórkowej (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC) [128]. Również neutrofile i komórki NK są zdolne do reakcji ADCC. W reakcji tej komórka posiadająca na swojej powierzchni FcγR przyłącza się do opłaszczony przeciwciałami komórki docelowej, a następnie ulega degranulacji. W tym procesie dochodzi do uwolnienia perforyn, które tworząc w obecności jonów wapnia kanały w błonie komórki docelowej, wywołują jej lizę oraz umożliwiają dostanie się do jej wnętrza m.in. grzymów i granlizyny, co w rezultacie prowadzi do apoptozy patogenów lub komórek własnych [94]. Ponadto FcγR pełnią istotną rolę w regulacji produkcji cytokin prozapalnych i rodników hydroksylowych (O₂, H₂O₂ i HOCl). Monocyty/makrofagi posiadające FcγRIIIa wytwarzają znaczne ilości prozapalnych cytokin TNF- α , IL-1, IL-6, IL-12, IL-17. Również FcγRIIa i FcγRIIIb, obecne na neutrofilach, pełnią ważną rolę w regulacji wytwarzania cytokin (TNF- α , IL-1 β , IL-8) oraz rodników hydroksylowych [54]. Podczas gdy, komórki tuczne i bazofile po aktywacji FcγRIIIa uwalniają znaczne ilości czynnika aktywującego płytki (platelet activating factor, PAF), który odpowiada m.in. za zwiększoną przepuszczalność naczyń krwionośnych, chemotaksję i aktywację monocytów oraz neutrofilii, wzmagając tym samym proces zapalny [181]. Komórki dendrytyczne, podobnie jak monocyty/makrofagi, jako APC, wiążą kompleksy immunologiczne przy udziale FcγRs, a następnie prezentują antygeny w nich zawarte w kontekście układu HLA [34]. FcγR posiadają również zdolność wiązania opsonin, takich jak CRP [83].

W przypadku większości FcγR (FcγRI, FcγRIIa, FcγRIIc, FcγRIIIa, FcγRIIIb) po związaniu przeciwciała z receptorem następuje pobudzenie komórki poprzez aktywację sekwencji ITAM (immunoreceptor tyrosine-based activation motif), która znajduje się w części wewnątrzkomórkowej receptora. Tylko FcγRIIb za pośrednictwem hamującej sekwencji ITIM (immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif) zapobiega nadmiernej aktywacji komórek posiadających w/w receptor (ryc. 1). Podczas przyłączenia KI zarówno przez obecny na limfocycie B receptor FcγRIIb1, jak i przez receptor antygenowy BCR, sekwencja ITIM będąca częścią FcγRIIb1 poprzez wpływ na wewnątrzkomórkowy szlak sygnałowy receptora BCR hamuje aktywację limfocytów B i wytwarzanie (auto)przeciwciał. Natomiast FcγRIIb2, obecny na powierzchni wszystkich komórek mieloidalnych, hamuje aktywację komórki

w odpowiedzi na pobudzenie pozostałych Fc γ R. Ekspresja aktywujących Fc γ R zwiększa się pod wpływem cytokin wytwarzanych przez limfocyty Th1 (TNF- α , IL-2, IL-3, IFN- γ), podczas gdy cytokiny produkowane przez limfocyty Th2 (IL-4, IL-5, IL-10, IL-13) zwiększają ekspresję hamującego receptora Fc γ RIIb. Ponadto, Fc γ RIIb odpowiada za eliminację autoreaktywnych komórek plazmatycznych indukując ich apoptozę oraz bierze udział w negatywnej selekcji autoreaktywnych komórek B [34,125,168].

Reasumując, ostateczna reakcja komórki jest zależna od obecności na jej powierzchni aktywujących oraz hamujących Fc γ R a zaburzenie ich funkcji, m.in. wskutek polimorfizmów genów je kodujących, może prowadzić do zmienionej immunoreaktywności organizmu obecnej w chorobach z autoagresji.



Rycina 1. Fizjologiczna funkcja receptorów dla fragmentu Fc immunoglobuliny G (Fc γ R) Kompleksy immunologiczne, powstałe z połączenia przeciwciał IgG z antygenami, są rozpoznawane przez Fc γ R. Aktywujące receptory Fc γ (Fc γ RIIa, Fc γ RIIc, Fc γ RIIIa i Fc γ RIIIB) pobudzają komórkę układu immunologicznego, na powierzchni której się znajdują. Receptor Fc γ RIIb zapobiega nadmiernej aktywacji tych komórek (według [44], zmodyfikowano)

Figure 1. Physiological function of Fc gamma receptors (Fc γ R.) Immune complexes, which consist of antigen and antibody, are recognised by Fc γ R. The activating receptors (Fc γ RIIa, Fc γ RIIc, Fc γ RIIIa and Fc γ RIIIB) stimulate an immune cell on which they are expressed. Fc γ RIIb inhibits an excessive activation of immune cells (after [44], modified)

1.6.2 Polimorfizm genów kodujących receptory Fcγ

Poszczególne warianty genetyczne *FCGR* odróżnia od siebie zamiana pojedynczego nukleotydu w sekwencji DNA kodującej dany receptor. Jest to tzw. polimorfizm pojedynczego nukleotydu (single nucleotide polymorphism, SNP). SNP wpływają na funkcję danego FcγR zmieniając powinowactwo IgG do tego receptora, bezpośrednio modyfikują jego funkcję, lub poprzez zmiany w rejonie promotorowym *FCGR* wpływają na jego ekspresję [20]. Pod względem wpływu na odpowiedź immunologiczną SNP genów *FCGR2A*, *FCGR2B*, *FCGR2C*, *FCGR3A*, *FCGR3B* podzielono na tzw. „high responders” (131H, 232T, 57Q, 158V, NA1, odpowiednio), które poprzez zwiększoną aktywację, syntezę, lub silniejsze wiązanie IgG przez dany FcγR zwiększają odpowiedź immunologiczną oraz „low responders” (131R, 232I, 57X, 158F, NA2, odpowiednio), obniżające odpowiedź immunologiczną analogicznie zmniejszając aktywację, hamując syntezę lub osłabiając wiązanie IgG przez receptor Fcγ [20,59].

1.6.2.1 SNP genu *FCGR2A*

Polimorfizm H131R (519A>G; rs1801274) jest skutkiem zamiany histydyny (H) na argininę (R) w pozycji 131 domeny błonowej FcγRIIa. Receptor kodowany przez allel 131H charakteryzuje zwiększone powinowactwo do wiązania IgG2 co powoduje zwiększone przyłączanie i fagocytozę kompleksów immunologicznych zawierających IgG2, co może być przyczyną wzmożonej prezentacji antygeny i czynnikiem wywołującym odpowiedź (auto)immunologiczną [189].

1.6.2.2 SNP genu *FCGR2B*

Polimorfizm I232T (695T>C; rs1050501) genu *FCGR2B* skutkuje zamianą izoleucyny na treoninę w pozycji 232 łańcucha białkowego, czego efektem jest mniej efektywne pozycjonowanie cząsteczki receptora w obrębie tzw. wysp lipidowych błony komórkowej, gdzie zlokalizowane są kinazy niezbędne do działania tego receptora. Prowadzi to do zmniejszenia aktywności rejonu transbłonowego FcγR i osłabienia jego funkcji regulacyjnej w stosunku do innych receptorów Fcγ, co w konsekwencji zwiększa odpowiedź (auto)immunologiczną komórki [52,95]. Natomiast polimorfizm -343G-C (rs3219018) w rejonie promotorowym *FCGR2B*, należący do grupy „high responder”, skutkuje zmniejszoną ekspresją receptora FcγRIIb (-343C), co podobnie jak w przypadku polimorfizmu I232T, prowadzi do zwiększonej aktywności immunologicznej komórki [14,129]. W przypadku dwóch polimorfizmów w identycznym regionie promotorowym genów *FCGR2B* i *FCGR2C*: G386C (rs143796418 dla *FCGR2B*, rs149754834 dla *FCGR2C*) oraz T120A (rs780467580 dla *FCGR2B*, rs34701572 dla *FCGR2C*) obecność alleli 386C oraz 120A (haplotyp 2B.4) zwiększa ekspresję receptorów FcγRIIb i FcγRIIc poprzez przyłączanie czynników transkrypcyjnych GATA-4 i Yin-Yang 1 (YY-1)

[163]. Ponieważ w przypadku receptora FcγRIIb zwiększona jest ekspresja hamującego FcγR, w/w SNP należy do grupy „low responder”.

1.6.2.3 SNP genu *FCGR2C*

Polimorfizm X57Q (169C>T; rs759550223) w egzonie 3 genu *FCGR2C* wpływa na ekspresję receptora FcγRIIc. Wariant 57X (169T) charakteryzuje się obecnością kodonu STOP w łańcuchu mRNA, co skutkuje syntezą skróconej, niefunkcjonalnej cząsteczki białka receptorowego. W przypadku wariantu 57Q (169C; *Open Reading Frame*, ORF), obecność cytozyny warunkuje utworzenie kodonu dla glutaminy i umożliwia syntezę w pełni funkcjonalnego białka. Ekspresja funkcjonalnego receptora FcγRIIc na powierzchni monocytów/makrofagów, neutrofilów czy komórek NK może powodować ich wzmożoną aktywację [20,108]. Podczas gdy, obecność FcγRIIc na limfocytach B osłabia hamujące działanie receptora FcγRIIb [109].

1.6.2.4 SNP genu *FCGR3A*

Polimorfizm V158F (559G>T; rs396991) warunkuje obecność waliny (V), lub feniloalaniny (F) w pozycji 158 sekwencji aminokwasowej białka receptorowego FcγRIIIa. Wariant 158F wykazuje brak powinowactwa do IgG4, a powinowactwo receptora do IgG1 oraz IgG3 jest zmniejszone, co powoduje to mniej efektywne usuwanie krążących kompleksów immunologicznych zawierających te przeciwciała. Krążące KI odkładając się w ścianie naczyń krwionośnych przyczyniają się do rozwoju procesu zapalnego [20,107].

1.6.2.5 SNP genu *FCGR3B*

Gen *FCGR3B*, kodujący receptor FcγRIIb, występuje w trzech odmianach HNA-1a (NA1), HNA-1b (NA2), HNA-1c (SH). Allele NA1 i NA2 różnią się pięcioma nukleotydami (cztery mutacje zmiany sensu: G141C/R36S, rs403016; A227G/N65S, rs448740; G277A/D82N, rs428888; G349A/V106I oraz jedna cicha mutacja: C147T/L38L, rs447536;). Obecność allelu NA1, w porównaniu do NA2 lub SH, wiąże się z podwyższoną zdolnością tego receptora do przyłączania IgG1 i IgG3, czego efektem jest zwiększona fagocytoza KI związanych z tymi immunoglobulinami [20,108]. Ponadto, odmiany NA1 i NA2 w odmienny sposób oddziałują na inne receptory błonowe, w tym CD11b/CD18, którego polimorfizm jest związany z zachorowaniem na TRU [74,108]. Warianty alleliczne NA2 i SH genu *FCGR3B*, kodującego receptor FcγRIIb, różnią się od siebie jednym nukleotydem (C266A, rs5030738), co warunkuje obecność innego aminokwasu w pozycji 78 sekwencji białkowej (A78D). Wpływ tej mutacji na funkcję receptora nie został jednoznacznie określony. Przypuszcza się, że ten SNP powoduje zwiększoną ekspresję FcγRIIb na neutrofilach [92].

1.6.3 Polimorfizm genów kodujących receptory Fc γ w chorobach autoimmunizacyjnych

Dotychczas, w różnych grupach etnicznych na świecie wykazano związek polimorfizmów genów kodujących receptory Fc γ RII i Fc γ RIII z licznymi jednostkami chorobowymi z autoagresji takimi jak: zespół antyfosfolipidowy (ang. *antiphospholipid syndrome*, APS), mikroskopowe zapalenie naczyń (ang. *microscopic polyangiitis*, MPA), olbrzymiokomórkowe zapalenie tętnic (ang. *giant cell arteritis*, GCA), ziarniniakowatość z zapaleniem naczyń (ang. *granulomatosis with polyangiitis*, GPA), pierwotna małopłytkowość immunologiczna (ang. *idiopathic thrombocytopenic purpura*, ITP), choroba Kawasaki, choroba Behçeta, idiopatyczne włóknienie płuc (ang. *idiopathic pulmonary fibrosis*, IPF) sarkoidoza, wrzodziejące zapalenie jelita grubego (ang. *ulcerative colitis*, UC), choroba Leśniowskiego-Crohna, miaśnienia, zespół Guillaina-Barrego (ang. *Guillain-Barré syndrome*, GBS) oraz reumatoidalne zapalenie stawów oraz toczeń rumieniowaty układowy (omówiono w [20,107,108,183,185]).

1.6.4 Polimorfizm genów kodujących receptory Fc γ w reumatoidalnym zapaleniu stawów i toczeniu rumieniowatym układowym

Receptory Fc γ są istotnym elementem w patogenezie zarówno RZS jak i TRU, co znajduje potwierdzenie w związku polimorfizmu genów FCGR z predyspozycją do zachorowania i/lub przebiegiem tych chorób w różnych grupach etnicznych na świecie. Udowodniono występowanie często odmiennych pojedynczych polimorfizmów SNP genów kodujących Fc γ R w różnych populacjach chorych na RZS i TRU.

W populacji europejskiej pacjentów z RZS, udowodniono predyspozycję do zachorowania oraz cięższy przebieg tej choroby u posiadaczy allelu 131R genu *FCGR2A* [26,101]. Natomiast obecność allelu 158V genu *FCGR3A* u pacjentów z tą chorobą była związana zarówno z większym ryzykiem zachorowania, jak i poważniejszym jej przebiegiem [26,90,101,119,172]. Dodatkowo, polimorfizm T695C genu *FCGB2B* był związany z większą progresją zmian radiologicznych u chorych na RZS posiadających allel 695T [140]. Podobnie jak w RZS, istnieje związek z zachorowaniem na TRU i/lub wystąpieniem nerkowej postaci tej choroby w populacji europejskiej i azjatyckiej z obecnością allelu 131R genu *FCGR2A* [45,88,106,155,177,202]. Ponadto, allele 386C oraz -343C genu *FCGR2B* występowały częściej u chorych z TRU z populacji kaukaskiej [14,163]. Natomiast populację azjatycką oraz europejską chorych cechowało częstsze występowanie allelu 232T tego genu [30,33,64,73,96,103,112,122,152]. Udowodniono również częstsze występowanie haplotypu 2B.4 w populacji chorych na TRU w populacji kaukaskiej [177]. Także allel 57Q genu *FCGR2C* był związany z zachorowaniem na TRU w populacji kaukaskiej i afroamerykańskiej [109]. Ponadto, allel 158F genu *FCGR3A* występował częściej w wielu grupach europejskich i azjatyckich pacjentów z TRU i/lub jego postacią nerkową [83,93]. Również allel NA2 genu *FCGR3B* był związa-

ny się z zachorowaniem na TRU w populacji hiszpańskiej, tajskiej czy japońskiej [60,64,152].

Dotychczas nie przeprowadzono jednoczesnego badania SNP pięciu receptorów Fcγ (FcγRIIa, FcγRIIb, FcγRIIc, FcγRIIIa i FcγRIIIb), jak i analizy porównawczej ich polimorfizmów wśród pacjentów z RZS i TRU w tej samej grupie etnicznej.

2. CEL PRACY

W związku z powyższym celem niniejszej pracy jest odpowiedź na pytania:

- Czy występowanie poszczególnych wariantów polimorficznych genów *FCGR2A*, *FCGR2B*, *FCGR2C*, *FCGR3A* oraz *FCGR3B* u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów i toczeń rumieniowaty układowy ma wpływ na zwiększone prawdopodobieństwo wystąpienia choroby w populacji mieszkańców północnej Polski?
- Czy występowanie poszczególnych wariantów polimorficznych genów *FCGR2A*, *FCGR2B*, *FCGR2C*, *FCGR3A* oraz *FCGR3B* u chorych z nerkową postacią tocznia rumieniowatego układowego ma wpływa na zwiększone prawdopodobieństwo wystąpienia tej postaci choroby?
- Czy istnieją różnice w częstości występowania poszczególnych wariantów polimorficznych genów *FCGR2A*, *FCGR2B*, *FCGR2C*, *FCGR3A* oraz *FCGR3B* pomiędzy chorymi na reumatoidalne zapalenie stawów a pacjentami z toczniem rumieniowatym układowym?

3. MATERIAŁ I METODY

3.1 MATERIAŁ BADAWCZY

Materiał badawczy stanowiła krew obwodowa, pochodząca od chorych na reumatoidalne zapalenie stawów, toczeń rumieniowaty układowy oraz od zdrowych ochotników, pobierana na EDTA (kwas etylenodiaminotetraoctowy) w ilości 15 ml. Do badania zostały włączone osoby rasy kaukaskiej, zamieszkujące teren północnej Polski (okolice miasta Gdańska).

Badania zostały przeprowadzone za zgodą Niezależnej Komisji Bioetycznej do Spraw Badań Naukowych przy Gdańskim Uniwersytecie Medycznym (decyzja nr NKBBN/430/2013). Uczestnicy badania zostali powiadomieni o jego celowości i wyrazili na nie pisemną zgodę.

3.1.1 Populacja chorych na reumatoidalne zapalenie stawów

Grupę badaną chorych na RZS stanowiło 106 pacjentów Poradni Chorób Tkanki Łącznej lub Kliniki Chorób Wewnętrznych, Chorób Tkanki Łącznej i Geriatrii Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego w Gdańsku. Rozpoznanie choroby postawiono na podstawie standardowych kryteriów wg ACR/EULAR z 2010 roku [160]. Aktywność choroby oszacowano na podstawie wskaźnika DAS28. U wszystkich badanych pacjentów wykazano niską aktywność choroby wg EULAR (DAS28 < 3,2). U 97 % chorych odnotowano obecność czynnika reumatoidalnego i/lub przeciwciał anti-CCP (94 %, 45 %, odpowiednio). Leczenie biologiczne (etanercept, tocilizumab, infliksimab, certolizumab, lub golimumab) zastosowano u 10 % pacjentów. Charakterystykę badanej grupy przedstawiono w tabeli 3.

Tabela 3. Charakterystyka porównawcza pacjentów zRZS oraz osób zdrowych; SD – odchylenie standardowe

Table 3. Characteristics of RA patients and controls; SD- standard deviation

| | Pacjenci z RZS <i>RA patients</i> n = 106 (%) | Grupa kontrolna <i>Controls</i> n = 148 (%) |
|--|--|--|
| Wiek [lata] <i>Age [years]</i> | Średnia / <i>Mean</i> ±SD Mediana / <i>Median</i> Zakres / <i>Range</i> | 58 ± 13 40 18-79 |
| Płeć / <i>Gender</i> | Kobiety / <i>Female</i> Mężczyźni / <i>Male</i> | 91 (86) 15 (14) 67 (45) 81 (55) |
| DAS28, liczba punktów <i>DAS28, score</i> | Średnia / <i>Mean</i> ± SD Mediana / <i>Median</i> Zakres / <i>Range</i> | 2,3 ± 0,6 2,0 1,5-3,1 |

| | |
|--|----------|
| Czynnik reumatoidalny / <i>Rheumatoid factor</i> | 100 (94) |
| Przeciwciała anti-CCP / <i>Anti-CCP antibodies</i> | 48 (45) |
| Leczenie biologiczne / <i>Biological treatment</i> | 11 (10) |

3.1.2 Populacja chorych na toczeń rumieniowaty układowy

Grupę badaną chorych na TRU stanowiło 99 pacjentów Poradni Chorób Tkanki Łącznej lub Kliniki Chorób Wewnętrznych, Chorób Tkanki Łącznej i Geriatrii Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego w Gdańsku. Rozpoznanie choroby postawiono na podstawie standardowych kryteriów wg SLICC z 2012 roku [113]. Za pomocą skali SELENA- SLEDAI wykazano u wszystkich pacjentów niską aktywność choroby (< 6 punktów).

Charakterystykę badanej grupy przedstawiono w tabeli 4.

Tabela 4. Charakterystyka porównawcza pacjentów z TRU oraz osób zdrowych; SD – odchylenie standardowe

Table 4. Characteristics of SLE patients and controls; SD- standard deviation

| | | Pacjenci z TRU <i>SLE patients</i> n = 99 (%) | Grupa kontrolna <i>Controls</i> n = 148 (%) |
|---|----------------------------|--|--|
| Wiek [lata] | Średnia / <i>Mean</i> ± SD | 46 ± 15 | 42 ± 10 |
| Age [years] | Mediana / <i>Median</i> | 45 | 40 |
| | Zakres / <i>Range</i> | 20-80 | 18-79 |
| Płeć / <i>Gender</i> | Kobiety / <i>Female</i> | 84 (85) | 67 (45) |
| | Mężczyźni / <i>Male</i> | 15 (15) | 81 (55) |
| SELENA- SLEDAI, liczba punktów | Średnia / <i>Mean</i> ± SD | 2,2 ± 1,7 | |
| SELENA-SLEDAI, score | Mediana / <i>Median</i> | 2,0 | |
| | Zakres / <i>Range</i> | 0-5,0 | |
| Objawy kliniczne / <i>Clinical symptoms</i> | | n (%) | |
| Zmiany skórne / <i>Malar rash</i> | | 54 (55) | |
| Nadwrażliwość na światło / <i>Photosensitivity</i> | | 25 (25) | |
| Owrzodzenia jamy ustnej / <i>Oral ulcers</i> | | 12 (12) | |
| Zapalenie stawów / <i>Arthritis</i> | | 70 (70) | |
| Zajęcie błon surowiczych / <i>Serositis</i> | | 19 (19) | |
| Zajęcie nerek / <i>lupus nephropathy</i> | | 26 (26) | |
| Zmiany neurologiczne / <i>Neurologic disorder</i> | | 9 (9) | |
| Zmiany hematologiczne / <i>Hematologic disorder</i> | | 55 (55) | |

3.1.3 Populacja kontrolna

Grupę odniesienia stanowiło 148 zdrowych, niespokrewnionych ochotników z terenu Polski Północnej, u których w wywiadzie rodzinnym nie stwierdzono reumatoidalnego zapalenia stawów, toczenia rumieniowatego układowego, lub innych chorób autoimmunizacyjnych (tabl. 3 i 4).

3.2 ANALIZA PRAWIDŁOWEGO DOBRANIA BADANYCH GRUP POD WZGLĘDEM WIEKU I PŁCI

Za pomocą testu normalności Shapiro-Wilka wykazano, że wiek w grupie chorych na TRU był zgodny z rozkładem normalnym ($p = 0,059$). Natomiast wiek osób grupie chorych z RZS oraz osób zdrowych odbiegał od rozkładu normalnego (RZS $p = 0,01$; kontrola: $p < 0,0001$). Wiek osób w poszczególnych grupach różnił się istotnie od siebie (RZS vs TRU: $p < 0,01$; RZS vs. kontrola: $p < 0,01$; TRU vs. kontrola: $p < 0,01$). Liczba kobiet i mężczyzn różniła się pomiędzy badanymi grupami. W grupie chorych z RZS oraz TRU w porównaniu do grupy kontrolnej wykazano istotnie większą ilość kobiet (86 % vs. 45 %, $p < 0,001$; 85 % vs. 45 %, $p < 0,001$, odpowiednio). Różnica ta wynikała z doboru grupy kontrolnej, która stanowiła grupę odniesienia również dla badań porównawczych polimorfizmów genów *FCGR* u chorych na sarkoidozę płuc, finansowanych z tego samego źródła (projekt badawczy nr 5160/B/P01/2010/39).

Nie odnotowano istotnych różnic w liczbie kobiet i mężczyzn pomiędzy grupami z RZS i TRU ($p = 0,81$).

3.3 METODY

3.3.1 Odczynniki

Odczynniki chemiczne oraz bufony i mieszaniny, które zostały użyte do izolacji DNA z krwi obwodowej, analizy polimorfizmu badanych genów, rozdzielania elektroforetycznego produktów amplifikacji i barwienia żeli poliakrylamidowych zestawiono w tabelach 5, 6, 7.

Tabela 5. Wykaz odczynników chemicznych używanych w badaniach
Table 5. List of the chemical reagents used in the research

| Nazwa odczynnika/ <i>Name of the reagent</i> | Producent/ <i>Producer</i> |
|--|---|
| akrylamid | Serva Electrophoresis GmbH (Heidelberg, Niemcy) |
| APS (nadsiarcezan amonu) | Sigma-Aldrich (St. Louis, USA) |
| azotan(V) srebra(I) | Merck (Whitehouse Station, USA) |
| bibuła Whatman 3MM | GE Healthcare companies (Waukesha, USA) |
| bisakrylamid | Sigma-Aldrich (St. Louis, USA) |
| błękit bromofenolowy | Sigma-Aldrich (St. Louis, USA) |
| chlorek magnezu | Sigma-Aldrich (St. Louis, USA) |
| chlorek potasu | Sigma-Aldrich (St. Louis, USA) |
| chlorek sodu | Sigma-Aldrich (St. Louis, USA) |
| DMSO (dimetylosulfotlenek) | Roche (Basel, Szwajcaria) |
| etanol | POCH S.A. (Gliwice, Polska) |
| formaldehyd 37 % | POCH S.A. (Gliwice, Polska) |
| glicerol | POCH S.A. (Gliwice, Polska) |
| kwas azotowy(V) | POCH S.A. (Gliwice, Polska) |
| kwas borowy | Sigma-Aldrich (St. Louis, USA) |
| kwas mrówkowy | POCH S.A. (Gliwice, Polska) |
| kwas octowy | POCH S.A. (Gliwice, Polska) |
| kwas solny | POCH S.A. (Gliwice, Polska) |
| marker masy molekularnej Gene Ruler | Thermo Fisher Scientific Inc. (Portsmouth, USA) |
| oligonukleotydy | Genomed (Warszawa, Polska) |
| SDS (dodecylosiarcezan (VI) sodu) | Sigma-Aldrich (St. Louis, USA) |
| TEMED (N, N, N', N' - tetrametyloetylenodiamina) | Serva Electrophoresis GmbH (Heidelberg, Niemcy) |
| Tris (tris(hydroksymetylo)aminometan) | Sigma-Aldrich (St. Louis, USA) |
| Triton X-100 | Carl Roth GmbH + Co. KG (Karlsruhe, Niemcy) |
| wersenian disodu | Sigma-Aldrich (St. Louis, USA) |
| węglan sodu | POCH S.A. (Gliwice, Polska) |

Tabela 6. Zestawy odczynników chemicznych używanych w badaniach
Table 6. Sets of chemical reagents used in the research

| Nazwa zestawu / Name of the set | Skład zestawu / Composition of the set | Producent / Producer |
|--|---|--|
| Taq DNA Polymerase | polimeraza DNA Taq (5U/μl) 10 x Pol Buffer B (160 mM (NH ₄) ₂ SO ₄ , 500 mM Tris-HCl (pH 9,2 w 22 °C), 15 mM MgCl ₂ , stabilizatory) | EURx (Gdańsk, Polska) |
| Zestaw dNTP | 10 mM dATP, 10 mM dCTP, 10 mM dGTP, 10 mM dTTP | |
| Custom TaqMan® SNP Genotyping Assay | 2 x TaqMan Genotyping Master Mix 40 x Assay Mix (mieszanina starterów 2B-SNP_F, 2B-SNP_R, 2B-SNP_695T VIC, 2B-SNP_696C FAM) | Applied Biosystems (Foster City, USA) |

Tabela 7. Skład buforów i mieszanin używanych w badaniach
Table 7. Composition of buffers and mixtures used in the research

| Nazwa buforu lub mieszaniny / Name of buffer or mixture | Skład roztworu / Composition of mixture |
|--|---|
| Bufor TKM1 | 10 mM Tris / HCl (pH 7.6) 10 mM chlorek potasu 10 mM chlorek magnezu 2 mM wersenian disodu |
| Bufor TKM2 | 10 mM Tris / HCl (pH 7.6) 10 mM chlorek potasu 10 mM chlorek magnezu 0,4 M chlorek sodu |
| Bufor TE (pH 8.0) | 2 mM wersenian disodu 10 mM Tris / HCl (pH 8.0) 1 mM wersenian disodu |
| Bufor Tris - mrówczan (pH 9.0) | 2,31 M Tris 0,5 M kwas mrówkowy |
| Bufor łącznikowy | 0,52 M Tris 0,14 M kwas borowy (pH 9.0) 0,01 % błękitu bromofenolowego |
| Roztwór wywołujący | 3 % węglan sodu 0,1 % formaldehyd |

3.3.2 Izolacja DNA

Genomowe DNA zostało wyizolowane z próbek pełnej krwi obwodowej badanych osób metodą nieenzymatyczną wg Lahiri i Nurnbergera z niewielkimi modyfikacjami [99]. W probówce typu Eppendorf o pojemności 1,5 ml umieszczano 500 μ l krwi obwodowej, 12,5 μ l niejonowego detergentu Triton X-100 i 500 μ l buforu TKM1. Zawartość probówki mieszano początkowo przez kilkukrotne odwracanie, a następnie przy pomocy mieszadła hematologicznego do całkowitego rozpuszczenia detergentu. Następnie mieszaninę wirowano (10 minut, 2200 rpm), powstały supernatant odrzucano. Osad zawieszano w 500 μ l buforu TKM1 i wirowano (10 minut, 2200 rpm), supernatant odrzucano; krok ten był powtarzany do momentu uzyskania osadu o białej barwie. Osad ten zawieszano w 80 μ l buforu TKM2 i 2,5 μ l 20 % SDS, a następnie inkubowano w temperaturze 55°C przez 10 minut.

Do mieszaniny dodawano 30 μ l 6M chlorku sodu (NaCl). Zawartość probówki mieszano przez odwracanie i wirowano (5 minut, 12000 rpm), aby uzyskać supernatant z zawiesiną DNA.

Supernatant z DNA powstały po wirowaniu dodawano do nowej probówki typu Eppendorf o pojemności 1,5 ml zawierającej 225 μ l 100 % etanolu. Probówkę z osadem powirowaniu odrzucano, natomiast probówkę z etanolem i supernatantem odwracano w celu precypitacji DNA, a następnie wirowano (5 minut, 12000 rpm). Po usunięciu supernatantu osad suszono w 30 °C przez 5 minut w urządzeniu Speedvac (Eppendorf, Hamburg, Niemcy). Wysuszony osad z DNA zawieszano w 100 μ l buforu TE (pH 8.0) i inkubowano do rozpuszczenia w 65 °C.

3.3.3 Łańcuchowa reakcja polimerazy

W celu przeprowadzenia analizy polimorfizmu genów *FCGR2A*, *FCGR2C*, *FCGR3A* i *FCGR3B* zastosowano metodę łańcuchowej reakcji polimerazy z użyciem starterów specyficznych do sekwencji danego allelu genu (PCR-SSP) [46][164][152]. Natomiast do analizy częstości występowania wariantów polimorficznych genu *FCGR2B* posłużono się metodą PCR w czasie rzeczywistym (qPCR).

W tabeli 8 zestawiono sekwencje oligonukleotydów (starterów) użytych w przeprowadzonych reakcjach PCR wraz z oczekiwaną długością amplifikowanych produktów.

Tabela 8. Sekwencje starterów zastosowanych w reakcjach PCR oraz oczekiwana długość produktów amplifikacji**Table 8.** Sequences of the primers used in PCR reactions and expected length of the amplifying products

| Nazwa genu <i>Gene name</i> | Nazwa startera <i>Primer name</i> | Sekwencja startera 5' -> 3' <i>Starter sequence 5' -> 3'</i> | Długość produktu PCR [pz] <i>PCR Product length [bp]</i> | Źródło <i>Source</i> |
|-----------------------------|-----------------------------------|---|--|----------------------|
| FCGR2A | 2A-gene | TCAAAGTGAAACAACAGCCTGACT | 371 | [46] |
| | 2A-519A 2A-519G | GGAAAATCCCAGAAAATTCACACA GGAAAATCCCAGAAAATTCACACG | | |
| FCGR2B | 2B-SNP_F | CCTAGCTCCCAGCTCTTCAC | 36 | [12] |
| | 2B-SNP_R | CCACTACAGCAGCAACAATGG | | |
| | 2B-SNP_695T VIC | TCACTGGGATTGCTG | | |
| | 2B-SNP_695C FAM | TCACTGGGACTGCTG | | |
| FCGR2C | 2C-gene | GAGATTCCCATTGTGGACCTACG | 124 | [164,184] |
| | 2C-169T | GGCTGTGCTGAAACTGGAGACCT | | |
| | 2C-169C | GGCTGTGCTGAAACTGGAGCCAC | | |
| FCGR3A | 3A-gene | AGTTCATCATAATTCTGACTCCT | 100 | [46] |
| | 3A-559T | TGAAGACACATTCTACTCCCTAA | | |
| | 3A-559G | TGAAGACACATTCTACTCCCTAC | | |
| FCGR3B | 3B-gene | ATGGACTTCTAGCTGCAC | - | |
| | 3B-NA1 | CAGTGGTTTCACAATGAGAA | 140 | [152,184] |
| | 3B-NA2/SH | CAATGGTACAGCGTGCTT | 219 | |
| | 3B-SH | TCGAGCTACTTCATTGACGA | 102 | |
| hGH | hGH-F hGH-R | CAGTGCCTTCCCAACCATTCCCTTA ATCCACTCACGGATTTCTGTGTGTTTC | 439 | [10] |
| NF1 (egzon 4b) | NF1-4b-F NF1-4b-R | CTGTCCCCTAATACTTAATT AATACTAGTTTTTGACCCAGT | 209 | [50] |
| NF1 (egzon 22) | NF1-22-F NF1-22-R | TCTTTAGCTTCTACCTAAGAA AACACACATACACAAAATGAA | 262 | |

3.3.3.1 PCR-SSP genu *FCGR2A*

Niezależnie od wariantu polimorficznego, oczekiwana długość amplifikowanego fragmentu genu *FCGR2A* wynosiła 371 pz. Z tego powodu sporządzano dwie mieszaniny reakcyjne, osobno dla każdego z dwóch alleli tego genu.

Jako kontrolę wewnętrzną wykorzystano amplifikację fragmentu ludzkiego genu hormonu wzrostu (*human Growth Hormone*, hGH).

3.3.3.1.1 PCR-SSP genu *FCGR2A*, allel 131H (519A)

Amplifikacja produktów w reakcji PCR-SSP genu *FCGR2A* z wariantem polimorficznym 519A zachodziła w mieszaninie reakcyjnej o objętości 10 μ l, w której stężenia końcowe składników były następujące:

- 1x Pol Buffer B
- 1,75 mM MgCl₂
- 0,3 mM każdego dNTP
- 0,2 μ M startera 2A-gene
- 0,2 μ M startera 2A-519A
- 0,16 μ M startera hGH-F
- 0,16 μ M startera hGH-R
- 1 U polimerazy Taq
- 20 ng genomowego DNA na 1 reakcję

Reakcja PCR-SSP zachodziła w następujących warunkach (profil temperaturowo-czasowy reakcji):

| Etap | Temperatura [°C] | Czas | Liczba cykli |
|------------------------|------------------|----------|--------------|
| Wstępna denaturacja | 95 | 2 min | 1 |
| Denaturacja | 94 | 1 min | |
| Przyłączenie primerów | 56 | 1 min | 35 |
| Wydłużanie | 72 | 2 min | |
| Wydłużanie końcowe | 72 | 10 min | 1 |
| Utrzymanie temperatury | 4 | ∞ | 1 |

3.3.3.1.2 PCR-SSP genu *FCGR2A*, allel 131R (519G)

Amplifikacja produktów w reakcji PCR-SSP genu *FCGR2A* z wariantem polimorficznym 519G zachodziła w mieszaninie reakcyjnej o objętości 10 μ l, w której stężenia końcowe składników były następujące:

- 1x Pol Buffer B
- 1,75 mM MgCl₂

- 0,3 mM każdego dNTP
- 0,25 μ M startera 2A-gene
- 0,25 μ M startera 2A-519G
- 0,32 μ M startera hGH-F
- 0,32 μ M startera hGH-R
- 1 U polimerazy Taq
- 30 ng genomowego DNA na 1 reakcję

Reakcja PCR-SSP zachodziła w następujących warunkach (profil temperaturowo-czasowy reakcji):

| Etap | Temperatura [°C] | Czas | Liczba cykli |
|------------------------|---------------------|----------|--------------|
| Wstępna denaturacja | 95 | 2 min | 1 |
| Denaturacja | 94 | 1 min | |
| Przyłączanie primerów | 57 | 1 min | 35 |
| Wydłużanie | 72 | 2 min | |
| Wydłużanie końcowe | 72 | 10 min | 1 |
| Utrzymanie temperatury | 4 | ∞ | 1 |

3.3.3.2 qPCR genu *FCGR2B*

Badanie przeprowadzono z użyciem zestawu Custom TaqMan® SNP Genotyping Assay na aparacie 7900HT Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems). Do reakcji używano mieszaniny reakcyjnej TaqMan Genotyping Master Mix i testu TaqMan SNP Genotyping Assay (40X), zawierającego startery i sondy dla wariantów polimorficznych 695T i 695C, zaprojektowane przez firmę Applied Biosystems w ramach serwisu Assays-by-Design.

Na płytkę 384-dołkową, do pojedynczego dołka nanoszono 2 μ l DNA o stężeniu 5 ng/ μ l, co odpowiada 10 ng DNA, następnie płytkę suszono w temperaturze pokojowej. Następnie, do każdego z dołków dodawano 5 μ l mieszaniny reakcyjnej składającej się z TaqMan Genotyping Master Mix, TaqMan SNP Genotyping Assay i wody.

Amplifikacja produktów qPCR genu *FCGR2B* zachodziła w mieszaninie reakcyjnej o całkowitej objętości 5 μ l, w której stężenia końcowe składników były następujące:

- 1x TaqMan Genotyping Master Mix
- 1x TaqMan SNP Genotyping Assay Mix
- 10 ng genomowego DNA na 1 reakcję

Reakcja qPCR zachodziła w następujących warunkach (profil temperaturowo-czasowy reakcji):

| Etap | Temperatura [°C] | Czas | Liczba cykli |
|------------------------------------|-------------------------|-------------|---------------------|
| Wstępna denaturacja | 95 | 10 min | 1 |
| Denaturacja | 95 | 15 s | |
| Przyłączanie primerów i wydłużanie | 60 | 1 min | 50 |

3.3.3.3 PCR-SSP genu *FCGR2C*

Niezależnie od wariantu polimorficznego, oczekiwana długość amplifikowanego fragmentu genu *FCGR2C* wynosiła 124 pz. Z tego powodu sporządzano dwie mieszaniny reakcyjne, osobno dla każdego z dwóch alleli tego genu.

3.3.3.3.1 PCR-SSP genu *FCGR2C*, allel 57Q (169C)

Amplifikacja produktów w reakcji PCR-SSP genu *FCGR2C* z wariantem polimorficznym 169C zachodziła w mieszaninie reakcyjnej o objętości 10 μ l, w której stężenia końcowe składników były następujące:

- 1x Pol Buffer B
- 3 mM MgCl₂
- 0,2 mM każdego dNTP
- 1 μ M startera 2C-gene
- 1 μ M startera 2C-169C
- 1,25 U polimerazy Taq
- 10 ng genomowego DNA na 1 reakcję

Reakcja PCR-SSP zachodziła w następujących warunkach (profil temperaturowo-czasowy reakcji):

| Etap | Temperatura [°C] | Czas | Liczba cykli |
|------------------------|-------------------------|-------------|---------------------|
| Wstępna denaturacja | 95 | 5 min | 1 |
| Denaturacja | 94 | 30 s | |
| Przyłączanie primerów | 55 | 30 s | |
| Wydłużanie | 72 | 10 s | 37 |
| Wydłużanie końcowe | 72 | 7 min | 1 |
| Utrzymanie temperatury | 4 | ∞ | 1 |

3.3.3.3.2 PCR-SSP genu *FCGR2C*, allel 57X (169T)

Amplifikacja produktów w reakcji PCR-SSP genu *FCGR2C* z wariantem polimorficznym 169T zachodziła w mieszaninie reakcyjnej o objętości 10 μ l, w której stężenia końcowe składników były następujące:

- 1x Pol Buffer B
- 3 mM MgCl₂
- 0,2 mM każdego dNTP
- 0,15 μ M startera 2C-gene
- 0,15 μ M startera 2C-169T
- 0,1 μ M startera hGH-F
- 0,1 μ M startera hGH-R
- 1 U polimerazy Taq
- 10 ng genomowego DNA na 1 reakcję

Reakcja PCR-SSP zachodziła w następujących warunkach (profil temperaturowo-czasowy reakcji):

| Etap | Temperatura [°C] | Czas | Liczba cykli |
|------------------------|---------------------|----------|--------------|
| Wstępna denaturacja | 95 | 5 min | 1 |
| Denaturacja | 94 | 30 s | |
| Przyłączanie primerów | 57 | 30 s | |
| Wydłużanie | 72 | 10 s | 35 |
| Wydłużanie końcowe | 72 | 7 min | 1 |
| Utrzymanie temperatury | 4 | ∞ | 1 |

Jako kontrolę wewnętrzną wykorzystano amplifikację fragmentu ludzkiego genu hormonu wzrostu (hGH).

3.3.3.4 PCR-SSP genu *FCGR3A*

Niezależnie od wariantu polimorficznego, oczekiwana długość amplifikowanego fragmentu genu *FCGR3A* wynosiła 100 pz. Z tego powodu sporządzano dwie mieszaniny reakcyjne, osobno dla każdego z dwóch alleli tego genu.

3.3.3.4.1 PCR-SSP genu *FCGR3A*, allel 158F (559T)

Amplifikacja produktów PCR-SSP genu *FCGR3A* z wariantem polimorficznym 559T zachodziła w mieszaninie reakcyjnej o objętości 10 μ l, w której stężenia końcowe składników były następujące:

- 1x Pol Buffer B
- 4 mM MgCl₂
- 0,3 mM każdego dNTP
- 2 μM startera 3A-gene
- 2 μM startera 3A-559T
- 0,15 μM startera NF1-4b-F
- 0,15 μM startera NF1-4b-R
- 0,5 U polimerazy Taq;
- 10 ng genomowego DNA na 1 reakcję

Reakcja PCR-SSP zachodziła w następujących warunkach (profil temperaturo-wo-czasowy reakcji):

| Etap | Temperatura [°C] | Czas | Liczba cykli |
|------------------------|------------------|--------|--------------|
| Wstępna denaturacja | 95 | 2 min | 1 |
| Denaturacja | 95 | 30 s | |
| Przyłączanie primerów | 57 | 1 min | |
| Wydłużanie | 72 | 1 min | 30 |
| Wydłużanie końcowe | 72 | 10 min | 1 |
| Utrzymanie temperatury | 4 | ∞ | 1 |

Jako kontrolę wewnętrzną wykorzystano amplifikację fragmentu egzonu 4b genu neurofibrominy 1 (*NF1*).

3.3.3.4.2 PCR-SSP genu *FCGR3A*, allel 158V (559G)

Amplifikacja produktów PCR-SSP genu *FCGR3A* z wariantem polimorficznym 559G zachodziła w mieszaninie reakcyjnej o całkowitej objętości równej 10 μl, w której stężenia końcowe składników były następujące:

- 1x Pol Buffer B
- 4 mM MgCl₂
- 0,3 mM każdego dNTP
- 1 μM startera 3A-gene
- 1 μM startera 3A-559G
- 0,08 μM startera NF1-22-F
- 0,08 μM startera NF1-22-R
- 0,5 U polimerazy Taq;
- 10 ng genomowego DNA na 1 reakcję

Reakcja PCR-SSP zachodziła w następujących warunkach (profil temperaturo-wo-czasowy reakcji):

| Etap | Temperatura [°C] | Czas | Liczba cykli |
|------------------------|-------------------------|-------------|---------------------|
| Wstępna denaturacja | 95 | 2 min | 1 |
| Denaturacja | 95 | 30 s | |
| Przylączenie primerów | 58 | 1 min | 30 |
| Wydłużanie | 72 | 1 min | |
| Wydłużanie końcowe | 72 | 10 min | 1 |
| Utrzymanie temperatury | 4 | ∞ | 1 |

Jako kontrolę wewnętrzną wykorzystano amplifikację fragmentu egzonu 22 genu neurofibrominy 1 (*NF1*).

3.3.3.5 PCR-SSP genu *FCGR3B*

Amplifikacja produktów w reakcji PCR-SSP genu *FCGR3B* (wszystkie allele jednocześnie) zachodziła w mieszaninie reakcyjnej o objętości 10 μ l, w której stężenia końcowe składników były następujące:

- 1x Pol Buffer B
- 3 mM MgCl₂
- 0,32 mM każdego dNTP
- 0,3 μ M startera 3B-NA1
- 0,08 μ M startera 3B-NA2/SH
- 0,16 μ M startera 3B-SH
- 0,5 μ M startera 3B-gene
- 0,5 U polimerazy Taq
- 10 ng genomowego DNA na 1 reakcję

Reakcja PCR-SSP zachodziła w następujących warunkach (profil temperaturowo-czasowy reakcji):

| Etap | Temperatura [°C] | Czas | Liczba cykli |
|------------------------|-------------------------|-------------|---------------------|
| Wstępna denaturacja | 96 | 2 min | 1 |
| Denaturacja | 96 | 30 s | |
| Przylączenie primerów | 63 | 1 min | 32 |
| Wydłużanie | 72 | 30 s | |
| Wydłużanie końcowe | 72 | 5 min | 1 |
| Utrzymanie temperatury | 4 | ∞ | 1 |

Biorąc pod uwagę znaczne podobieństwo allelu NA2 z allelem SH, które różnią się od siebie zaledwie jednym nukleotydem na 6 determinujących rodzaj wariantu polimorficznego, metoda PCR-SSP zastosowana dla genu *FCGR3B* posiada swoiste ograniczenie.

Starter 3B-NA2/SH i 3B-gene są substratami biorącymi udział w tworzeniu produktu reakcji PCR specyficznego zarówno dla allelu NA2, jak i dla SH (produkt NA2/SH). Warto zaznaczyć, że dołączenie starteru 3B-SH do reakcji PCR-SSP umożliwia syntezę produktu, specyficznego jedynie dla allelu SH. Jednak w sytuacji jednoczesnej obecności produktu NA2/SH oraz produktu specyficznego jedynie dla allelu SH, za pomocą zastosowanej metody, najlepszej dla osiągnięcia celów badawczych tej analizy w momencie jej przeprowadzania, nie ma możliwości odróżnienia od siebie genotypów NA2/SH i SH/SH. Biorąc pod uwagę rzadsze występowanie allelu SH niż allelu NA2 w populacji kaukaskiej (10 % vs 63%), uzyskanie wyniku NA2/SH lub SH/SH interpretowano jako obecność genotypu NA2/SH [71,72].

3.3.4 Rozdział produktów amplifikacji

Rozdział produktów amplifikacji przeprowadzono w natywnym żelu poliakrylamidowym o stopniu usieciowania wynoszącym 3 %.

W przypadku rozdziału produktów powstałych na matrycy genów *FCGR2A*, *FCGR2C*, *FCGR3A* i *FCGR3B* stosowano 14 % żel poliakrylamidowy, w którym jako czynnik sieciujący zastosowano bisakrylamid. Na 20 ml żelu składało się 9,33 ml 30 % roztworu akrylamid-bisakrylamid (32:1), 2,4 ml 0,5 M buforu Tris-mrówczan, 8,27 ml wody dejonizowanej, 150 µl 10 % nadsiarczanu amonu i 8 µl TEMED-u.

Obok produktów PCR na żelu poliakrylamidowym umieszczano marker masy molekularnej Gene Ruler, aby określić wielkość amplifikowanych fragmentów DNA. Na obu końcach żelu umieszczano 3 paski bibuły (Whatman 3MM), nasączone buforem łącznikowym, do których następnie przykładano elektrody. Rozdział prowadzono z użyciem aparatu do horyzontalnej elektroforezy poliakrylamidowej Multiphor II (Pharmacia LKB Biotechnology AB, Uppsala, Szwecja) przy napięciu 1500 V, natężeniu 40 mA i mocy 15 W, z użyciem systemu chłodzenia żelu do temperatury 8°C. Rozdział był przerywany, gdy błękit bromofenolowy, znajdujący się w buforze łącznikowym, osiągał anodę.

3.3.5 Barwienie DNA w żelu azotanem srebra

W pierwszym etapie procesu barwienia żelu poliakrylamidowego azotanem srebra przeprowadzano 3- minutową oksydację żelu w 1 % roztworze kwasu azotowego(V). Następnie żel był przemywany wodą dejonizowaną przez 10 sekund, a następnie barwiony w 0,1 % roztworze azotanu(V) srebra(I) przez okres 20 minut. Żel ponownie przemywano wodą dejonizowaną przez 10 sekund, a następnie umieszczano go w schłodzonym do temperatury 4-10 °C roztworze wywołującym (3 % węglan sodu z dodatkiem formaldehydu) do chwili ukazania się prążków DNA w wyniku procesu redukcji. Roztwór wywołujący zlewano, a żel umieszczano na 2 minuty w 10 % roztworze kwasu octowego w celu zatrzymania procesu redukcji.

Po zakończeniu reakcji, żel był ponownie przemywany wodą dejonizowaną, a następnie zanurzany w 5 % roztworze gliceryny na 1 minutę.

3.3.6 Analiza statystyczna

W celu weryfikacji normalności rozkładu wieku w poszczególnych grupach badanych osób posłużono się testem Shapiro-Wilka. Następnie wiek w badanych grupach porównywano z użyciem testu U Manna-Whitneya (test nieparametryczny).

Do oceny różnic w liczbie kobiet i mężczyzn w oraz częstości alleli i genotypów w grupach badanych osób zastosowano dokładny test Fishera. Do przeprowadzenia dokładnego testu Fishera wykorzystywano program STATISTICA (STATISTICA® for Windows v.10, StatSoft, USA). Za miarę istotności statystycznej uznano wartość $p \leq 0,05$. W niniejszej analizie w całości zaprezentowano jedynie wyniki istotne statystycznie.

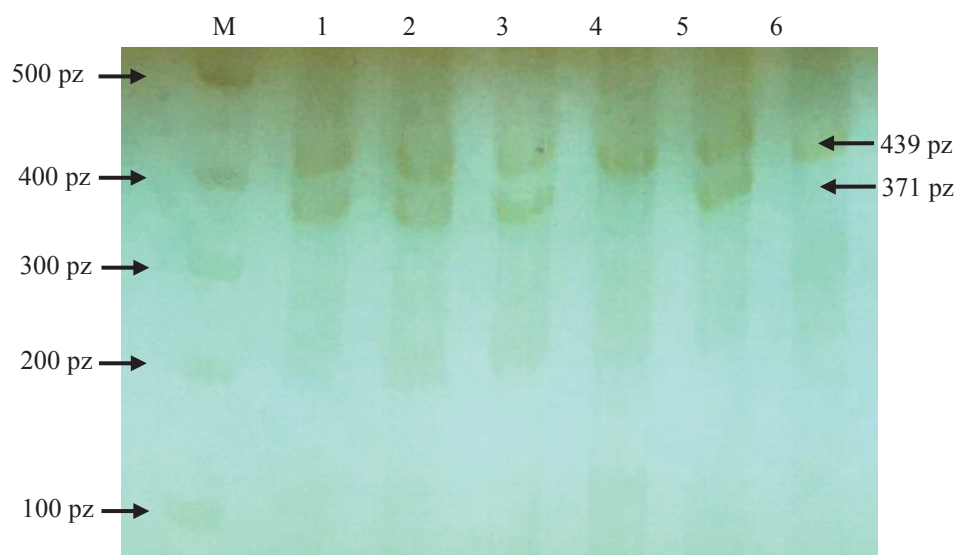
W celu oceny względnego ryzyka rozwoju RZS lub TRU obliczono iloraz szans (*odds ratio*, OR) i jego 95 % przedziały ufności (*confidence intervals*, CIs). Do obliczania OR i CIs dla częstości występowania poszczególnych alleli badanych genów wykorzystywano program Vassar Stats (www.vassarstats.net). W przypadku genotypów, do obliczania OR i CIs korzystano z programu OR calculator OEGE (www.oege.org/software/orcalc.html).

W celu weryfikacji zgodności z prawem Hardy'ego-Weinberga częstości występowania genotypów badanych genów używano programu Hardy-Weinberg equilibrium calculator [143].

4. WYNIKI

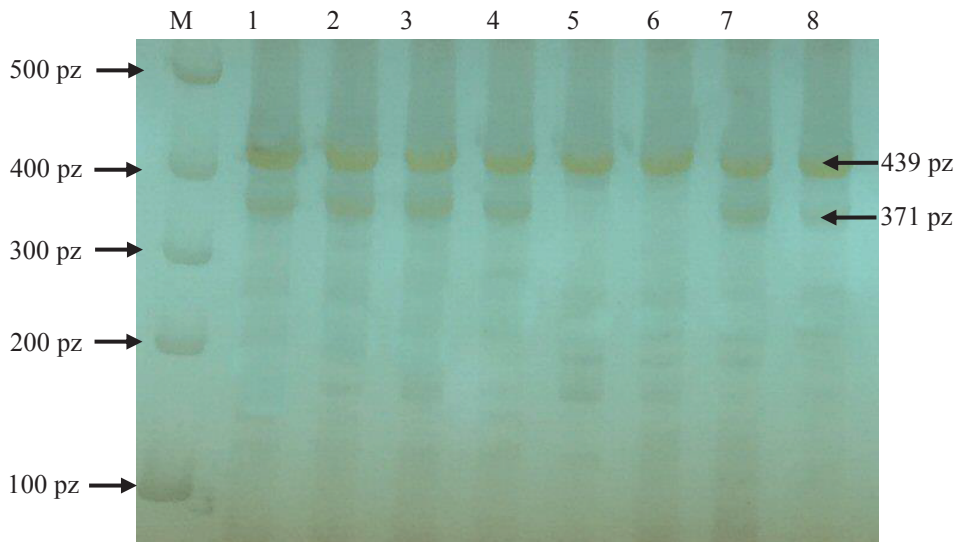
4.1 CZĘSTOŚĆ WYSTĘPOWANIA ALLELI I GENOTYPÓW GENU *FCGR2A* W BADANYCH GRUPACH: CHORYCH NA REUMATOIDALNE ZAPALENIE STAWÓW (RZS), CHORYCH NA TOCZEŃ RUMIENIOWATY UKŁADOWY (TRU) I U OSÓB ZDROWYCH (KONTROLA)

Przykładowy wynik amplifikacji PCR-SSP fragmentu genu *FCGR2A* dla allelu 131H i 131R przedstawiono na rycinie 2 i 3.



Rycina 2. Przykładowy wynik amplifikacji PCR-SSP fragmentu genu *FCGR2A* dla allelu 131H. M - marker masy molekularnej Gene Ruler; 1,2,3,5 – próbki z obecnością allelu 131H; 4,6 – próbki bez allelu 131H

Figure 2. Exemplary result of the *FCGR2A* gene allele 131H PCR-SSP amplification. M- molecular-weight size marker Gene Ruler; 1,2,3,5 – samples with the allele 131H; 4,6 – samples without the allele 131H



Rycina 3. Przykładowy wynik amplifikacji PCR-SSP fragmentu genu *FCGR2A* dla allelu 131R. M - marker masy molekularnej Gene Ruler; 1,2,3,4,7,8 - próbki z obecnością allelu 131R; 5,6 - próbki bez allelu 131R

Figure 3. Exemplary result of the *FCGR2A* gene allele 131R PCR-SSP amplification. M - molecular-weight size marker Gene Ruler; 1,2,3,4,7,8 - samples with the allele 131R; 5,6 - samples without the allele 131R

Badanie polimorfizmu genu *FCGR2A* zostało przeprowadzone u 106 osób z RZS, 92 osób z TRU, w tym 26 z nerkową postacią tocznia układowego oraz u 142 osób zdrowych. Rozkład liczebności poszczególnych genotypów był zgodny z prawem Hardy'ego-Weinberga w grupie pacjentów z RZS ($p = 0,09$), TRU ($p = 0,99$), jak i w grupie osób zdrowych ($p = 0,70$). Częstość występowania poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR2A* w badanych grupach osób przedstawiono odpowiednio w tabeli 9 i 10.

4.1.1 Porównanie częstości występowania alleli i genotypów genu *FCGR2A* pomiędzy pacjentami z RZS a osobami zdrowymi

Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w częstościach alleli i genotypów między pacjentami z RZS a osobami zdrowymi ($p > 0,05$).

4.1.2 Porównanie częstości występowania alleli i genotypów genu *FCGR2A* pomiędzy wszystkimi pacjentami z TRU a osobami zdrowymi

Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w częstościach alleli i genotypów między wszystkimi pacjentami z TRU a osobami zdrowymi ($p > 0,05$).

4.1.3 Porównanie częstości występowania alleli i genotypów genu *FCGR2A* pomiędzy pacjentami z nerkową postacią TRU a osobami zdrowymi

U chorych z nerkową postacią TRU, w porównaniu do osób zdrowych, stwierdzono wzrost obecności allelu 131R, który jednak nie osiągnął istotności statystycznej (55,8 % vs 41,2 %, $p = 0,067$; OR = 1,80, CIs 0,99- 3,27; ryc. 4).

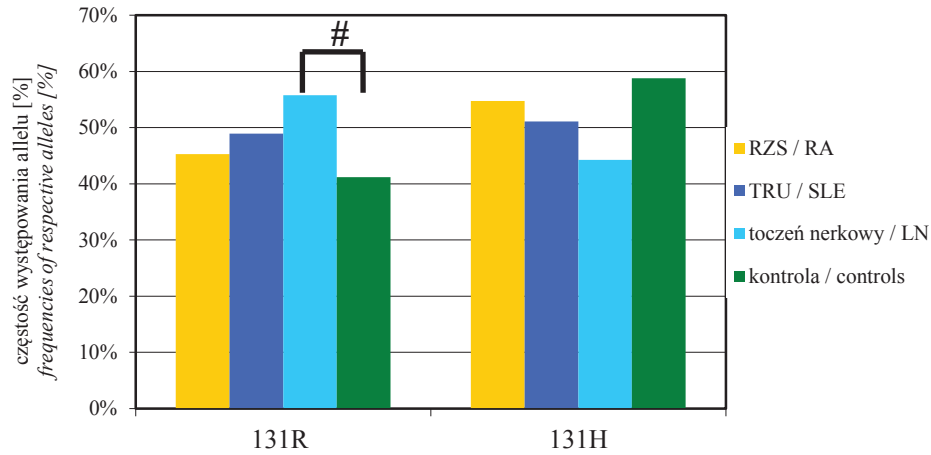
4.1.4 Porównanie częstości występowania alleli i genotypów genu *FCGR2A* pomiędzy pacjentami z RZS a pacjentami z TRU

Nie odnotowano statystycznie istotnych różnic w częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR2A* pomiędzy pacjentami z RZS a ogółem pacjentów z TRU ($p > 0,05$).

Tabela 9. Częstości występowania poszczególnych alleli genu *FCGR2A* w badanych grupach; Allel 131R w postaci nerkowa TRU vs. Kontrola: # $p = 0,067$

Table 9. Frequencies of respective alleles of *FCGR2A* gene in studied groups; 131R allele in lupus nephropathy (LN) vs. Controls: # $p = 0,067$

| Badana grupa <i>Studied group</i> | Liczba poszczególnych alleli (%) <i>Number of respective alleles (%)</i> | |
|--------------------------------------|---|------------|
| | 131R | 131H |
| RZS / RA (n=106) | 96 (45,3) | 116 (54,7) |
| TRU / SLE (n=92) | 90 (48,9) | 94 (51,1) |
| Postać nerkowa TRU / LN (n=26) | 29 (55,8) # | 23 (44,2) |
| Kontrola / Controls (n=142) | 117 (41,2) | 167 (58,8) |



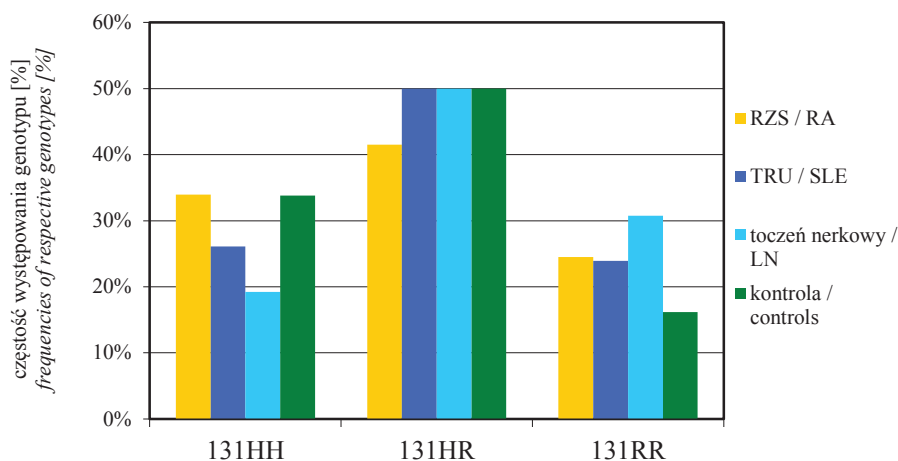
Rycina 4. Częstość występowania poszczególnych alleli genu *FCGR2A* w badanych grupach osób; RZS- reumatoidalne zapalenie stawów, TRU- toczń rumieniowaty układowy; Allel 131R in postać nerkowa TRU vs. Kontrola: # $p = 0,067$

Figure 4. Frequencies of respective alleles of *FCGR2A* gene in studied groups; RA- rheumatoid arthritis, SLE- systemic lupus erythematosus; 131R allele in lupus nephropathy (LN) vs. Controls: # $p = 0,067$

Tabela 10. Częstości występowania poszczególnych genotypów genu *FCGR2A* w badanych grupach

Table 10. Frequencies of respective genotypes of *FCGR2A* gene in studied groups

| Badana grupa <i>Studied group</i> | Liczba poszczególnych genotypów (%) <i>Number of respective genotypes (%)</i> | | |
|--------------------------------------|--|-----------|-----------|
| | 131HH | 131HR | 131RR |
| RZS / RA (n=106) | 36 (34,0) | 44 (41,5) | 26 (24,5) |
| TRU / SLE (n=92) | 24 (26,1) | 46 (50,0) | 22 (23,9) |
| Postać nerkowa TRU / LN (n=26) | 5 (19,2) | 13(50,0) | 8 (30,8) |
| Kontrola / Controls (n=142) | 48 (33,8) | 71 (50,0) | 23 (16,2) |



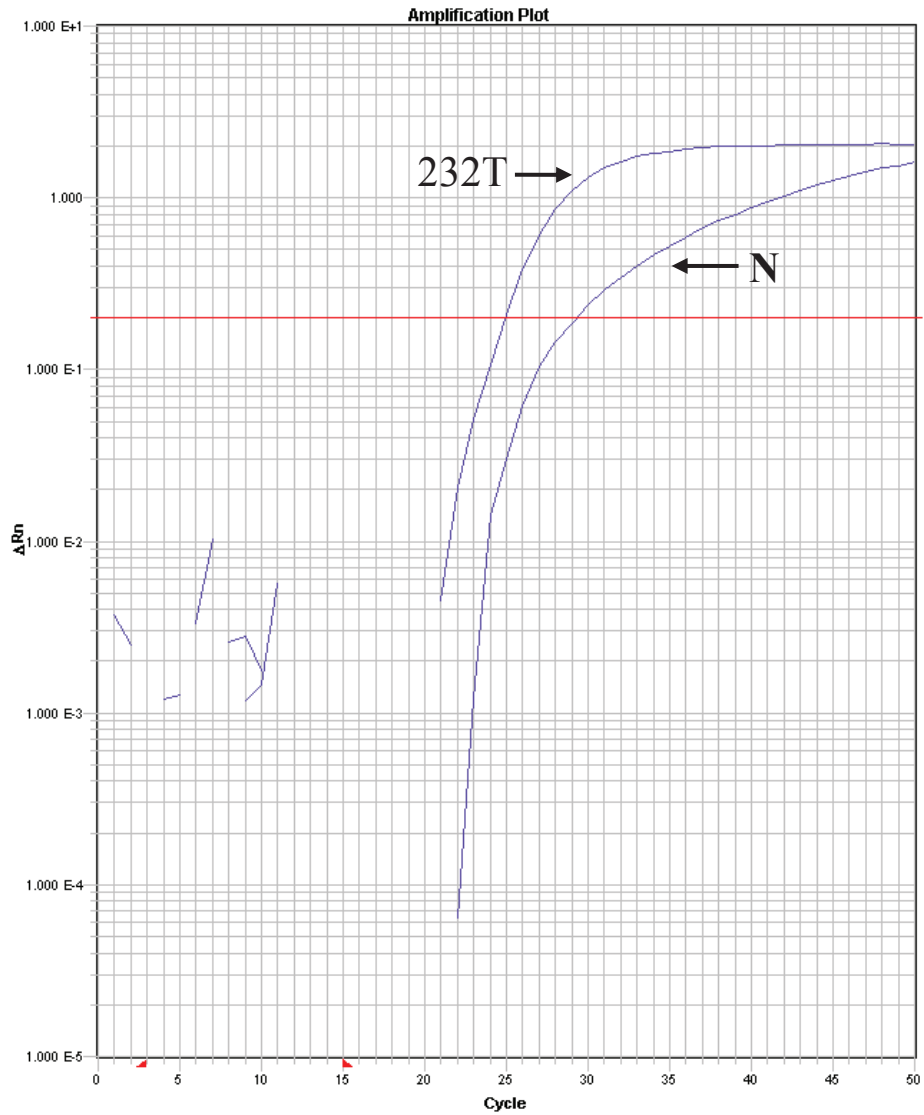
Rycina 5. Częstość występowania poszczególnych genotypów genu *FCGR2A* w badanych grupach osób. RZS- reumatoidalne zapalenie stawów, TRU- toczeń rumieniowaty układowy

Figure 5. Frequencies of respective genotypes of *FCGR2A* gene in studied groups; RA- rheumatoid arthritis, SLE- systemic lupus erythematosus

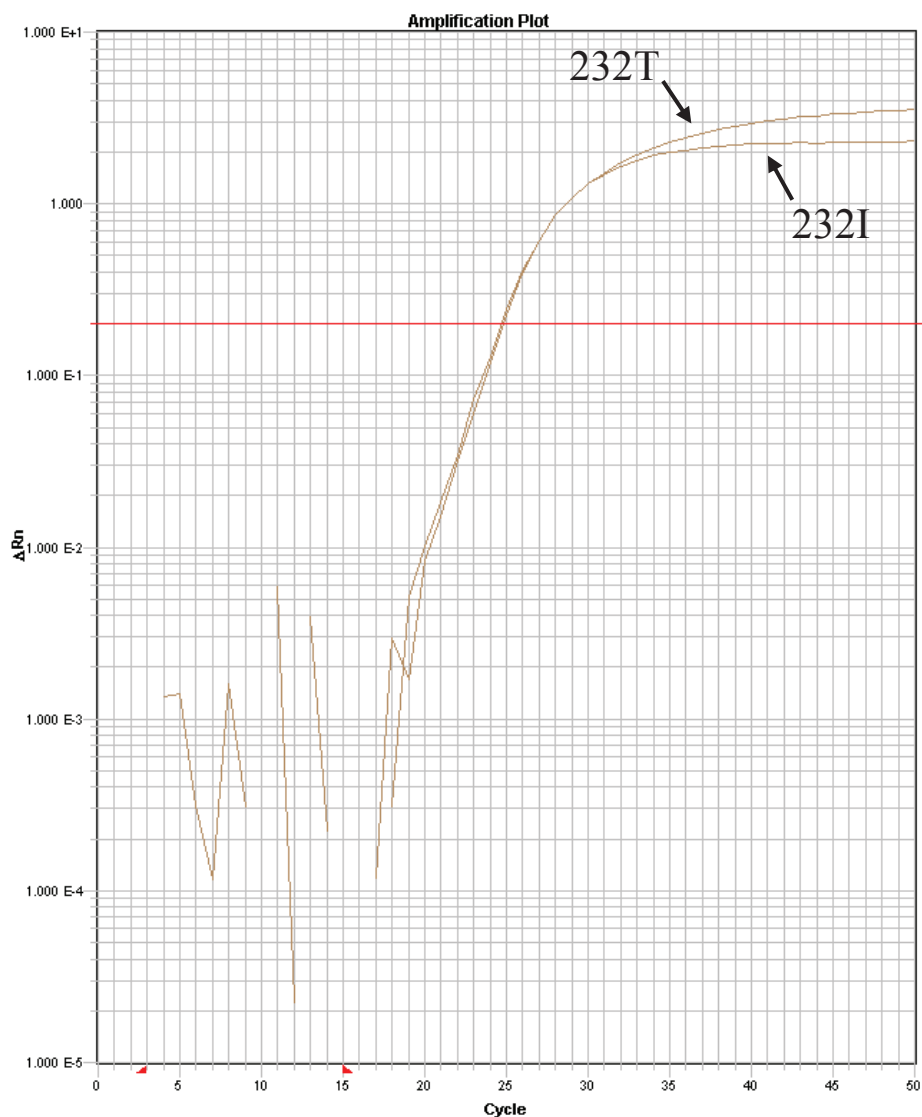
4.2 CZĘSTOŚĆ WYSTĘPOWANIA ALLELI I GENOTYPÓW GENU *FCGR2B* W BADANYCH GRUPACH

Przykładowy wynik reakcji PCR w czasie rzeczywistym genu *FCGR2B* przedstawiono na rycinie 6 i 7.

Badanie polimorfizmu genu *FCGR2B* zostało przeprowadzone u 105 osób z RZS, 97 osób z TRU, w tym u 26 z postacią nerkową TRU oraz u 101 osób zdrowych. Rozkład liczebności poszczególnych genotypów był zgodny z prawem Hardy'ego-Weinberga w grupie pacjentów z RZS ($p = 0,54$), TRU ($p = 0,08$), jak i w grupie osób zdrowych ($p = 0,38$). Częstość występowania poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR2B* w badanych grupach osób przedstawiono odpowiednio w tabeli 11 i 12.



Rycina 6. Przykładowy wynik reakcji qPCR genu *FCGR2B* dla genotypu 232TT; 232T- sygnał amplifikacji allelu 232T; N- niespecyficzny sygnał amplifikacji allelu 232I
Figure 6. Exemplary result of the *FCGR2B* gene qPCR amplification for 232TT genotype; 232T- 232T allele signal; N- 232I allele non-specific signal



Rycina 7. Przykładowy wynik reakcji qPCR genu *FCGR2B* dla genotypu 232IT; 232T- sygnał amplifikacji allelu 232T; 232I- sygnał amplifikacji allelu I

Figure 7. Exemplary result of the *FCGR2B* gene qPCR amplification for 232IT genotype; 232T- 232T allele signal; 232I- 232I allele signal

4.2.1 Porównanie częstości występowania alleli i genotypów genu *FCGR2B* pomiędzy pacjentami z RZS a osobami zdrowymi

Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w częstościach alleli i genotypów między pacjentami z RZS a osobami zdrowymi ($p > 0,05$).

4.2.2 Porównanie częstości występowania alleli i genotypów genu *FCGR2B* pomiędzy wszystkimi pacjentami z TRU a osobami zdrowymi

Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w częstościach alleli i genotypów między wszystkimi pacjentami z TRU a osobami zdrowymi ($p > 0,05$).

4.2.3 Porównanie częstości występowania alleli i genotypów genu *FCGR2B* pomiędzy pacjentami z nerkową postacią TRU a osobami zdrowymi

Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w częstościach alleli i genotypów między pacjentami z nerkową postacią TRU a osobami zdrowymi ($p > 0,05$).

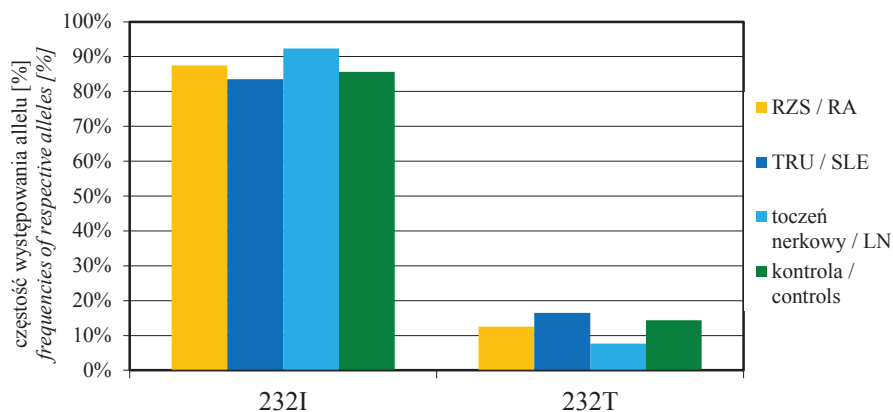
4.2.4 Porównanie częstości występowania alleli i genotypów genu *FCGR2B* pomiędzy pacjentami z RZS a pacjentami z TRU

Nie odnotowano statystycznie istotnych różnic w częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR2B* pomiędzy pacjentami z RZS a ogółem pacjentów z TRU ($p > 0,05$).

Tabela 11. Częstości występowania poszczególnych alleli genu *FCGR2B* w badanych grupach

Table 11. Frequencies of respective alleles of FCGR2B gene in studied groups

| Badana grupa <i>Studied group</i> | Liczba poszczególnych alleli (%) <i>Number of respective alleles (%)</i> | |
|--------------------------------------|---|-----------|
| | 232I | 232T |
| RZS / RA (n=105) | 186 (88,6) | 24 (11,4) |
| TRU / SLE (n=99) | 162 (83,5) | 32 (16,5) |
| Postać nerkowa TRU / LN (n=26) | 48 (92,3) | 4 (7,7) |
| Kontrola / Controls (n=101) | 173 (85,6) | 29 (14,4) |



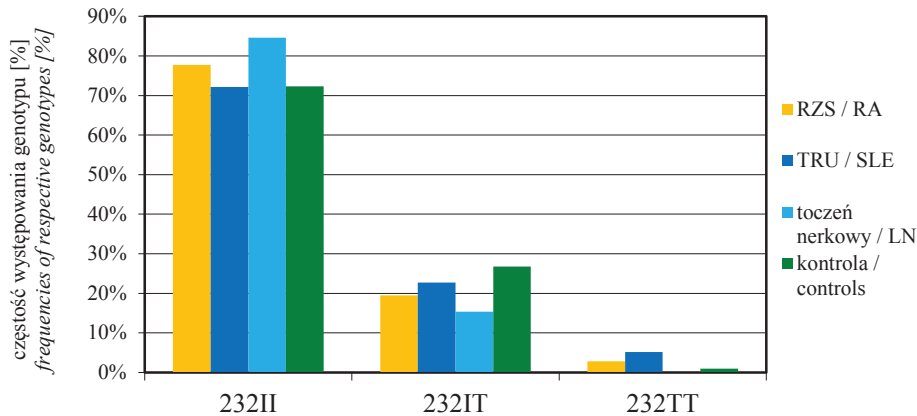
Rycina 8. Częstość występowania poszczególnych alleli genu *FCGR2B* w badanych grupach osób; RZS- reumatoidalne zapalenie stawów, TRU- toczeń rumieniowaty układowy

Figure 8. Frequencies of respective alleles of *FCGR2B* gene in studied groups; RA- rheumatoid arthritis, SLE- systemic lupus erythematosus;

Tabela 12. Częstości występowania poszczególnych genotypów genu *FCGR2B* w badanych grupach

Table 12. Frequencies of respective genotypes of *FCGR2B* gene in studied groups

| Badana grupa <i>Studied group</i> | Liczba poszczególnych genotypów (%) <i>Number of respective genotypes (%)</i> | | |
|---------------------------------------|--|-----------|---------|
| | 232II | 232IT | 232TT |
| RZS / RA (n=105) | 83(79,0) | 20 (19,0) | 2 (1,9) |
| TRU / SLE (n=99) | 70 (72,2) | 22 (22,7) | 5 (5,2) |
| Postać nerkowa TRU / LN (n=26) | 22 (84,6) | 4 (15,4) | 0 (0,0) |
| Kontrola / Controls (n=101) | 73 (72,3) | 27 (26,7) | 1 (1,0) |



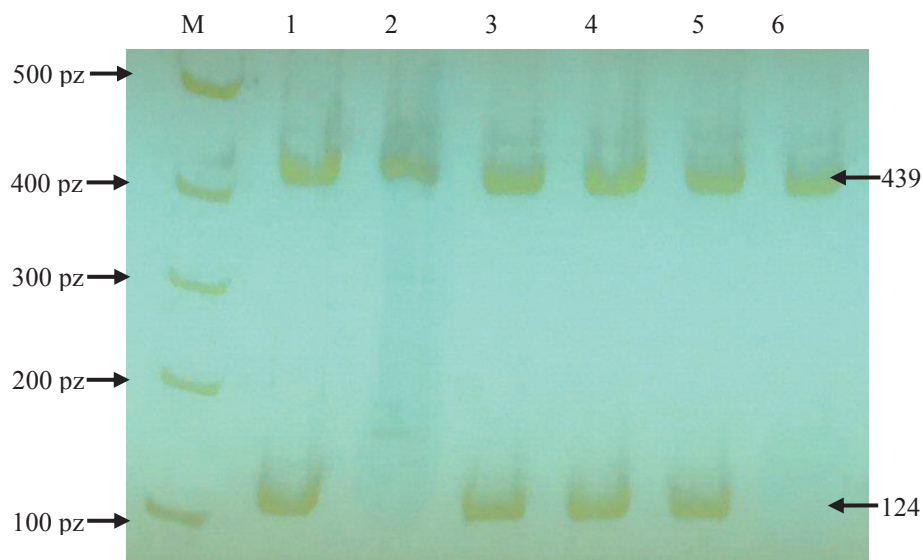
Rycina 9. Częstość występowania poszczególnych genotypów genu *FCGR2B* w badanych grupach osób; RZS- reumatoidalne zapalenie stawów, TRU- toczeń rumieniowaty układowy

Figure 9. Frequencies of respective genotypes of *FCGR2B* gene in studied groups; RA- rheumatoid arthritis, SLE- systemic lupus erythematosus;

4.3 CZĘSTOŚĆ WYSTĘPOWANIA ALLELI I GENOTYPÓW GENU *FCGR2C* W BADANYCH GRUPACH

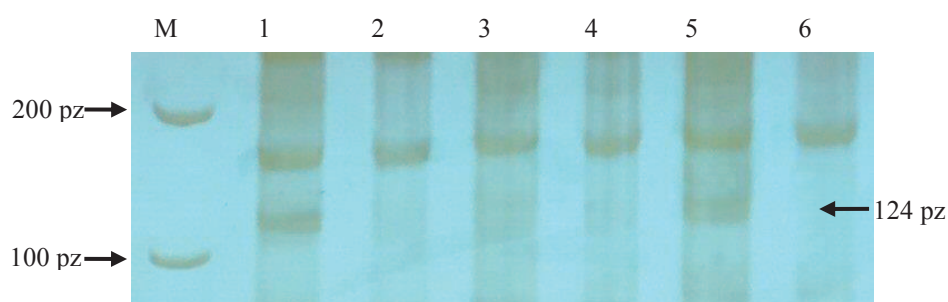
Przykładowy wynik amplifikacji PCR-SSP fragmentu genu *FCGR2C* dla allelu 57X oraz 57Q przedstawiono na rycinie 10 i 11.

Badanie polimorfizmu genu *FCGR2C* zostało przeprowadzone u 106 osób z RZS, 98 osób z TRU, w tym 27 z nerkową postacią toczenia układowego oraz u 144 osób zdrowych. Rozkład liczebności poszczególnych genotypów był zgodny z prawem Hardy'ego-Weinberga w grupie pacjentów z RZS ($p = 0,17$), TRU ($p = 0,84$), jak i w grupie osób zdrowych ($p=0,79$). Częstość występowania poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR2C* w badanych grupach osób przedstawiono odpowiednio w tabeli 13 i 14.



Rycina 10. Przykładowy wynik amplifikacji PCR-SSP fragmentu genu *FCGR2C* dla allelu 57X; M - marker masy molekularnej Gene Ruler; 1,3,4,5 - próbki z obecnością allelu 57X; 2,6 - próbki bez allelu 57X

Figure 10. Exemplary result of the *FCGR2C* gene allele 57X PCR-SSP amplification; M - molecular-weight size marker Gene Ruler; 1,3,4,5 - samples with the allele 57X; 2,6 - samples without the allele 57X



Rycina 11. Przykładowy wynik amplifikacji PCR-SSP fragmentu genu *FCGR2C* dla allelu 57Q; M - marker masy molekularnej Gene Ruler; 1,5 - próbki z obecnością allelu 57Q; 2,3,4,6 - próbki bez allelu 57Q

Figure 11. Exemplary result of the *FCGR2C* gene allele 57Q PCR-SSP amplification; M - molecular-weight size marker Gene Ruler; 1,5 - samples with the allele 57Q; 2,3,4,6 - samples without the allele 57Q

4.3.1 Porównanie częstości występowania alleli i genotypów genu *FCGR2C* pomiędzy pacjentami z RZS a osobami zdrowymi

Zaobserwowano statystycznie istotną różnicę w częstościach alleli *FCGR2C* między pacjentami z RZS a grupą kontrolną. Allel 57Q występował statystycznie częściej w RZS w porównaniu do grupy kontrolnej (22,6% vs. 13,5%; $p = 0,009$; OR = 1,87, CIs 1,17- 2,98; ryc. 12).

Zaobserwowano również statystycznie istotne różnice w częstościach genotypów *FCGR2C* 57XX i 57XQ między pacjentami z RZS a grupą kontrolną. Genotyp 57XX występował statystycznie rzadziej w RZS w porównaniu do grupy kontrolnej (57,5% vs. 75,0%; $p = 0,004$; OR = 0,44, CIs 0,26-0,77 dla stosunku 57XX do 57XQ). Genotyp 57XQ występował statystycznie częściej w RZS w porównaniu do grupy kontrolnej (39,6% vs. 22,9%; $p = 0,005$; OR = 2,25, CIs 1,30-3,92 dla stosunku 57XQ do 57XX; ryc. 13).

4.3.2 Porównanie częstości występowania alleli i genotypów genu *FCGR2C* pomiędzy wszystkimi pacjentami z TRU a osobami zdrowymi

Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w częstościach alleli i genotypów między wszystkimi pacjentami z TRU a osobami zdrowymi ($p > 0,05$).

4.3.3 Porównanie częstości występowania alleli i genotypów genu *FCGR2C* pomiędzy pacjentami z nerkową postacią TRU a osobami zdrowymi

Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w częstościach alleli i genotypów między pacjentami z nerkową postacią TRU a osobami zdrowymi ($p > 0,05$).

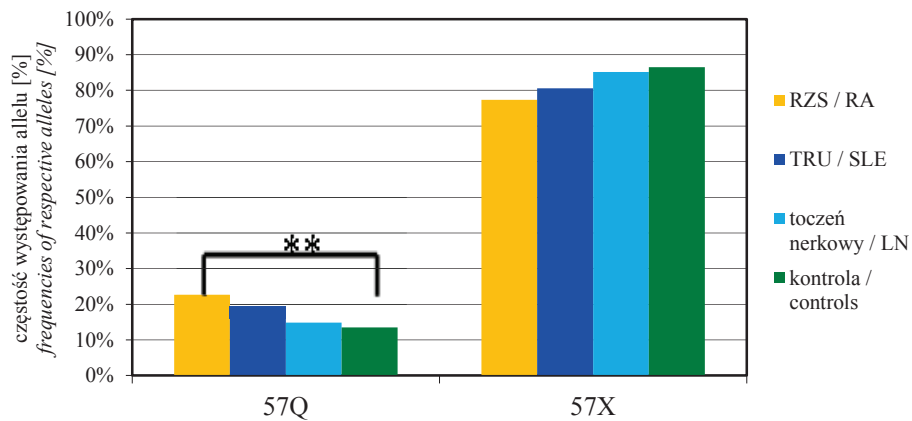
4.3.4 Porównanie częstości występowania alleli i genotypów genu *FCGR2C* pomiędzy pacjentami z RZS a pacjentami z TRU

Nie odnotowano statystycznie istotnych różnic w częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR2C* pomiędzy pacjentami z RZS a ogółem pacjentów z TRU ($p > 0,05$).

Tabela 13. Częstości występowania poszczególnych alleli genu *FCGR2C* w badanych grupach; Allel 57Q w RZS vs. Kontrola: ** $p < 0,01$

Table 13. Frequencies of respective alleles of *FCGR2C* gene in studied groups; 57Q allele in RA vs. Controls: ** $p < 0,01$

| Badana grupa <i>Studied group</i> | Liczba poszczególnych alleli (%) <i>Number of respective alleles (%)</i> | |
|--------------------------------------|---|-------------|
| | 57X | 57Q |
| RZS / RA (n=106) | 164 (77,4) | 48 (22,6)** |
| TRU / SLE (n=98) | 158 (80,6) | 38 (19,4) |
| Postać nerkowa TRU / LN (n=27) | 46 (85,2) | 8 (14,8) |
| Kontrola / Controls (n=144) | 249 (86,5) | 39 (13,5) |



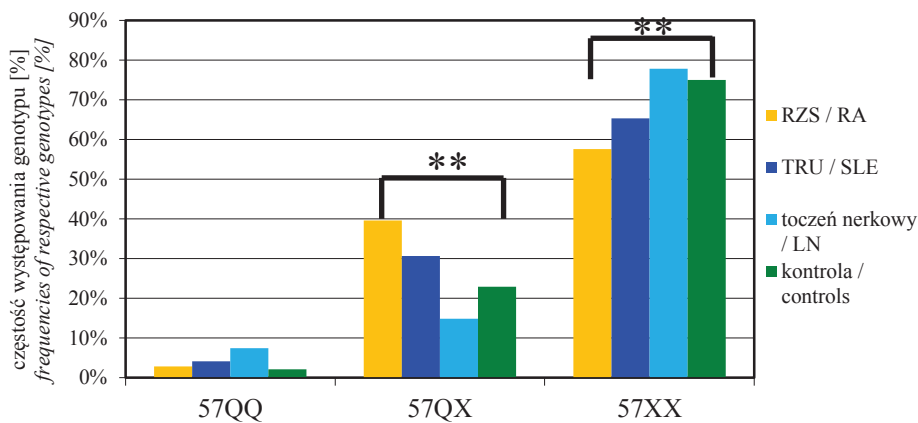
Rycina 12. Częstość występowania poszczególnych alleli genu *FCGR2C* w badanych grupach osób; RZS- reumatoidalne zapalenie stawów, TRU- toczeń rumieniowaty układowy; Allel 57Q w RZS vs. Kontrola: ** $p < 0,01$

Figure 12. Frequencies of respective alleles of *FCGR2C* gene in studied groups; RA- rheumatoid arthritis, SLE- systemic lupus erythematosus; 57Q allele in RA vs. Controls: ** $p < 0,01$

Tabela 14. Częstości występowania poszczególnych alleli genu *FCGR2C* w badanych grupach; Allel 57Q w RZS vs. Kontrola: ** $p < 0,01$

Table 14. Frequencies of respective alleles of *FCGR2C* gene in studied groups; 57Q allele in RA vs. Controls: ** $p < 0,01$

| Badana grupa Studied group | Liczba poszczególnych genotypów (%) Number of respective genotypes (%) | | |
|--------------------------------|---|-------------|---------|
| | 57XX | 57XQ | 57QQ |
| RZS / RA (n=106) | 61 (57,5)** | 42 (39,6)** | 3 (2,8) |
| TRU / SLE (n=98) | 64 (65,3) | 30 (30,6) | 4 (4,1) |
| Postać nerkowa TRU / LN (n=27) | 21 (77,8) | 4 (14,8) | 2 (7,4) |
| Kontrola / Controls (n=144) | 108 (75,0) | 33 (22,9) | 3 (2,1) |



Rycina 13. Częstość występowania poszczególnych genotypów genu *FCGR2C* w badanych grupach osób; RZS- reumatoidalne zapalenie stawów, TRU- toczeń rumieniowaty układowy; 57XQ w RZS vs. Kontrola: ** $p < 0,01$, 57XX w RZS vs. Kontrola: ** $p < 0,01$

Figure 13. Frequencies of respective genotypes of *FCGR2C* gene in studied groups; RA- rheumatoid arthritis, SLE- systemic lupus erythematosus; 57XQ in RA vs. Controls: ** $p < 0,01$, 57XX in RA vs. Controls: ** $p < 0,01$

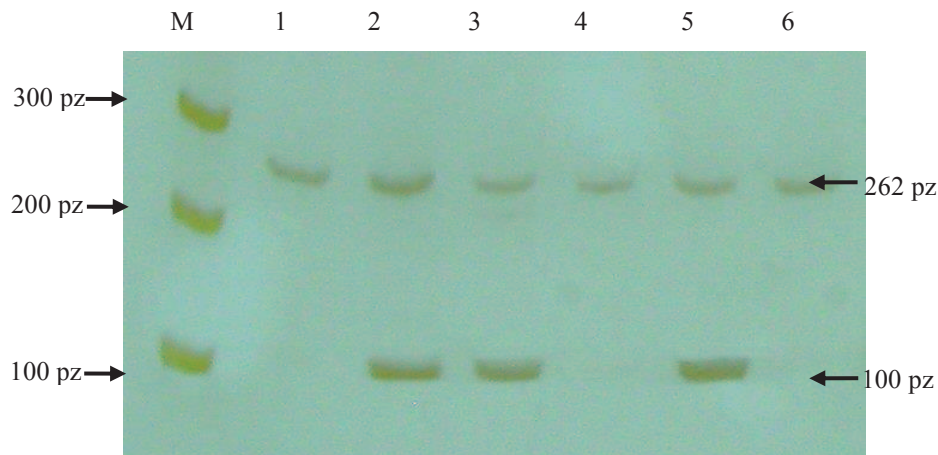
4.4 CZĘSTOŚĆ WYSTĘPOWANIA ALLELI I GENOTYPÓW GENU *FCGR3A* W BADANYCH GRUPACH

Przykładowy wynik amplifikacji PCR-SSP fragmentu genu *FCGR3A* dla allelu 158F i 158V przedstawiono na rycinie 14 i 15.



Rycina 14. Przykładowy wynik amplifikacji fragmentu genu *FCGR3A* i wewnętrznej kontroli reakcji PCR-SSP dla allelu 158F; M - marker masy molekularnej Gene Ruler; 1,2,3,6 - próbki z obecnością allelu 158F; 4,5 - próbki bez allelu 158F

Figure 14. Exemplary result of the *FCGR3A* gene allele 158F PCR-SSP amplification; M - molecular-weight size marker Gene Ruler; 1,2,3,6 - samples with the allele 158F; 4,5 - samples without the allele 158F



Rycina 15. Przykładowy wynik amplifikacji fragmentu genu *FCGR3A* i wewnętrznej kontroli reakcji PCR-SSP dla allelu 158V; M - marker masy molekularnej Gene Ruler; 2,3,5 - próbki z obecnością allelu 158V; 1,4,6 - próbki bez allelu 158F

Figure 15. Exemplary result of the *FCGR3A* gene allele 158V PCR-SSP amplification; M - molecular-weight size marker Gene Ruler; 2,3,5 - samples with the allele 158F; 1,4,6 - samples without the allele 158F

Badanie polimorfizmu genu *FCGR3A* zostało przeprowadzone u 101 osób z RZS, 97 osób z TRU, w tym 26 z nerkową postacią TRU oraz u 143 osób zdrowych. Rozkład liczebności poszczególnych genotypów był zgodny z prawem Hardy'ego-Weinberga w grupie pacjentów z RZS ($p=0,20$), TRU ($p=0,61$), jak i w grupie osób zdrowych ($p=0,19$). Częstość występowania poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR3A* w badanych grupach osób przedstawiono odpowiednio w tabeli 15 i 16.

4.4.1 Porównanie częstości występowania alleli i genotypów genu *FCGR3A* pomiędzy pacjentami z RZS a osobami zdrowymi

Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w częstościach alleli i genotypów między pacjentami z RZS a osobami zdrowymi ($p > 0,05$).

4.4.2 Porównanie częstości występowania alleli i genotypów genu *FCGR3A* pomiędzy wszystkimi pacjentami z TRU a osobami zdrowymi

Odnotowano statystycznie istotne różnice w częstościach alleli *FCGR3A* między pacjentami z TRU a osobami zdrowymi. Allel 158F występował statystycznie częściej w TRU w porównaniu do osób zdrowych (66,5% vs. 56,6%, $p = 0,036$; OR=1,52, CI 1,04- 2,22; ryc. 16).

Zaobserwowano również statystycznie istotne różnice w częstościach genotypu *FCGR3A* 158FF między pacjentami z TRU a grupą kontrolną. Genotyp 158FF występował częściej u pacjentów z TRU w porównaniu do grupy osób zdrowych (45,4% vs. 29,4%, $p = 0,014$; OR=1,99, CI 1,13-3,51 dla stosunku 158FF do 158FV; ryc. 17).

4.4.3 Porównanie częstości występowania alleli i genotypów genu *FCGR3A* pomiędzy pacjentami z nerkową postacią TRU a osobami zdrowymi

Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w częstościach alleli i genotypów genu *FCGR3A* między pacjentami z nerkową postacią TRU a osobami zdrowymi ($p > 0,05$).

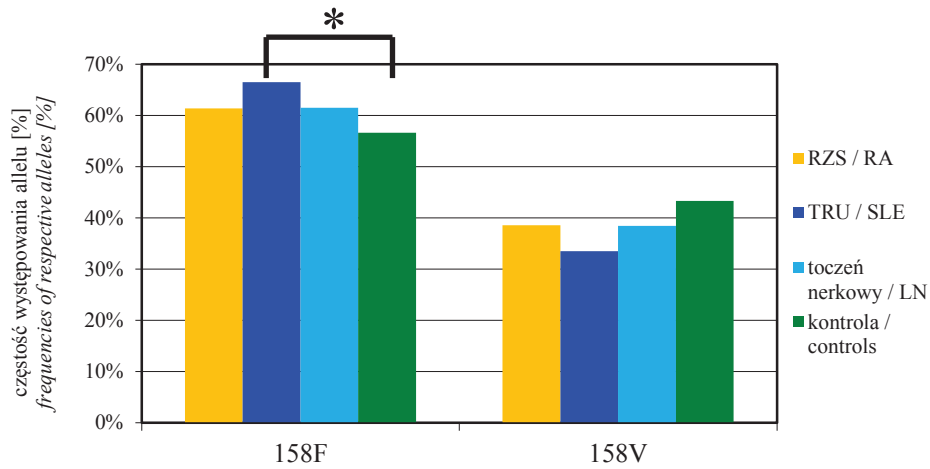
4.4.4 Porównanie częstości występowania alleli i genotypów genu *FCGR3A* pomiędzy pacjentami z RZS a pacjentami z TRU

Nie odnotowano statystycznie istotnych różnic w częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR3A* pomiędzy pacjentami z RZS a ogółem pacjentów z TRU ($p > 0,05$).

Tabela 15. Częstości występowania poszczególnych alleli genu *FCGR3A* w badanych grupach osób; 158F w TRU vs. Kontrola: * $p < 0,05$

Table 15. Frequencies of respective alleles of *FCGR3A* gene in studied groups; 158F in SLE vs. Controls: * $p < 0,05$

| Badana grupa <i>Studied group</i> | Liczba poszczególnych alleli (%) <i>Number of respective alleles (%)</i> | |
|---------------------------------------|---|------------|
| | 158F | 158V |
| RZS / RA (n=101) | 124 (61,4) | 78 (38,6) |
| TRU / <i>SLE</i> (n=97) | 129 (66,5)* | 65 (33,5) |
| Postać nerkowa TRU / <i>LN</i> (n=26) | 32 (61,5) | 20 (38,5) |
| Kontrola / <i>Controls</i> (n=143) | 162 (56,6) | 124 (43,3) |



Rycina 16. Częstość występowania poszczególnych alleli genu *FCGR3A* w badanych grupach osób; RZS- reumatoidalne zapalenie stawów, TRU- toczień rumieniowaty układowy; 158F w TRU vs. Kontrola: * $p < 0,05$

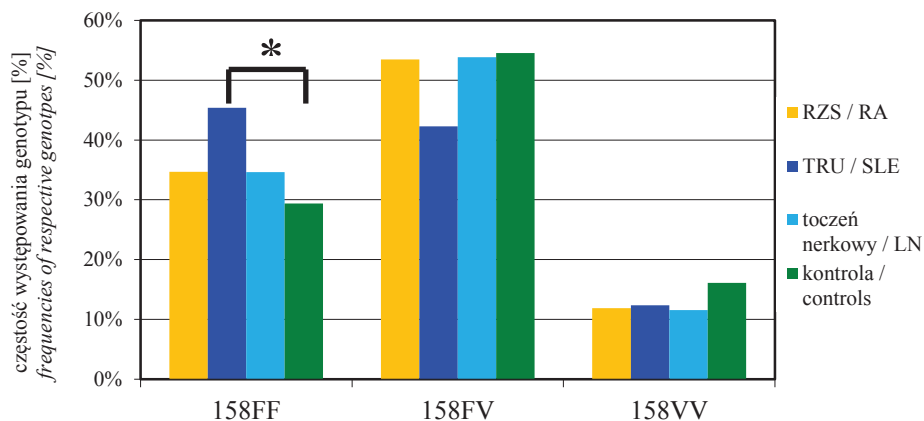
Figure 16. Frequencies of respective alleles of *FCGR3A* gene in studied groups; RA- rheumatoid arthritis, SLE- systemic lupus erythematosus; 158F in SLE vs. Controls:

* $p < 0,05$

Tabela 16. Częstości występowania poszczególnych genotypów genu *FCGR3A* w badanych grupach osób; 158FF w TRU vs. Kontrola: * $p < 0,05$

Table 16. Frequencies of respective genotypes of *FCGR3A* gene in studied groups; 158FF in TRU vs. Controls: * $p < 0,05$

| Badana grupa <i>Studied group</i> | Liczba poszczególnych genotypów (%) <i>Number of respective genotypes (%)</i> | | |
|--------------------------------------|--|-----------|-----------|
| | 158FF | 158FV | 158VV |
| RZS / RA (n=101) | 35 (34,7) | 54 (53,5) | 12 (11,9) |
| TRU / SLE (n=97) | 44 (45,4)* | 41 (42,3) | 12 (12,4) |
| Postać nerkowa TRU / LN (n=26) | 9 (34,6) | 14 (53,8) | 3 (11,5) |
| Kontrola / Controls (n=143) | 42 (29,4) | 78 (54,5) | 23 (16,1) |



Rycina 17. Częstość występowania poszczególnych genotypów genu *FCGR3A* w badanych grupach osób; RZS- reumatoidalne zapalenie stawów, TRU- toczень rumieniowaty układowy; 158FF w TRU vs. Kontrola: * $p < 0,05$

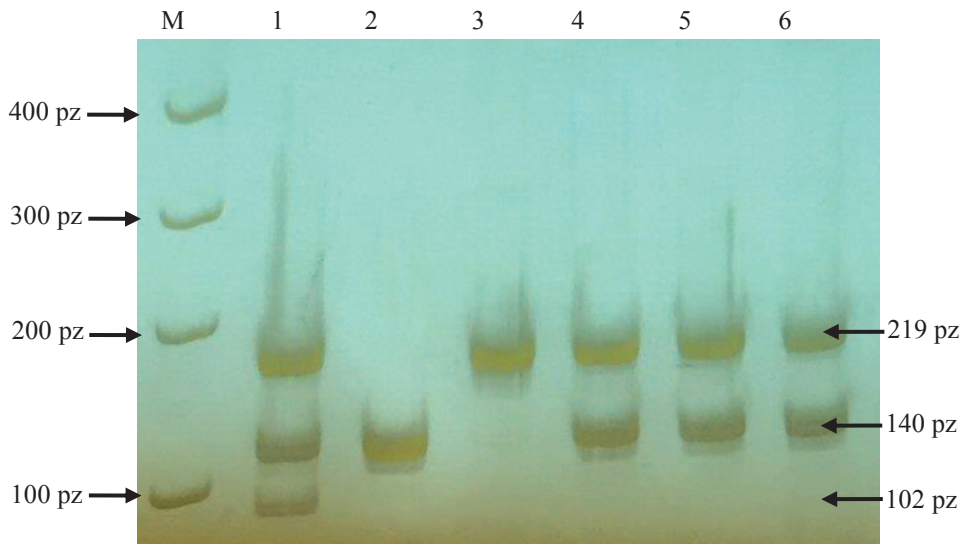
Figure 17. Frequencies of respective genotypes of *FCGR3A* gene in studied groups; RA- rheumatoid arthritis, SLE- systemic lupus erythematosus; 158FF in SLE vs. Controls: * $p < 0,05$

4.5 CZĘSTOŚĆ WYSTĘPOWANIA ALLELI I GENOTYPÓW GENU *FCGR3B* W BADANYCH GRUPACH

Przykładowy wynik amplifikacji fragmentów genu *FCGR3B* dla poszczególnych genotypów przedstawiono na rycinie 18.

Badanie polimorfizmu genu *FCGR3B* zostało przeprowadzone u 105 osób z RZS, 96 osób z TRU, w tym 26 z nerkową postacią TRU oraz u 148 osób zdrowych. Rozkład liczebności poszczególnych genotypów był zgodny z prawem Hardy'ego-Weinberga w grupie pacjentów z RZS ($p = 0,12$), TRU ($p = 0,37$), jak i w grupie osób zdrowych ($p = 0,84$).

Częstość występowania poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR3B* w badanych grupach osób przedstawiono odpowiednio w tabeli 17 i 18.



Rycina 18. Przykładowy wynik amplifikacji fragmentów genu *FCGR3B*; M - marker masy molekularnej Gene Ruler; 1- genotyp NA1/SH; 2 – NA1/NA1; 3 – NA2/NA2; 4, 5,6- NA1/NA2

Figure 18. Exemplary result of the *FCGR3B* gene PCR-SSP amplification; M - molecular-weight size marker Gene Ruler; 1- NA1/SH genotype; 2- NA1/NA1; 3- NA2/NA2; 4,5,6- NA1/NA2

4.5.1 Porównanie częstości występowania alleli i genotypów genu *FCGR3B* pomiędzy pacjentami z RZS a osobami zdrowymi

Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w częstościach alleli i genotypów między pacjentami z RZS a osobami zdrowymi ($p > 0,05$).

4.5.2 Porównanie częstości występowania alleli i genotypów genu *FCGR3B* pomiędzy wszystkimi pacjentami z TRU a osobami zdrowymi

Zaobserwowano statystycznie istotne różnice w częstościach allelu *FCGR3B**SH między pacjentami z TRU a grupą kontrolną. Allel *FCGR3B**SH występował statystycznie rzadziej w TRU w porównaniu do grupy osób zdrowych (1,0% vs 5,4%, $p = 0,013$; OR=0,19, CIs 0,04-0,84; ryc. 19).

Odnotowano również statystycznie istotną różnicę w częstościach genotypu *FCGR3B* NA1/SH między pacjentami z TRU a grupą kontrolną. Genotyp ten występował statystycznie rzadziej w TRU w porównaniu do grupy kontrolnej (2,1% vs. 9,5%; $p = 0,032$; ryc. 20).

4.5.3 Porównanie częstości występowania alleli i genotypów genu *FCGR3B* pomiędzy pacjentami z nerkową postacią TRU a osobami zdrowymi

Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w częstościach alleli i genotypów genu *FCGR3B* między pacjentami z nerkową postacią TRU a osobami zdrowymi ($p > 0,05$).

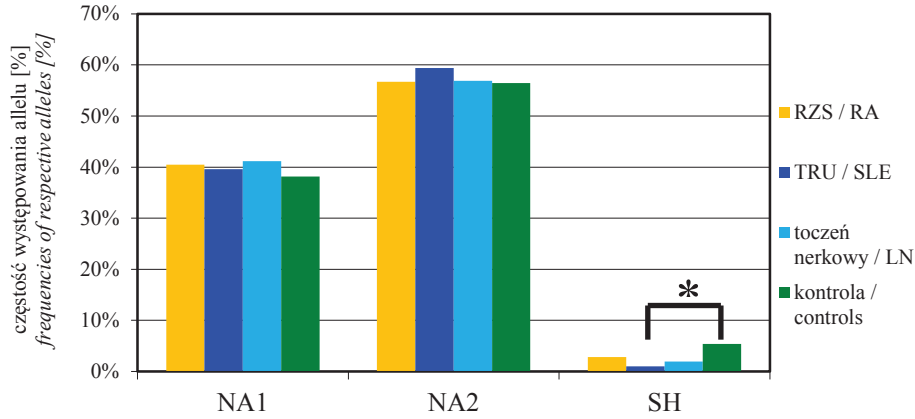
4.5.4 Porównanie częstości występowania alleli i genotypów genu *FCGR3B* pomiędzy pacjentami z RZS a pacjentami z TRU

Nie odnotowano statystycznie istotnych różnic w częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów genu *FCGR3B* pomiędzy pacjentami z RZS a ogółem pacjentów z TRU ($p > 0,05$).

Tabela 17. Częstości występowania poszczególnych alleli genu *FCGR3B* w badanych grupach osób; *FCGR3B**SH w TRU vs. Kontrola: * $p < 0,05$

Table 17. Frequencies of respective alleles of *FCGR3B* gene in studied groups; *FCGR3B**SH in SLE vs. Controls: * $p < 0,05$

| Badana grupa <i>Studied group</i> | Liczba poszczególnych alleli (%) <i>Number of respective alleles (%)</i> | | |
|---------------------------------------|---|------------|----------|
| | NA1 | NA2 | SH |
| RZS / RA (n=105) | 85 (40,5) | 119 (56,7) | 6 (2,9) |
| TRU / <i>SLE</i> (n=96) | 76 (39,6) | 114 (59,4) | 2 (1,0)* |
| Postać nerkowa TRU / <i>LN</i> (n=26) | 22 (42,3) | 29 (55,8) | 1 (1,9) |
| Kontrola / <i>Controls</i> (n=148) | 113 (38,2) | 167 (56,4) | 16 (5,4) |



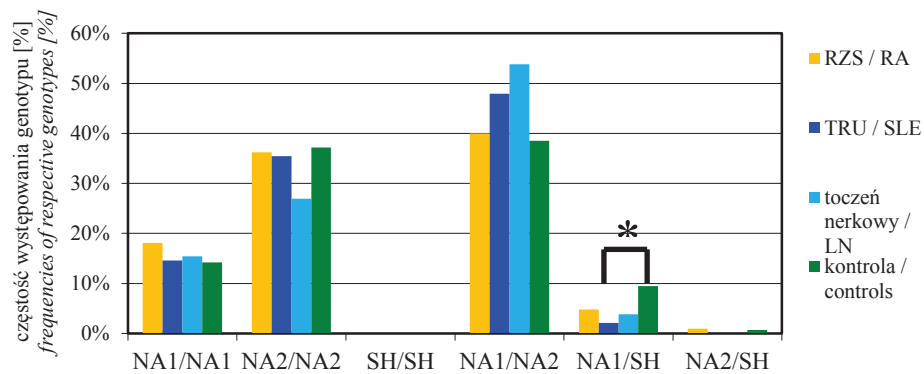
Rycina 19. Częstość występowania poszczególnych alleli genu *FCGR3B* w badanych grupach osób; RZS- reumatoidalne zapalenie stawów, TRU- toczień rumieniowaty układowy; *FCGR3B*SH* in TRU vs. Kontrola: * $p < 0,05$

Figure 19. Frequencies of respective alleles of *FCGR3B* gene in studied groups; RA- rheumatoid arthritis, SLE- systemic lupus erythematosus; *FCGR3B*SH* in SLE vs. Controls: * $p < 0,05$

Tabela 18. Częstości występowania poszczególnych genotypów genu *FCGR3B* w badanych grupach osób; *FCGR3B*NA1/SH* w TRU vs. Kontrola: * $p < 0,05$

Table 18. Frequencies of respective genotypes of *FCGR3B* gene in studied groups; *FCGR3B*NA1/SH* in SLE vs. Controls: * $p < 0,05$

| Badana grupa Studied group | Liczba poszczególnych genotypów (%) Number of respective genotypes (%) | | | | | |
|---------------------------------------|---|-----------|-------|-----------|----------|---------|
| | NA1/NA1 | NA2/NA2 | SH/SH | NA1/NA2 | NA1/SH | NA2/SH |
| RZS / RA (n=105) | 12 (18,1) | 38 (36,2) | 0 (0) | 42 (40) | 5 (4,8) | 1 (1,0) |
| TRU / SLE (n=96) | 14 (14,6) | 34 (35,4) | 0 (0) | 46 (47,9) | 2 (2,1)* | 0 (0) |
| Postać nerkowa TRU / LN (n=26) | 4 (15,4) | 7 (26,9) | 0 (0) | 14 (53,8) | 1 (3,8) | 0 (0) |
| Kontrola / Controls (n=148) | 21 (14,2) | 55 (37,2) | 0 (0) | 57 (38,5) | 14 (9,5) | 1 (0,7) |



Rycina 20. Częstość występowania poszczególnych genotypów genu *FCGR3B* w badanych grupach osób; RZS- reumatoidalne zapalenie stawów, TRU- tocień rumieniowaty układu; NA1/SH in TRU vs. Kontrola: * $p < 0,05$

Figure 20. Frequencies of respective genotypes of *FCGR3B* gene in studied groups; RA- rheumatoid arthritis, SLE- systemic lupus erythematosus; NA1/SH in SLE vs. Controls: * $p < 0,05$

5. DYSKUSJA

Receptory Fc γ RII i Fc γ RIII, obecne na komórkach układu immunologicznego, pełnią kluczową rolę w usuwaniu KI, dlatego polimorficzne warianty w genach kodujących te receptory (*FCGR2A*, *FCGR2B*, *FCGR2C*, *FCGR3A*, *FCGR3B*) często zaburzają proces fagocytozy antygenów (Ag) związanych z IgG, degradację tych KI z następowym uwolnieniem i prezentacją Ag komórkom prezentującym antygen (np. DC, monocyty, makrofagi, limfocyty B). Efektem tego może być nadmierna aktywacja APC oraz limfocytów T i B z następowym ich różnicowaniem czy proliferacją, które prowadzą do rozwoju odpowiedzi immunologicznej, charakterystycznej dla chorób autoimmunizacyjnych. Ponadto polimorfizmy genów *FCGR* wpływają na fagocytozę, apoptozę, reakcję cytotoksyczności z udziałem przeciwciał, ekspresję cytokin prozapalnych (IL-6, IL-1 β , TNF- α) czy wytwarzanie rodników hydroksylowych przez komórki układu immunologicznego.

Udowodniono częstsze występowanie alleli z grupy „low responder” (131R, 232I, 158F, NA2 odpowiednio dla genów *FCGR2A*, *FCGR2B*, *FCGR3A*, *FCGR3B*) w chorobach autoimmunizacyjnych, charakteryzujących się obecnością krążących KI, których zmniejszone usuwanie, spowodowane dysfunkcją tych receptorów prowadzi do immunokomplekssemii oraz indukcji i/lub nasilenia procesów (auto)immunizacyjnych. Natomiast, allele z grupy „high responder” (131H, 232T, 158V, NA1 dla w/w genów) obecne były częściej u pacjentów z chorobami, związanymi z nadmierną aktywacją leukocytów z udziałem receptorów Fc γ R i z następowym rozwojem reakcji zapalnej, a w konsekwencji uszkodzeniem tkanek (omówiono w [20]).

Dotychczas wykazano związek polimorfizmów genów kodujących receptory Fc γ RII i Fc γ RIII z licznymi w/w jednostkami chorobowymi z autoagresji (APS, MPA, GCA, GPA, ITP, choroba Kawasaki, choroba Behçeta, IPF, sarkoidoza, UC, choroba Leśniowskiego-Crohna, miastenia, GBS) (omówiono w [20,107, 108,183,185]).

W dotychczasowych badaniach pojedynczych polimorfizmów genów kodujących receptory Fc γ RII i Fc γ RIII w różnych grupach etnicznych na świecie pacjentów z RZS i TRU, zauważalna jest tendencja do występowania SNP z grupy „high responder” u chorych na RZS (158V), natomiast w TRU odnotowuje się częstsze występowanie alleli „low responder” (131R, 158F, NA2). Jednakże, powyższe obserwacje wykazują dużą zmienność w zależności od populacji, w której były badane, dlatego w niniejszej pracy przeprowadzono analizę polimorfizmów genów *FCGR* u chorych na RZS i TRU w jednorodnej etnicznie populacji kaukaskiej mieszkańców północnej Polski. Ponadto, z uwagi na tendencję do występowania polimorfizmów z grupy „high i low responder” odpowiednio w RZS i TRU, przeprowadzono również analizę porównawczą tych jednostek chorobowych. Natomiast, biorąc pod uwagę szczególnie udział kompleksów immunologicznych w patogenezie nerkowej postaci TRU oraz rolę receptorów Fc γ RII i Fc γ RIII w ich usuwaniu, wykonano analizę częstości występowania polimorfizmów genów *FCGR* u chorych z nefropatią toczniową.

5.1 PORÓWNANIE CZĘSTOŚCI WYSTĘPOWANIA ALLELI I GENOTYPÓW FCGR2A U PACJENTÓW Z RZS, TRU, Z NERKOWĄ POSTACIĄ TRU I U OSÓB ZDROWYCH

W niniejszej pracy przedstawiono wyniki analizy polimorfizmu H131R genu *FCGR2A* u pacjentów z RZS, TRU oraz u osób zdrowych. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w częstościach występowania poszczególnych alleli oraz genotypów genu *FCGR2A* pomiędzy badanymi populacjami chorych oraz pomiędzy pacjentami a grupą zdrowych ochotników.

Jest to pierwsza taka analiza przeprowadzona wśród chorych na RZS i TRU pochodzących z jednorodnej populacji mieszkańców północnej Polski oraz pierwsza na świecie analiza porównawcza pomiędzy populacjami tych pacjentów.

Dotychczas przeprowadzone badania nie wykazały jednoznacznie wpływu polimorfizmu H131R na zachorowanie na RZS w populacji kaukaskiej. Zgodnie z wynikami prezentowanej analizy, niektórzy badacze nie wykazali związku tego SNP z predyspozycją do zachorowania na RZS w populacji brytyjskiej, holenderskiej, polskiej, amerykańskiej, czy azjatyckiej [101,118,132,141,162]. Natomiast inni odnotowali związek allelu 131R ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na RZS w ogólnej populacji europejskiej [101].

Wśród europejskich chorych na TRU oraz w populacji azjatyckiej wykazano związek obecności allelu 131R ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia tej choroby [45,88,106,155,177,202]. Podczas gdy, w naszej grupie pacjentów, jak i w innych populacjach europejskich, azjatyckich, chilijskich czy afroamerykańskich chorych nie stwierdzono związku polimorfizmu H131R z wystąpieniem TRU [28,60,84,126,153,155,199]. Pomimo, że u niemieckich pacjentów z TRU nie wykazano związku w/w polimorfizmu z ryzykiem zachorowania, to stwierdzono, że genotyp 131RR związany był z wcześniejszym wiekiem wystąpienia objawów tej choroby [114].

Przyczyną uzyskania odmiennych wyników dotyczących tej samej choroby w powyżej przytoczonych analizach wydaje się być m.in. zastosowanie różnych metod badawczych, jak i wpływ czynników genetycznych i środowiskowych warunkujących wystąpienie i przebieg choroby w różnych grupach etnicznych na świecie [118]. Podkreśla to wartość niniejszej analizy przeprowadzonej w jednorodnej etnicznie grupie pacjentów.

Z uwagi na szczególny udział w patogenezie postaci nerkowej TRU kompleksów immunologicznych, za których usuwanie odpowiedzialne są m.in. FcγR, przeprowadzono również analizę polimorfizmu H131R tego genu *FCGR2A*.

U pacjentów z nerkową postacią choroby wykazano jedynie trend częstszego występowania allelu 131R w porównaniu z grupą zdrowych ochotników. Przyczyną tego mogła być stosunkowo niewielka ilość chorych z objawami zajęcia nerek, zgodne z kryteriami klasyfikacyjnymi SLICC [113].

Częstsze występowanie allelu 131R u pacjentów z tą postacią TRU zostało potwierdzone w badaniach populacji kaukaskiej, afroamerykańskiej, brazylijskiej, czykoreańskiej, w której genotyp 131RR związany był ponadto z wysokim białko

moczem u tych chorych [45,126,145,155,187]. Jednakże, inni autorzy nie potwierdzili tej obserwacji u chorych z zajęciem nerek w populacji niemieckiej, greckiej, szwedzkiej, hiszpańskiej czy brytyjskiej [177,203].

Badanie polimorfizmu H131R zostało przeprowadzone również w innych chorobach autoimmunizacyjnych skleroderмии, zespole Sjögrena, APS, MPA, GCA, GPA, ITP, chorobie Kawasaki, sarkoidozie, UC, chorobie Leśniowskiego-Crohna, miastenii, stwardnieniu BS [4,6,20,42,62,82,87,120,136,137,148,180,183,190]. Podobnie jak u naszych pacjentów z RZS i TRU, nie stwierdzono związku polimorfizmu H131R z podatnością na zachorowanie na sklerodermię, zespół Sjögrena czy GPA [4,62,178,179]. Natomiast, w ITP ujawniono zwiększone prawdopodobieństwo zachorowania w przypadku osób posiadających allel 131R [20,27]. Ponadto, częstsze występowanie homozygot 131RR odnotowano w populacji chorych na APS, GCA, ITP oraz miastenię [87,120,137,193]. Natomiast rzadsza obecność homozygot 131HH cechowała populację naszych chorych w I i II stadium sarkoidozy [183].

Analizowany powyżej polimorfizm H131R genu *FCGR2A* odpowiada za zmienne powinowactwo receptora FcγRIIA do IgG2, związanej w kompleksach immunologicznych. Obecność allelu 131R i genotypu 131RR skutkuje zmniejszonym wiązaniem KI zawierających IgG2 prowadząc do immunokompleksemii, podczas gdy allel 131H i genotyp 131HH związany był ze zwiększoną podatnością do przyłączania KI/IgG2 co skutkowało zwiększoną ich fagocytozą/klirensem [145,189]. Natomiast heterozygoty 131HR posiadały pośrednią zdolność do wiązania IgG2 w KI [145].

Właśnie kompleksom immunologicznym przypisuje się kluczową rolę w patogenezie TRU. Wykazano odwrotną korelację pomiędzy ekspresją receptorów FcγRIIiFcγRIII naneutrofilach, a stężenie m krążących KI u pacjentów z TRU [166]. Neutrofile, wykazujące ekspresję FcγRIIa, wiążą krążące KI za pośrednictwem tego receptora [39,53]. Ponadto, makrofagi będące częścią układu fagocytarnego (ang. *mononuclear phagocyte system*, MPS), za pomocą FcγRIIa i FcγRIIIa przyłączają związane na erytrocytach KI doprowadzając do ich usuwania z krwioobiegu. Wykazano również upośledzone wiązanie KI zawierających IgG2 przez makrofagi pochodzące od chorych na TRU o genotypie 131RR, w porównaniu do homozygot 131HH [41,70]. Wobec tego, obecność kodowanego przez allel 131R wariantu receptora słabiej wiążącego KI zawierające IgG2 może prowadzić do nadmiernej kumulacji tych KI w ścianie naczyń krwionośnych oraz do rozwoju procesu zapalnego narządu, zaopatrywanego przez te naczynia w TRU. Udowodniono, że złogi IgG2 są obecne w badaniu histopatologicznym nerki u ponad 80 % pacjentów z nefropatią toczniową, a obecność znacznych ilości IgG2 w mezangium kłębuszków nerkowych korelowała z istotnie częstszym występowaniem allelu 131R [209]. Dlatego obecność allelu 131R genu *FCGR2A* może przyczyniać się do depozycji KI w nerkach chorych na TRU, co jest kluczowym czynnikiem wpływającym na rozwój procesu zapalnego w tym narządzie.

Również utrata biorącej udział w usuwaniu kompleksów immunologicznych składowej dopełniacza C1q jest czynnikiem wpływającym na rozwój TRU, co znajduje potwierdzenie w przypadkach osób z wrodzonym defektem tej cząsteczki [18].

Przeciwciała anty-C1q, należące do podklasy IgG2 obecne u ok. 44 % chorych na TRU, w tym u 60 % pacjentów z nefropatią toczniową, istotnie częściej występują u pacjentów posiadających allel 131R genu *FCGR2A* [126,151]. Zmniejszone usuwanie kompleksów anty-C1q/C1q przez receptor FcγR, kodowany przez ten gen z allelem 131R, może być przyczyną ich odkładania się m.in. w nerkach. Wykazano, że makrofagi po aktywacji przez ten kompleks posiadały zmniejszoną zdolność do fagocytozy późnych ciał apoptotycznych, w porównaniu do komórek aktywowanych jedynie za pomocą C1q [173]. W związku z powyższym, zwiększone stężenie kompleksów C1q/anty-C1q u tych pacjentów może przyczyniać się upośledzonego usuwania przez makrofagi ciał apoptotycznych i uwolnienia autoantygenów w nich zgromadzonych. Stwierdzono również, że C1q hamuje produkcję przez niedojrzałe plazmacytoidalne komórki dendrytyczne (pDC) cytokiny IFN-α, pełniącej kluczową rolę w patogenezie TRU [111]. IFN-α, przyspieszając dojrzewanie mieloidalnych komórek dendrytycznych (*myeloid dendritic cell*, mDC) i zwiększając ekspresję cząsteczek kostymulatorowych CD80 i CD86, przyczynia się do obwodowej tolerancji autoreaktywnych limfocytów T i/lub zmniejsza ilość regulatorowych limfocytów T CD4⁺, indukując autoimmunizację [13]. Równocześnie, synteza BLYS/BAFF stymulowana przez IFN-α przyczynia się do przetrwania dojrzałych limfocytów B, które następnie dzięki IL-6 i IFN-α przekształcają się w plazmocyty produkujące (auto)przeciwciała [81]. Dlatego defekt receptora FcγRIIIa, wywołany przez obecność wariantu allelu 131R, może być przyczyną zwiększonego stężenia kompleksów C1q/anty-C1q, a tym samym zmniejszonego stężenia C1q i zwiększonego wytwarzania IFN-α.

Inną komponentą obecną w złogach immunologicznych w nerkach chorych na TRU jest białko C-reaktywne (*C-reactive protein*, CRP) [209]. CRP będąc opsoniną uczestniczącą m.in. w usuwaniu ciał apoptotycznych aktywuje układ dopełniacza a łącząc się z FcγRII a obecnym i na powierzchni makrofagów i neutrofilów, prowadzi do wytwarzania cytokin prozapalnych, reaktywnych form tlenu czy proteaz, indukując rozwój procesu zapalnego [188,209]. W przeciwieństwie do powinowactwa do cząsteczki IgG2 w KI, powinowactwo CRP do FcγRIIIa, kodowanego przez allel 131R, jest silniejsze niż do receptora kodowanego przez allel 131H [1,161]. W związku z tym, obecność allelu 131R u naszych pacjentów z zajęciem nerek w przebiegu TRU może skutkować nasiloną aktywacją makrofagów i neutrofilów obecnych w naciekach zapalnych w nerkach, po związaniu przez receptor FcγRIIIa znajdujących się tam cząsteczek CRP.

5.2 PORÓWNANIE CZĘSTOŚCI WYSTĘPOWANIA ALLELI I GENOTYPÓW *FCGR2B* U PACJENTÓW Z RZS, TRU I OSÓB ZDROWYCH

W niniejszej pracy przedstawiono wyniki analizy polimorfizmu I232T genu *FCGR2B* u pacjentów z RZS, TRU oraz u osób zdrowych. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w częstościach występowania poszczególnych alleli oraz

genotypów genu *FCGR2B* pomiędzy badanymi grupami chorych oraz pomiędzy pacjentami a populacją zdrowych ochotników.

Jest to pierwsza taka analiza przeprowadzona wśród chorych na RZS i TRU pochodzących z jednorodnej populacji mieszkańców północnej Polski oraz pierwsza na świecie analiza porównawcza pomiędzy populacjami tych pacjentów.

Podobnie jak wśród naszych chorych na RZS, nie wykazano związku polimorfizmu I232T genu *FCGR2B* z ryzykiem wystąpienia tej choroby, zarówno w populacji kaukaskiej, jak i azjatyckiej [97,118,140]. Jednakże, holenderscy badacze udowodnili korelację obecności allelu 232T z szybszą progresją radiologiczną choroby [140]. Natomiast wśród chorych na RZS w Azji wykazano związek częstszego występowania allelu 232I z cięższym przebiegiem choroby u mężczyzn, obecnością podwyższonego poziomu RF i przeciwciał anti-CCP [29]. Ponadto, u chorych posiadających allel 232T udowodniono zwiększoną aktywność prozapalną komórek dendrytycznych [140]. Podczas gdy w innym badaniu, odnotowano niższe stężenia IL-6 u nosicieli tego allelu [116].

W TRU, wiele analiz genetycznych potwierdza częstsze występowanie allelu 232T oraz genotypu 232TT, zwłaszcza wśród azjatyckiej populacji pacjentów a mniej w rasie kaukaskiej [30,33,73,96,122,152]. Natomiast, wyniki innych badań, podobnie jak niniejszej pracy, nie potwierdzają związku polimorfizmu I232T z ryzykiem zachorowania na TRU i/lub obecności nerkowej postaci choroby w populacji kaukaskiej [98,103,112,177].

Rozbieżne rezultaty przeprowadzonych dotychczas analiz przeprowadzonych w populacji kaukaskiej, uwzględniających grupy o liczebności 100-300 chorych mogą wynikać z odmiennej dystrybucji homozygoty 232TT w ogólnej populacji europejskiej (1-2 %) w porównaniu do osób pochodzenia azjatyckiego (5-7 %) [122].

Polimorfizm I232T był badany w innych chorobach autoimmunizacyjnych takich jak MPA, GCA, ITP, czy w zespole Goodpasture'a. Odnotowano znamienne częstsze występowanie allelu 232T oraz genotypu 232TT u pacjentów z zespołem Goodpasture'a w porównaniu do osób zdrowych w populacji chińskiej [208]. Również w tej samej populacji potwierdzono częstsze występowanie allelu 232T u dzieci, lecz nie wśród dorosłych pacjentów z ITP. [66,196]. Brak różnic w dystrybucji alleli i genotypów genu *FCGR2B*, podobnie jak w wynikach przedstawianej analizy, zaobserwowano u chorych z MPA i GCA [120,180].

Receptor FcγRIIb, kodowany przez gen *FCGR2B*, znajduje się na powierzchni monocytów, makrofagów, neutrofilów, niektórych komórek dendrytycznych, limfocytów B oraz na komórkach NK, dlatego opisany w powyższych jednostkach chorobowych polimorfizm I232T, wpływa na funkcję tych komórek układu immunologicznego [67,122]. Allel 232I koduje prawidłowo funkcjonujący receptor, który hamuje nadmierną reakcję immunologiczną, wywołaną aktywacją pozostałych FcγR. Natomiast, obecność allelu 232T prowadzi do mniej efektywnego pozycjonowania cząsteczki receptora w obrębie tzw. wysp lipidowych błony komórkowej, co w konsekwencji zmniejsza jego funkcje regulacyjną i wywołuje wzmożoną od

powieź (auto)immunologiczną komórki [52,95]. FcγRIIb bierze udział w negatywnej selekcji autoreaktywnych komórek B w centrach rozmnażania [122]. Co więcej, jednoczesna aktywacja FcγRIIb i receptora BCR, obecnych na długo żyjących komórkach plazmatycznych jest niezbędna do indukcji apoptozy tej komórki [195]. Ponadto, makrofagi niewykazujące ekspresji FcγRIIb charakteryzowało zwiększone wytwarzanie reaktywnych form tlenu i cytokin prozapalnych [122]. FcγRIIb obecny na komórce mDC hamuje jej dojrzewanie w odpowiedzi na aktywację FcγRIIa [17]. Jednakże, dojrzała już komórka mDC poprzez receptor FcγRIIb, wiąże kompleksy immunologiczne, a następnie prezentuje zawarte w nich (auto)antygeny limfocytom B, promując niezależną od komórek T odpowiedź humoralną, co stanowi dowód na to, że receptor FcγRIIb przyczynia się również do pobudzenia układu immunologicznego [11]. Ten fakt, w łączności z już wspomnianym niższym stężeniem prozapalnej IL-6 u chorych z RZS posiadających allel 232T z grupy „high responder”, sugeruje bardziej złożony wpływ polimorfizmu I232T na kształtowanie odpowiedzi (auto)immunologicznej [116].

5.3 PORÓWNANIE CZĘSTOŚCI WYSTĘPOWANIA ALLELI I GENOTYPÓW *FCGR2C* U PACJENTÓW Z RZS, TRU I OSÓB ZDROWYCH

W niniejszej pracy przedstawiono wyniki analizy polimorfizmu X57Q genu *FCGR2C* u pacjentów z RZS, TRU oraz u osób zdrowych. U chorych na RZS wykazano istotnie częstsze występowanie allelu 57Q i genotypu 57XQ oraz rzadsze występowanie genotypu 57XX w porównaniu do osób zdrowych. Natomiast, nie stwierdzono istotnych różnic w częstościach występowania poszczególnych alleli oraz genotypów genu *FCGR2C* pomiędzy badanymi grupami chorych oraz pomiędzy chorymi na TRU a grupą zdrowych ochotników.

Jest to pierwsza taka analiza przeprowadzona wśród chorych na RZS i TRU pochodzących z jednorodnej populacji mieszkańców północnej Polski oraz pierwsza na świecie analiza porównawcza pomiędzy populacjami tych pacjentów.

W pojedynczym jak dotąd doniesieniu, nie wykazano związku polimorfizmu X57Q z wysokim ryzykiem zachorowania na RZS [162].

Także w TRU, przeprowadzono dotychczas tylko dwie analizy tego polimorfizmu. Li i wsp. wykazali związek obecności allelu 57Q (*FCGR2C*-ORF) z zachorowaniem na TRU [109]. Podczas gdy, wyniki badań przeprowadzonych przez Tsang-A-Sjoe i wsp. nie ujawniły korelacji w/w polimorfizmu z większą predyspozycją do zachorowania na TRU i/lub rozwoju nerkowej postaci choroby [177]. Jest to zgodne z wynikami niniejszej pracy.

Spośród innych chorób autoimmunizacyjnych, analizę polimorfizmu X57Q przeprowadzono u pacjentów z ITP oraz sarkoidozą. Podobnie, jak u naszych chorych na RZS, wykazano częstsze występowanie allelu 57Q wśród chorych na ITP oraz w stadium III/IV sarkoidozy w porównaniu do grupy zdrowych ochotników [23,183].

Allel 57Q, obecny u ok. 20 % osób w populacji kaukaskiej, jest niezbędny do ekspresji prawidłowo funkcjonującego receptora FcγRIIc na monocytach, makrofagach, neutrofilach, komórkach NK oraz limfocytach B. Ponieważ obecność allelu 57X skutkuje syntezą dysfunkcyjnej cząsteczki FcγRIIc, homozygoty 57XX cechuje całkowity brak ekspresji tego funkcjonalnego receptora [67,104]. Znajdujący się na powierzchni komórek NK FcγRIIc, podobnie jak FcγRIIIa, pośredniczy w reakcji ADCC oraz stymuluje produkcję IFN-γ, IL-1 i TNF-α [49]. Właśnie komórki NK, których zwiększoną ilość obserwuje się błonie maziowej stawów chorych na RZS, mogą pełnić ważną rolę w patogenezie tej choroby, jednak nie jest jasne, czy ich zwiększona aktywność prozapalna, czy zmniejszone właściwości immunosupresyjne przyczyniają się do rozwoju RZS [147]. Stwierdzono także, większy wpływ ekspresji receptorów FcγRIIc i FcγRIIIa na zwiększoną aktywność komórek NK, w porównaniu do komórek posiadających na swojej powierzchni jedynie FcγRIIIa. Ponadto udowodniono, że FcγRIIc silniej od FcγRIIIa wiąże IgG4, dlatego jego obecność umożliwi komórce NK wiązanie KI zawierających tą immunoglobulinę [117]. Częstsze występowanie allelu 57Q oraz zmniejszona ilość homozygot 57XX wśród naszych chorych na RZS mogą przekładać się na wzmożoną aktywację komórek NK wykazujących ekspresję funkcjonalnego receptora FcγRIIc.

Również ekspresja FcγRIIc na limfocytach B u naszych pacjentów z RZS posiadających allel 57Q może mieć znaczenie w aktywacji tych komórek i wytwarzaniu autoprzeciwciał. Udowodniono, że limfocyty B wykazujące ekspresję prawidłowego FcγRIIc cechuje zwiększona odpowiedź na aktywację receptora BCR, co jest spowodowane niwelowaniem przez FcγRIIc hamującego działania receptora FcγRIIb na poziomie transdukcji sygnału. Skutkiem tego procesu jest indukcja kaskady sygnałowej i zwiększony napływ Ca²⁺, co prowadzi do stymulacji dojrzewania komórki B ze zwiększoną ekspresją receptora dla BLYS/BAFF, który jest niezbędny w procesie dojrzewania i proliferacji komórek B [109,191]. Podwyższone stężenia BLYS/BAFF obserwuje się u chorych na RZS, dlatego jest on rozważany jako potencjalny cel terapii w tej chorobie [191].

5.4 PORÓWNANIE CZĘSTOŚCI WYSTĘPOWANIA ALLELI I GENOTYPÓW *FCGR3A* U PACJENTÓW Z RZS, TRU I OSÓB ZDROWYCH

W prezentowanej pracy przedstawiono wyniki analizy polimorfizmu V158F genu *FCGR3A* u pacjentów z RZS, TRU oraz u osób zdrowych. Odnotowano statystycznie istotne różnice w częstościach alleli i genotypów *FCGR3A* między pacjentami z TRU a osobami zdrowymi. Allel 158F oraz genotyp 158FF występował statystycznie częściej w grupie chorych na TRU w porównaniu do osób zdrowych. Natomiast, nie odnotowano istotnych różnic w częstościach występowania poszczególnych alleli oraz genotypów pomiędzy badanymi grupami pacjentów oraz pomiędzy chorymi na RZS a grupą zdrowych ochotników.

Jest to pierwsza taka analiza przeprowadzona wśród chorych na RZS i TRU pochodzących z jednorodnej populacji mieszkańców północnej Polski oraz pierwsza na świecie analiza porównawcza pomiędzy populacjami tych pacjentów.

Wyniki dostępnych metaanaliz w RZS potwierdzają częstsze występowanie allelu 158V oraz genotypu 158VV w populacji kaukaskich chorych, ale nie wśród azjatyckich pacjentów [97,101,102]. Natomiast wśród chorych pochodzących z Hiszpanii odnotowano związek występowania RZS z genotypem 158FF [123]. Inni badacze wskazali na związek genotypu 158VV z predyspozycją do zachorowania u mężczyzn oraz z występowaniem przeciwciał anty-ACPA [90,172]. Podczas gdy nie wykazano korelacji polimorfizmu V158F z podwyższonym ryzykiem zachorowania na RZS, co koresponduje z wynikami niniejszej rozprawy [26,162].

Podobnie jak w prezentowanej pracy, związek zachorowania na TRU z allelem 158F i genotypem 158FF został potwierdzony w różnych grupach etnicznych Europy i Azji, lecz nie u chorych z terenów Afryki, Szwecji, Meksyku, Tajlandii czy Japonii [22,31,60,64,83,84,89,105,194]. Jednocześnie, udowodniono związek allelu 158F z częstszym występowaniem nerkowej postaci TRU w populacji azjatyckiej [105]. Natomiast, zgodne z wynikami prezentowanej pracy, nie potwierdzono tej obserwacji w populacji szwedzkiej, hiszpańskiej, meksykańskiej, tajskiej, czy japońskiej [22,31,60,64,83,84,105]. Pomimo, że badanie dotyczące niemieckiej grupy etnicznej nie wykazało częstszego występowania allelu 158F wśród chorych na TRU, to obecność genotypu 158FF związana była z cięższym przebiegiem oraz wcześniejszym wiekiem wystąpienia choroby [114].

Analizę polimorfizmu V158F genu *FCGR3A* przeprowadzono również w innych chorobach autoimmunizacyjnych takich jak zespół Sjögrena, GPA, GCA, choroba Kawasaki, sarkoidoza, zespół Goodpasture'a oraz ITP [23,27,42,56,62,120,127,148,185,208]. Podobnie jak u naszych pacjentów z TRU, obecność allelu 158F związana była z większym ryzykiem zachorowania na GCA [120]. Ponadto allel 158F odpowiadał za wyższe ryzyko wznowy choroby u osób z GPA [42]. Dodatkowo, Typiak i wsp. wykazali częstsze występowanie allelu 158F oraz genotypu 158FF w I stadium sarkoidozy oraz homozygot 158VV w stadium II choroby, w porównaniu do osób zdrowych [185]. Przeciwnie do wyników otrzymanych dla chorych na TRU w niniejszej pracy, występowanie allelu 158V było częstsze wśród chorych z ITP [23,56,127]. Natomiast nie odnotowano związku polimorfizmu V158F ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia zespołu Sjögrena, zespołu Goodpasture'a czy choroby Kawasaki [62,148,208].

Warianty polimorficzne V158F receptora FcγRIIIa, którego ekspresje wykazują m.in. monocyty, makrofagi, komórki DC i NK, różnią się od siebie powinowactwem do IgG1, IgG3 oraz IgG4. Wariant 158F, klasyfikowany jako „low responder”, wykazuje brak powinowactwa do IgG4 i zmniejszone do IgG1 oraz IgG3. Skutkować to może zmniejszonym wiązaniem i usuwaniem KI zawierających te przeciwciała, odkładaniem krążących KI w ścianie naczyń krwionośnych oraz rozwojem procesu zapalnego i uszkodzeniem tkanek [107]. Zmniejszone wiązanie IgG1 oraz IgG3 dotyczy homozygot 158FF, natomiast heterozygoty 158VF oraz homozygoty 158VV cechuje zwiększone powinowactwo do tych immunoglobulin [194]. Należy

nadmienić, że podwyższone stężenia, charakterystyczne dla TRU, autoprzeciwciał anty-dsDNA czy przeciwciał przeciw nukleosomom należą do klas IgG1 i IgG3 [40,206].

Również złogi immunoglobulin obecne w nerkach chorych na TRU składają się głównie z IgG1, IgG3 oraz IgG2 [69,209]. Podobnie jak FcγRIIa, również receptor FcγRIIIa jest niezbędny w procesie usuwania krążących KI z krwioobiegu [70]. W badaniu monocytów pochodzących od chorych na TRU odnotowano zmniejszoną ekspresję wiążącego obecne w KI IgG1 i IgG3 receptora FcγRIIIa, prowadzącą do upośledzonego usuwania KI, co koreluje z aktywnością choroby [91]. Podczas gdy, Dijstelbloem i wsp., nie wykazali wpływu obecności polimorfizmu V158F receptora FcγRIIIa anasus w a nie krążących KI u chorych z TRU. Wg tych autorów genotyp 158FF był związany z występowaniem objawów stawowych i hematologicznych, nie w postaci nerkowej tocznia [41]. To sugeruje dodatkową rolę tego SNP w patogenezie choroby i może tłumaczyć częstsze występowanie allelu 158F u ogółu naszych pacjentów z TRU, ale nie u chorych z zajęciem nerek w przebiegu choroby.

Ponadto, we krwi obwodowej chorych na TRU wykazano zmniejszoną ilość oraz aktywność komórek NK, która może być wywołana obecnością receptora FcγRIIIa kodowanego przez allel 158F [131]. Sugeruje się, że mutacje w genie *FCGR3A* mogą negatywnie wpływać na dojrzewanie i różnicowanie komórek NK, które, oprócz aktywności prozapalnej, mogą pełnić również funkcje regulatorowe [79,174].

5.5 PORÓWNANIE CZĘSTOŚCI WYSTĘPOWANIA ALLELI I GENOTYPÓW *FCGR3B* U PACJENTÓW Z RZS, TRU I OSÓB ZDROWYCH

W niniejszej pracy przedstawiono wyniki analizy polimorfizmu NA1/NA2/SH genu *FCGR3B* u pacjentów z RZS, TRU oraz u osób zdrowych. Zaobserwowano rzadsze występowanie allelu SH oraz genotypu NA1/SH wśród pacjentów z TRU, w porównaniu do grupy zdrowych ochotników. Nie odnotowano istotnych różnic w częstościach występowania poszczególnych alleli oraz genotypów pomiędzy badanymi grupami chorych oraz pomiędzy chorymi na RZS a grupą kontrolną.

Jest to pierwsza taka analiza przeprowadzona wśród chorych na RZS i TRU pochodzących z jednorodnej populacji mieszkańców północnej Polski oraz pierwsza na świecie analiza porównawcza pomiędzy populacjami tych pacjentów. Ponadto, w większości przeprowadzonych analiz polimorfizmu genu *FCGR3B* identyfikowano jedynie obecność alleli NA1 oraz NA2. Natomiast do tej pory nie zbadano częstości występowania allelu SH w RZS czy TRU. Dlatego przedstawiona w niniejszym opracowaniu analiza polimorfizmu NA1/NA2/SH genu *FCGR3B* jest pierwszą tego typu analizą uwzględniającą obecność allelu SH.

Zgodnie z wynikami prezentowanymi w niniejszej pracy, większość badań u chorych na RZS w różnych grupach etnicznych, w tym populacji kaukaskiej, nie wykazała związku polimorfizmu NA1/NA2/SH genu *FCGR3B* z ryzykiem

zachorowania i/lub przebiegiem tej choroby [26,97,101,141]. Jedynie Morgan i wsp. wykazali predyspozycję do zachorowania na RZS u osób z haplotypem 158V-NA2, odpowiednio dla genów *FCGR3A* i *FCGR3B* [118]. Udowodniono także związek obecności allelu NA2 z występowaniem infekcji układu oddechowego u pacjentów z RZS [76].

Podobnie jak w przypadku RZS, również w TRU wiele analiz dotyczących populacji kaukaskiej oraz azjatyckiej nie wykazało związku polimorfizmu NA1/NA2/SH z ryzykiem wystąpienia i/lub przebiegiem TRU [96,103,114,138,201]. Jednakże, w populacji tajskiej, japońskiej oraz hiszpańskiej udowodniono związek genotypu NA2/NA2 ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na TRU [60,64,152]. Natomiast, wykazano rzadsze występowanie tego genotypu wśród koreańskich pacjentów z TRU [75].

Polimorfizm NA1/NA2/SH genu *FCGR3B* był badany również w innych chorobach autoimmunizacyjnych, jak w zespole Sjögrena, Goodpasture'a, chorobie Behçeta, sarkoidozie, idiopatycznym włóknieniu płuc, ITP, miastenii, czy zespole Guillaina-Barrego [2,19,55,62,142,150,157,183,208]. Wykazano związek cięższego przebiegu choroby z obecnością allelu NA2 w zespole Guillaina-Barrego w populacji kaukaskiej oraz w chorobie Behçeta u osób pochodzenia tureckiego, u których allel NA2 był związany ze zwiększoną predyspozycją do zachorowania [2,157,186]. Z podwyższonym ryzykiem wystąpienia choroby związana była również obecność allelu NA1 oraz genotypu NA1/NA1 wśród chorych na ITP oraz idiopatyczne włóknienie płuc [19,55]. Ponadto cięższy przebieg choroby zaobserwowano w przypadku osób z genotypem NA1/NA1 w ITP oraz w miastenii [55,142]. Natomiast, nie odnotowano znamiennych różnic w dystrybucji poszczególnych alleli i genotypów wśród chorych z zespołem Sjögrena, zespołem Goodpasture'a, sarkoidozą czy wśród chorych z GBS [150,183,208].

Obecność allelu NA1 genu *FCGR3B* w powyższych jednostkach chorobowych jest związana ze zwiększoną, w porównaniu do NA2 lub SH, zdolnością tego receptora do przyłączania i fagocytozy IgG1 i/lub IgG3 obecnych w KI [20,108]. Natomiast, występowanie allelu NA2 i/lub SH może korelować ze zmniejszonym powinowactwem KI do receptora FcγRIIIb, co w konsekwencji może prowadzić do zmniejszonego usuwania KI, odkładania się ich w naczyniach krwionośnych oraz rozwoju miejscowej reakcji immunologicznej. Pomimo, że warianty alleliczne NA2 i SH różni od siebie obecność innego aminokwasu w pozycji 78 sekwencji białkowej, jednak wpływ tej mutacji na funkcję receptora nie został jednoznacznie określony. Sugeruje się, że obecność allelu SH jest związana ze zwiększoną liczbą kopii genu *FCGR3B*, co skutkuje zwiększoną ekspresją FcγRIIIb na neutrofilach [92]. Natomiast, u chorych z TRU odnotowano zmniejszoną liczbę kopii genu *FCGR3B*, co koresponduje z rzadszym występowaniem allelu SH u naszych pacjentów z TRU i w tej sytuacji może być pośrednim dowodem na zmniejszoną ekspresję FcγRIIIb na neutrofilach [122]. Właśnie dla tych komórek receptor FcγRIIIb jest głównym i najliczniejszym receptorem z grupy FcγR a jego ekspresja jest ok. 10 razy większa w porównaniu do FcγRIIa, który jest również obecny na powierzchni tych komórek

[108,122]. Połączenie FcγRIIIb z unieruchomionymi KI prowadzi do degranulacji, wytwarzania reaktywnych form tlenu oraz NETozy neutrofilii, podczas gdy związanie krążących KI przez ten receptor skutkuje usunięciem immunokompleksów bez indukcji odpowiedzi immunologicznej [8,53,122]. Dowiedziono, że połączenie, obecnego na powierzchni aktywowanego neutrofila, receptora FcγRIIIa z krążącym KI wywołuje reakcję prozapalną, t.j. degranulację, wytwarzanie reaktywnych form tlenu oraz NETozę tej komórki [53]. Według Chen i wsp., FcγRIIIb przyczynia się do utrzymania homeostazy poprzez usuwanie KI z krwioobiegu, podczas gdy FcγRIIIa aktywuje neutrofile w kierunku odpowiedzi prozapalnej [32]. W związku z powyższym, zmniejszona ekspresja FcγRIIIb na neutrofilach może skutkować zmianą charakteru odpowiedzi immunologicznej komórki po związaniu krążącego KI w kierunku reakcji prozapalnej. Jednak ostateczna odpowiedź na pytanie, czy powyżej opisany patomechanizm przyczynia się do rozwoju choroby u naszych pacjentów z TRU, wykazujących rzadsze występowanie allelu SH wymaga dalszych badań dotyczących wpływu tego allelu na funkcję i/lub ekspresję receptora FcγRIIIb.

5.6 PODSUMOWANIE

Wyniki badań przedstawianych w prezentowanej analizie, podobnie jak wyniki badań innych autorów w populacji kaukaskiej, potwierdzają związek polimorfizmów poszczególnych genów *FCGR* z predyspozycją do zachorowania na RZS i TRU wśród mieszkańców północnej Polski.

U chorych na RZS wykazano zmniejszoną ilość homozygot 57XX oraz częstsze występowanie allelu 57Q genu *FCGR2C*, którego obecność prowadzi do podwyższonej ekspresji funkcjonalnego białka receptorowego, co w rezultacie może skutkować zwiększoną aktywnością fagocytarną monocytów/makrofagów oraz neutrofilii, zwiększonym wytwarzaniem przeciwciał przez limfocyty B oraz aktywacją komórek NK.

Nie odnotowano natomiast różnic w częstościach występowania alleli pozostałych genów *FCGR2A*, *FCGR2B*, *FCGR3A*, *FCGR3B* u naszych chorych na RZS, co jest dowodem na to, że predyspozycja do zachorowania na RZS w populacji mieszkańców Polski północnej nie jest związana z polimorfizmem tych genów.

Natomiast, u pacjentów z TRU wykazano częstsze występowanie allelu 158F oraz genotypu 158FF genu *FCGR3A*, co może przyczyniać się do upośledzonego usuwania krążących KI przez monocyty i makrofagi z dysfunkcyjnym receptorem FcγRIIIa, co prowadzi do zwiększonego stężenia KI w surowicy oraz depozycji w tkankach tych chorych. Ponadto, obecność tego polimorfizmu genu *FCGR3A* może zmniejszać aktywność komórek NK u pacjentów z TRU.

Odnotowano również zmniejszoną częstość występowania allelu SH oraz genotypu NA1/SH genu *FCGR3B* u chorych na TRU. Obecność allelu SH może być związana ze zmniejszoną ekspresją receptora FcγRIIIb na neutrofilach i obniżonym klirensiem krążących KI bez indukcji odpowiedzi immunologicznej. Natomiast

zwiększone stężenie krążących KI, poprzez łączenie z receptorami FcγRIIa, może nasilać aktywność prozapalną tych komórek.

W podgrupie pacjentów z zajęciem nerek w przebiegu TRU odnotowano tendencję do częstszego występowania allelu 131R genu *FCGR2A*, którego obecność skutkuje zmniejszonym powinowactwem receptora FcγRIIa do krążących KI, co może prowadzić do zwiększonej immunokomplekssemii oraz odkładania KI w nerkach tych pacjentów. Ponadto, podwyższone stężenie kompleksów anty-C1q/C1q, obserwowane u pacjentów z nerkową postacią TRU, może być związane z obecnością allelu 131R, kodującego podtyp receptora FcγRIIa, który słabiej wiąże te KI. Podczas gdy receptor kodowany przez allel 131R wykazuje silniejsze powinowactwo do cząsteczki CRP, stanowiącej składową złogów immunologicznych, obecnych w nerkach chorych na TRU. Może to prowadzić do nadmiernej aktywacji monocytów/makrofagów i neutrofilów obecnych w naciekach zapalnych w tym narządzie. Tendencja do częstszego występowania allelu 131R genu *FCGR2A* w łączności z brakiem różnic w występowaniu polimorfizmu F158V genu *FCGR3A*, wskazuje na dominującą rolę dysfunkcyjnego receptora FcγRIIa w patogenezie nefropatii toczniowej u naszych chorych.

Nie odnotowano różnic w częstości występowania alleli i genotypów pozostałych genów *FCGR2B* i *FCGR2C* u naszych pacjentów z TRU, co dowodzi, że obecność polimorfizmów tych genów nie jest związana z ryzykiem zachorowania na TRU w populacji mieszkańców północnej Polski.

Pomimo, że analiza porównawcza częstości występowania alleli i genotypów badanych genów *FCGR* pomiędzy RZS i TRU nie wykazała istotnych różnic, to udział polimorfizmów „high i low responder” tych genów był odmienny. W RZS wykazano związek allelu 57Q genu *FCGR2C*, odpowiadającego za nadmierną odpowiedź (auto)immunizacyjną, ze zwiększonym ryzykiem zachorowania. Podczas gdy, u pacjentów z TRU odnotowano częstsze występowanie dwóch alleli z grupy „low responder”, związanych z obniżoną immunoreaktywnością organizmu.

6. WNIOSKI

Przedstawione powyżej wyniki pozwoliły na sformułowanie poniższych wniosków:

- Polimorfizm X57Q genu *FCGR2C* może mieć związek z większą predyspozycją do zachorowania na reumatoidalne zapalenie stawów, podczas gdy zwiększone ryzyko zachorowania na toczeń rumieniowaty układowy było związane z występowaniem polimorfizmu F158V genu *FCGR3A* oraz wariantu NA1/SH genu *FCGR3B* w populacji mieszkańców północnej Polski.
- Postać nerkowa tocznia rumieniowatego układowego w populacji mieszkańców północnej Polski może mieć związek z obecnością polimorfizmu H131R genu *FCGR2A*.
- W porównaniu do zdrowych ochotników, zmniejszona ilość homozygot 57XX oraz częstsze występowanie allelu 57Q genu *FCGR2C* u pacjentów z RZS może skutkować zwiększonym klirensiem KI przez FcγRIIc na monocytach, makrofagach i neutrofilach o podwyższonej fagocytarnej i prozapalnej aktywności, podczas gdy w TRU częstsze występowanie allelu 158F i genotypu 158FF genu *FCGR3A* oraz zmniejszona częstość allelu SH i genotypu NA1/SH genu *FCGR3B*, może być przyczyną upośledzonego usuwania krążących KI przez te dysfunkcyjne receptory na w/w fagocytach z następową immunokompleksemią oraz depozycją KI w tkankach tych chorych. Ponadto, w przeciwieństwie do polimorfizmu genu *FCGR2C* w RZS, wariant 158FF polimorfizmu F158V genu *FCGR3A* obecny w TRU może odpowiadać za zmniejszoną aktywność komórek NK w porównaniu do zdrowych ochotników. Pomimo, że różne polimorfizmy genów *FCGR* mogą warunkować odmienną odpowiedź immunologiczną w tych chorobach, to analiza porównawcza częstości występowania alleli i genotypów *FCGR* pomiędzy RZS i TRU nie wykazała istotnych różnic.

7. PIŚMIENICTWO

1. Aas V., Sand K.L., Asheim H.-C., Benestad H.B., Iversen J.-G.: C-reactive protein triggers calcium signalling in human neutrophilic granulocytes via FcγRIIa in an allele-specific way. *Scand J Immunol.* 2013, 77, 442–451.
2. Aksu K., Kitapcioglu G., Keser G., Berdeli A., Karabulut G., Kobak S., Ozmen M., Inal V., Kabasakal Y., Oksel F., Kocanaogullari H., Doganavsargil E.: FcγRIIa, IIIa and IIIb gene polymorphisms in Behçet's disease: do they have any clinical implications? *Clin Exp Rheumatol.* 26, S77–S83.
3. Aletaha D., Neogi T., Silman A.J., Funovits J., Felson D.T., Bingham C.O., Birnbaum N.S., Burmester G.R., Bykerk V.P., Cohen M.D., Combe B., Costenbader K.H., Dougados M., Emery P., Ferraccioli G., Hazes J.M.W., Hobbs K., Huizinga T.W.J., Kavanaugh A., Kay J., Kvien T.K., Laing T., Mease P., Ménard H.A., Moreland L.W., Naden R.L., Pincus T., Smolen J.S., Stanislawska-Biernat E., Symmons D., Tak P.P., Upchurch K.S., Vencovský J., Wolfe F., Hawker G.: 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum.* 2010, 62, 2569–2581.
4. Alizadeh B.Z., Broen J., Rueda B., Hesselstrand R., Wuttge D., Simeon C., Ortego-Centeno N., Gonzalez-Gay M.A., Gonzalez-Gay M., Pros A., Herrick A., Worthington J., Denton C., Fonseca C., Riemekasten G., Vonk M.C., van den Hoogen F., Guiducci S., Matucci-Cerinic M., Scorza R., Beretta L., Airó P., Coenen M., Martin J., Koeleman B.P.C., Radstake T.R.D.J.: Functional variants of Fc gamma receptor (FCGR2A) and FCGR3A are not associated with susceptibility to systemic sclerosis in a large European Study (EUSTAR). *J Rheumatol.* 2010, 37, 1673–1679.
5. Ansar Ahmed S., Dauphinee M.J., Talal N.: Effects of short-term administration of sex hormones on normal and autoimmune mice. *J Immunol.* 1985, 134, 204–210.
6. Asano K., Matsushita T., Umeno J., Hosono N., Takahashi A., Kawaguchi T., Matsumoto T., Matsui T., Kakuta Y., Kinouchi Y., Shimosegawa T., Hosokawa M., Arimura Y., Shinomura Y., Kiyohara Y., Tsunoda T., Kamatani N., Iida M., Nakamura Y., Kubo M.: A genome-wide association study identifies three new susceptibility loci for ulcerative colitis in the Japanese population. *Nat Genet.* 2009, 41, 1325–1329.
7. Azizi G., Jadidi-Niaragh F., Mirshafiey A.: Th17 Cells in immunopathogenesis and treatment of rheumatoid arthritis. *Int J Rheum Dis.* 2013, 16, 243–253.
8. Behnen M., Leschczyk C., Möller S., Batel T., Klinger M., Solbach W., Laskay T.: Immobilized immune complexes induce neutrophil extra-cellular trap release by human neutrophil granulocytes via FcγRIIIB and Mac-1. *J Immunol.* 2014, 193, 1954–1965.
9. Bencivelli W., Vitali C., Isenberg D.A., Smolen J.S., Snaith M.L., Sciuto M., Bombardieri S.: Disease activity in systemic lupus erythematosus: report of

- the Consensus Study Group of the European Workshop for Rheumatology Research. III. Development of a computerised clinical chart and its application to the comparison of different indices of disease. *Clin Exp Rheumatol.* 10, 549–554.
10. Van Den Berg L., Myhr K.M., Kluge B., Vedeler C.A.: Fc γ receptor polymorphisms in populations in Ethiopia and Norway. *Immunology.* 2001, 104, 87–91.
 11. Bergtold A., Desai D.D., Gavhane A., Clynes R.: Cell surface recycling of internalized antigen permits dendritic cell priming of B cells. *Immunity.* 2005, 23, 503–514.
 12. Biosystems A.: Custom TaqMan[®] SNP Genotyping Assays Protocol. Design. 2009,.
 13. Blanco P., Palucka A.K., Gill M., Pascual V., Banchereau J.: Induction of dendritic cell differentiation by IFN- α in systemic lupus erythematosus. *Science.* 2001, 294, 1540–1543.
 14. Blank M.C., Stefanescu R.N., Masuda E., Marti F., King P.D., Redecha P.B., Wurzbürger R.J., Peterson M.G.E., Tanaka S., Pricop L.: Decreased transcription of the human FCGR2B gene mediated by the -343 G/C promoter polymorphism and association with systemic lupus erythematosus. *Hum Genet.* 2005, 117, 220–227.
 15. Bonakdar Z.S., Jahanshahifar L., Jahanshahifar F., Gholamrezaei A.: Vitamin D deficiency and its association with disease activity in new cases of systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2011, 20, 1155–1160.
 16. Bone P., Mader R.: *Kelley's Textbook of Rheumatology.* 2013.
 17. Boruchov A.M., Heller G., Veri M.-C., Bonvini E., Ravetch J. V., Young J.W.: Activating and inhibitory IgG Fc receptors on human DCs mediate opposing functions. *J Clin Invest.* 2005, 115, 2914–2923.
 18. Botto M., Kirschfink M., Macor P., Pickering M.C., Würzner R., Tedesco F.: Complement in human diseases: Lessons from complement deficiencies. *Mol Immunol.* 2009, 46, 2774–2783.
 19. Bournazos S., Bournazou I., Murchison J.T., Wallace W.A., McFarlane P., Hirani N., Simpson A.J., Dransfield I., Hart S.P.: Fc γ receptor IIIb (CD16b) polymorphisms are associated with susceptibility to idiopathic pulmonary fibrosis. *Lung.* 2010, 188, 475–481.
 20. Bournazos S., Woof J.M., Hart S.P., Dransfield I.: Functional and clinical consequences of Fc receptor polymorphic and copy number variants. *Clin Exp Immunol.* 2009, 157, 244–254.
 21. Bouts Y.M., Wolthuis D.F.G.J., Dirks M.F.M., Pieterse E., Simons E.M.F., Van Boekel A.M., Dieker J.W., Van Der Vlag J.: Apoptosis and NET formation in the pathogenesis of SLE. *Autoimmunity.* 2012, 45, 597–601.
 22. Brambila-Tapia A.J.L., Gámez-Nava J.I., González-López L., Sandoval-Ramírez L., Medina-Díaz J., Maldonado M., Gutiérrez-Ureña S.R., Martínez-Bonilla G., Martín-Márquez B.T., Vázquez Del Mercado M., Nava-Zavala A., Muñoz-Valle J.F., Salazar-Páramo M., Dávalos-Rodríguez I.P.: FCGR3A

- V(176) polymorphism for systemic lupus erythematosus susceptibility in Mexican population. *Rheumatol Int.* 2011, 31, 1065–1068.
23. Breunis W.B., van Mirre E., Bruin M., Geissler J., de Boer M., Peters M., Roos D., de Haas M., Koene H.R., Kuijpers T.W.: Copy number variation of the activating FCGR2C gene predisposes to idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood.* 2008, 111, 1029–1038.
 24. Brinkmann V., Reichard U., Goosmann C., Fauler B., Uhlemann Y., Weiss D.S., Weinrauch Y., Zychlinsky A.: Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science (80-)*. 2004, 303, 1532–1535.
 25. Brownlie R.J., Lawlor K.E., Niederer H.A., Cutler A.J., Xiang Z., Clatworthy M.R., Floto R.A., Greaves D.R., Lyons P.A., Smith K.G.C.: Distinct cell-specific control of autoimmunity and infection by FcγRIIb. *J Exp Med.* 2008, 205, 883–895.
 26. Brun J.G., Madland T.M., Vedeler C.A.: Immunoglobulin G fc-receptor (FcγR) IIA, IIIA, and IIIB polymorphisms related to disease severity in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 2002, 29, 1135–1140.
 27. Carcao M.D., Blanchette V.S., Wakefield C.D., Stephens D., Ellis J., Matheson K., Denomme G.A.: FcγRIIa and IIIa polymorphisms in childhood immune thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol.* 2003, 120, 135–141.
 28. Carrión F., Figueroa F., Martínez M.E., Massardo L., Pérez T., Foster C., Mancilla C., Neira O., Guzmán L., Valenzuela V., Urrutia R., Carmona S., Figueroa M., Lubiano A., Wainstein E.: [Study of polymorphism of FcγRIIa receptors in Chilean patients with systemic lupus erythematosus]. *Rev médica Chile.* 2003, 131, 11–18.
 29. Chen J.-Y., Wang C.-M., Ma C.-C., Hsu L.-A., Ho H.-H., Wu Y.-J.J., Kuo S.-N., Wu J.: A transmembrane polymorphism in FcγRIIb (FCGR2B) is associated with the production of anti-cyclic citrullinated peptide autoantibodies in Taiwanese RA. *Genes Immun.* 2008, 9, 680–688.
 30. Chen J.-Y., Wang C.M., Ma C.-C., Luo S.-F., Edberg J.C., Kimberly R.P., Wu J.: Association of a transmembrane polymorphism of FcγRIIb (FCGR2B) with systemic lupus erythematosus in Taiwanese patients. *Arthritis Rheum.* 2006, 54, 3908–3917.
 31. Chen J.-Y., Wang C.M., Tsao K.-C., Chow Y.-H., Wu J.-M., Li C.-L., Ho H.-H., Wu Y.-J.J., Luo S.-F.: FcγRIIa, IIIa, and IIb polymorphisms of systemic lupus erythematosus in Taiwan. *Ann Rheum Dis.* 2004, 63, 877–880.
 32. Chen K., Nishi H., Travers R., Tsuboi N., Martinod K., Wagner D.D., Stan R., Croce K., Mayadas T.N.: Endocytosis of soluble immune complexes leads to their clearance by FcγRIIb but induces neutrophil extracellular traps via FcγRIIa in vivo. *Blood.* 2012, 120, 4421–4431.
 33. Chu Z.T., Tsuchiya N., Kyogoku C., Ohashi J., Qian Y.P., Xu S.B., Mao C.Z., Chu J.Y., Tokunaga K.: Association of FcγRIIb polymorphism with susceptibility to systemic lupus erythematosus in Chinese: a common susceptibility gene in the Asian populations. *Tissue*

- Antigens. 2004, 63, 21–27.
34. Cohen-Solal J.F.G., Cassard L., Fridman W.-H., Sautès-Fridman C.: Fc gamma receptors. *Immunol Lett.* 2004, 92, 199–205.
 35. Coit P., Jeffries M., Altorok N., Dozmorov M.G., Koelsch K.A., Wren J.D., Merrill J.T., McCune W.J., Sawalha A.H.: Genome-wide DNA methylation study suggests epigenetic accessibility and transcriptional poisoning of interferon-regulated genes in naïve CD4⁺ T cells from lupus patients. *J Autoimmun.* 2013, 43, 78–84.
 36. Colonna L., Lood C., Elkon K.B.: Beyond apoptosis in lupus. *Curr Opin Rheumatol.* 2014, 26, 459–466.
 37. Costa-Reis P., Sullivan K.E.: Genetics and epigenetics of systemic lupus erythematosus. *Curr Rheumatol Rep.* 2013, 15, 369.
 38. Crispín J.C., Oukka M., Bayliss G., Cohen R.A., Van Beek C.A., Stillman I.E., Kyttaris V.C., Juang Y.-T., Tsokos G.C.: Expanded double negative T cells in patients with systemic lupus erythematosus produce IL-17 and infiltrate the kidneys. *J Immunol.* 2008, 181, 8761–8766.
 39. Crockett-Torabi E., Fantone J.C.: Soluble and insoluble immune complexes activate human neutrophil NADPH oxidase by distinct Fc gamma receptor-specific mechanisms. *J Immunol.* 1990, 145, 3026–3032.
 40. Devey M.E., Lee S.R., Le Page S., Feldman R., Isenberg D.A.: Serial studies of the IgG subclass and functional affinity of DNA antibodies in systemic lupus erythematosus. *J Autoimmun.* 1988, 1, 483–494.
 41. Dijstelbloem H.M., Bijl M., Fijnheer R., Scheepers R.H., Oost W.W., Jansen M.D., Sluiter W.J., Limburg P.C., Derksen R.H., van de Winkel J.G., Kallenberg C.G.: Fc gamma receptor polymorphisms in systemic lupus erythematosus: association with disease and in vivo clearance of immune complexes. *Arthritis Rheum.* 2000, 43, 2793–2800.
 42. Dijstelbloem H.M., Scheepers R.H., Oost W.W., Stegeman C.A., van der Pol W.L., Sluiter W.J., Kallenberg C.G., van de Winkel J.G., Tervaert J.W.: Fc gamma receptor polymorphisms in Wegener’s granulomatosis: risk factors for disease relapse. *Arthritis Rheum.* 1999, 42, 1823–1827.
 43. Doria A., Iaccarino L., Sarzi-Puttini P., Ghirardello A., Zampieri S., Arienti S., Cutolo M., Todesco S.: Estrogens in pregnancy and systemic lupus erythematosus. *Ann N Y Acad Sci.* 2006, 1069, 247–256.
 44. Dubaniewicz A., Śmigielska M., Nowakowski S., Smoleńska Ż., Deeg P., Słomiński J., Siebert J.: Receptory Fcγ: potencjalne biomarkery w diagnostyce reumatoidalnego zapalenia stawów i tocznia rumieniowatego układuwego? *Forum Med Rodz.* 2011, 5, 57–56.
 45. Duits a J., Bootsma H., Derksen R.H., Spronk P.E., Kater L., Kallenberg C.G., Capel P.J., Westerdaal N. a, Spierenburg G.T., Gmelig-Meyling F.H.: Skewed distribution of IgG Fc receptor IIa (CD32) polymorphism is associated with renal disease in systemic lupus erythematosus patients. *Arthritis Rheum.* 1995, 38, 1832–1836.
 46. Edberg J.C., Langefeld C.D., Wu J., Moser K.L., Kaufman K.M., Kelly J.,

- Bansal V., Brown W.M., Salmon J.E., Rich S.S., Harley J.B., Kimberly R.P.: Genetic linkage and association of Fcγ receptor IIIA (CD16A) on chromosome 1q23 with human systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2002, 46, 2132–2140.
47. Entezami P., Fox D.A., Clapham P.J., Chung K.C.: Historical perspective on the etiology of rheumatoid arthritis. *Hand Clin.* 2011, 27, 1–10.
48. Enyedy E.J., Nambiar M.P., Liou S.S., Dennis G., Kammer G.M., Tsokos G.C.: Fc epsilon receptor type I gamma chain replaces the deficient T cell receptor zeta chain in T cells of patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2001, 44, 1114–1121.
49. Ernst L.K., Metes D., Herberman R.B., Morel P.A.: Allelic polymorphisms in the FcγRIIC gene can influence its function on normal human natural killer cells. *J Mol Med (Berl).* 2002, 80, 248–257.
50. Fahsold R., Hoffmeyer S., Mischung C., Gille C., Ehlers C., Kucukceylan N., Abdel-Nour M., Gewies A., Peters H., Kaufmann D., Buske A., Tinschert S., Nürnberg P.: Minor lesion mutational spectrum of the entire NF1 gene does not explain its high mutability but points to a functional domain upstream of the GAP-related domain. *Am J Hum Genet.* 2000, 66, 790–818.
51. Firestein G.S., Kelley W.N.: *Kelley's textbook of rheumatology*. Philadelphia : Elsevier/Saunders, cop. 2013., 2013.
52. Floto R.A., Clatworthy M.R., Heilbronn K.R., Rosner D.R., MacAry P. a, Rankin A., Lehner P.J., Ouwehand W.H., Allen J.M., Watkins N. a, Smith K.G.C.: Loss of function of a lupus-associated FcγRIIb polymorphism through exclusion from lipid rafts. *Nat Med.* 2005, 11, 1056–1058.
53. Fossati G., Bucknall R.C., Edwards S.W.: Insoluble and soluble immune complexes activate neutrophils by distinct activation mechanisms: changes in functional responses induced by priming with cytokines. *Ann Rheum Dis.* 2002, 61, 13–19.
54. Fossati G., Moots R.J., Bucknall R.C., Edwards S.W.: Differential role of neutrophil Fcγ receptor IIIB (CD16) in phagocytosis, bacterial killing, and responses to immune complexes. *Arthritis Rheum.* 2002, 46, 1351–1361.
55. Foster C.B., Zhu S., Erichsen H.C., Lehrnbecher T., Hart E.S., Choi E., Stein S., Smith M.W., Steinberg S.M., Imbach P., Kühne T., Chanock S.J.: Polymorphisms in inflammatory cytokines and Fcγ receptors in childhood chronic immune thrombocytopenic purpura: a pilot study. *Br J Haematol.* 2001, 113, 596–599.
56. Fujimoto T.T., Inoue M., Shimomura T., Fujimura K.: Involvement of Fc gamma receptor polymorphism in the therapeutic response of idiopathic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol.* 2001, 115, 125–130.
57. Gałązka-Sobotka M., Gierczyński J.: *Toczeń rumieniowaty układowy (TRU) - charakterystyka populacji leczonej, obciążenie systemu finansów publicznych oraz aspekty ekonomiczne związane z chorobą : ze szczególnym uwzględnieniem rekomendacji dotyczących modelu optymalnego zarządzania chorobą* . Warszawa : Uczelnia Łazarskiego, 2013.

58. Gierut A., Perlman H., Pope R.M.: Innate Immunity and Rheumatoid Arthritis. *Rheum Dis Clin North Am.* 2010, 36, 271–296.
59. Gillis C., Gouel-Chéron A., Jönsson F., Bruhns P.: Contribution of Human Fc γ Rs to Disease with Evidence from Human Polymorphisms and Transgenic Animal Studies. *Front Immunol.* 2014, 5, 254.
60. González-Escribano M.F., Aguilar F., Sánchez-Román J., Núñez-Roldán A.: Fc γ RIIA, Fc γ RIIAA and Fc γ RIIIB polymorphisms in Spanish patients with systemic lupus erythematosus. *Eur J Immunogenet.* 2002, 29, 301–306.
61. Griffiths B., Mosca M., Gordon C.: Assessment of patients with systemic lupus erythematosus and the use of lupus disease activity indices. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2005, 19, 685–708.
62. Haldorsen K., Appel S., Le Hellard S., Bruland O., Brun J.G., Omdal R., Kristjansdottir G., Theander E., Fernandes C.P.D., Kvarnström M., Eriksson P., Rönnblom L., Herlenius M.W., Nordmark G., Jonsson R., Bolstad A.I.: No association of primary Sjögren’s syndrome with Fc γ receptor gene variants. *Genes Immun.* 2013, 14, 234–237.
63. Hart F.D.: History of the treatment of rheumatoid arthritis. *BMJ.* 1976, 1, 763–765.
64. Hatta Y., Tsuchiya N., Ohashi J., Matsushita M., Fujiwara K., Hagiwara K., Juji T., Tokunaga K.: Association of Fc gamma receptor IIIB, but not of Fc gamma receptor IIA and IIIA polymorphisms with systemic lupus erythematosus in Japanese. *Genes Immun.* 1999, 1, 53–60.
65. Hay E.M., Bacon P.A., Gordon C., Isenberg D.A., Maddison P., Snaith M.L., Symmons D.P., Viner N., Zoma A.: The BILAG index: a reliable and valid instrument for measuring clinical disease activity in systemic lupus erythematosus. *Q J Med.* 1993, 86, 447–458.
66. He L.-Y., Huang Y.-J., Lai D.-B., Zhao M.-B., Zhang W.-Y., Xu T., Wang J.-Y., Shi J., Zhao Y.-H., Xu X.-X.: [Relationship between polymorphisms of FCGR2B and susceptibility of children idiopathic thrombocytopenic purpura]. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi.* 2009, 17, 729–733.
67. van der Heijden J., Breunis W.B., Geissler J., de Boer M., van den Berg T.K., Kuijpers T.W.: Phenotypic variation in IgG receptors by nonclassical FCGR2C alleles. *J Immunol.* 2012, 188, 1318–1324.
68. van der Helm-van Mil A.H.M., Huizinga T.W.J.: Advances in the genetics of rheumatoid arthritis point to subclassification into distinct disease subsets. *Arthritis Res Ther.* 2008, 10, 205.
69. Hemminger J., Nadasdy G., Sato A., Brodsky S.V., Nadasdy J.: IgG Subclass Staining in Routine Renal Biopsy Material. *Am J Surg Pathol.* 2016, .
70. Hepburn A.L., Mason J.C., Wang S., Shepherd C.J., Florey O., Haskard D.O., Davies K.A.: Both Fc γ and complement receptors mediate transfer of immune complexes from erythrocytes to human macrophages under physiological flow conditions in vitro. *Clin Exp Immunol.* 2006, 146,

- 133–145.
71. Hessner M.J., Curtis B.R., Endean D.J., Aster R.H.: Determination of neutrophil antigen gene frequencies in five ethnic groups by polymerase chain reaction with sequence-specific primers. *Transfusion*. 1996, 36, 895–899.
 72. Hessner M.J., Shivaram S.M., Dinauer D.M., Curtis B.R., Endean D.J., Aster R.H.: Neutrophil antigen (FcγRIIIB) SH gene frequencies in six racial groups. *Blood*. 1999, 93, 1115–1116.
 73. Hitomi Y., Tsuchiya N., Kawasaki A., Ohashi J., Suzuki T., Kyogoku C., Fukazawa T., Bejrachandra S., Siriboonrit U., Chandanayingyong D., Suthipinittharm P., Tsao B.P., Hashimoto H., Honda Z., Tokunaga K.: CD72 polymorphisms associated with alternative splicing modify susceptibility to human systemic lupus erythematosus through epistatic interaction with FCGR2B. *Hum Mol Genet*. 2004, 13, 2907–2917.
 74. Hom G., Graham R.R., Modrek B., Taylor K.E., Ortmann W., Garnier S., Lee A.T., Chung S.A., Ferreira R.C., Pant P.V.K., Ballinger D.G., Kosoy R., Demirci F.Y., Kamboh M.I., Kao A.H., Tian C., Gunnarsson I., Bengtsson A.A., Rantapää-Dahlqvist S., Petri M., Manzi S., Seldin M.F., Rönblom L., Syvänen A.-C., Criswell L.A., Gregersen P.K., Behrens T.W.: Association of Systemic Lupus Erythematosus with C8orf13–BLK and ITGAM–ITGAX. *N Engl J Med*. 2008, 358, 900–909.
 75. Hong C.H., Lee J.S., Lee H.S., Bae S.C., Yoo D.H.: The association between fcγRIIIB polymorphisms and systemic lupus erythematosus in Korea. *Lupus*. 2005, 14, 346–350.
 76. Hughes L.B., Criswell L.A., Beasley T.M., Edberg J.C., Kimberly R.P., Moreland L.W., Seldin M.F., Bridges S.L.: Genetic risk factors for infection in patients with early rheumatoid arthritis. *Genes Immun*. 2004, 5, 641–647.
 77. Humphreys J.H., van Nies J.A.B., Chipping J., Marshall T., van der Helm-van Mil A.H.M., Symmons D.P.M., Verstappen S.M.M.: Rheumatoid factor and anti-citrullinated protein antibody positivity, but not level, are associated with increased mortality in patients with rheumatoid arthritis: results from two large independent cohorts. *Arthritis Res Ther*. 2014, 16, 483.
 78. Jakóbsiak M., Gołąb J.: Fagocytoza i mechanizmy cytotoksyczności komórek żernych. In: *Immunologia*. 2008: 94–108.
 79. Jawahar S., Moody C., Chan M., Finberg R., Geha R., Chatila T.: Natural killer (NK) cell deficiency associated with an epitope-deficient Fc receptor type IIIA (CD16-II). *Clin Exp Immunol*. 1996, 103, 408–413.
 80. Jawaheer D., Lum R.F., Gregersen P.K., Criswell L.A.: Influence of male sex on disease phenotype in familial rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2006, 54, 3087–3094.
 81. Jego G., Palucka A.K., Blanck J.-P.J., Chalouni C., Pascual V., Banchereau J.: Plasmacytoid dendritic cells induce plasma cell differentiation through type I interferon and interleukin 6. *Immunity*. 2003, 19, 225–234.
 82. Ji Y.-X., Zhang H.-Y., Lin S.-X.: [Single nucleotide polymorphism of

- FCGR2A gene in Han Chinese children with Kawasaki disease]. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi*. 2013, 15, 196–200.
83. Jönson A., Gunnarsson I., Gullstrand B., Svenungsson E., Bengtsson A., Nived O., Lundberg I.E., Truedsson L., Sturfelt G.: Association between SLE nephritis and polymorphic variants of the CRP and FcγRIIIa genes. *Rheumatology (Oxford)*. 2007, 46, 1417–1421.
 84. Jönson A., Bengtsson A.A., Sturfelt G., Truedsson L.: Analysis of HLA DR, HLA DQ, C4A, FcγRIIa, FcγRIIIa, MBL, and IL-1Ra allelic variants in Caucasian systemic lupus erythematosus patients suggests an effect of the combined FcγRIIa R/R and IL-1Ra 2/2 genotypes on disease susceptibility. *Arthritis Res Ther*. 2004, 6, R557–R562.
 85. Jura-półtorak A., Olczyk K.: Diagnostyka i ocena aktywności reumatoidalnego zapalenia stawów. *Diagnostics and assessment of rheumatoid arthritis activity*. 2011, 47, 431–438.
 86. Kallberg H., Padyukov L., Plenge R.M., Ronnelid J., Gregersen P.K., van der Helm-van Mil A.H.M., Toes R.E.M., Huizinga T.W., Klareskog L., Alfredsson L.: Gene-gene and gene-environment interactions involving HLA-DRB1, PTPN22, and smoking in two subsets of rheumatoid arthritis. *Am J Hum Genet*. 2007, 80, 867–875.
 87. Karassa F.B., Bijl M., Davies K.A., Kallenberg C.G.M., Khamashta M.A., Manger K., Michel M., Piette J.-C., Salmon J.E., Song Y.W., Tsuchiya N., Yoo D.-H., Ioannidis J.P.A.: Role of the Fcγ receptor IIA polymorphism in the antiphospholipid syndrome: an international meta-analysis. *Arthritis Rheum*. 2003, 48, 1930–1938.
 88. Karassa F.B., Trikalinos T.A., Ioannidis J.P.A.: Role of the Fcγ receptor IIA polymorphism in susceptibility to systemic lupus erythematosus and lupus nephritis: A meta-analysis. *Arthritis Rheum*. 2002, 46, 1563–1571.
 89. Karassa F.B., Trikalinos T.A., Ioannidis J.P.A.: The FcγRIIIA-F158 allele is a risk factor for the development of lupus nephritis: a meta-analysis. *Kidney Int*. 2003, 63, 1475–1482.
 90. Kastbom A., Ahmadi A., Söderkvist P., Skogh T.: The 158V polymorphism of Fcγ receptor type IIIA in early rheumatoid arthritis: increased susceptibility and severity in male patients (the Swedish TIRA project). *Rheumatology (Oxford)*. 2005, 44, 1294–1298.
 91. Kawai M., Szegedi G.: Immune complex clearance by monocytes and macrophages in systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev*. 2007, 6, 497–502.
 92. Koene H.R., Kleijer M., Roos D., de Haas M., Von dem Borne A.E.: FcγRIIIB gene duplication: evidence for presence and expression of three distinct FcγRIIIB genes in NA(1+,2+)SH(+) individuals. *Blood*. 1998, 91, 673–679.
 93. Koene H.R., Kleijer M., Swaak A.J., Sullivan K.E., Bijl M., Petri M. A., Kallenberg C.G., Roos D., von dem Borne A.E., de Haas M.: The Fc

- gammaRIIIA-158F allele is a risk factor for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1998, 41, 1813–1818.
94. Kohrt H.E., Houot R., Marabelle A., Cho H.J., Osman K., Goldstein M., Levy R., Brody J.: Combination strategies to enhance antitumor ADCC. *Immunotherapy.* 2012, 4, 511–527.
 95. Kono H., Kyogoku C., Suzuki T., Tsuchiya N., Honda H., Yamamoto K., Tokunaga K., Honda Z.-I.: FcγRIIB Ile232Thr transmembrane polymorphism associated with human systemic lupus erythematosus decreases affinity to lipid rafts and attenuates inhibitory effects on B cell receptor signaling. *Hum Mol Genet.* 2005, 14, 2881–2892.
 96. Kyogoku C., Dijstelbloem H.M., Tsuchiya N., Hatta Y., Kato H., Yamaguchi A., Fukazawa T., Jansen M.D., Hashimoto H., van de Winkel J.G.J., Kallenberg C.G.M., Tokunaga K.: Fcγ receptor gene polymorphisms in Japanese patients with systemic lupus erythematosus: contribution of FCGR2B to genetic susceptibility. *Arthritis Rheum.* 2002, 46, 1242–1254.
 97. Kyogoku C., Tsuchiya N., Matsuta K., Tokunaga K.: Studies on the association of Fc γ receptor IIA, IIB, IIIA and IIIB polymorphisms with rheumatoid arthritis in the Japanese: evidence for a genetic interaction between HLA-DRB1 and FCGR3A. *Genes Immun.* 2002, 3, 488–493.
 98. Kyogoku C., Tsuchiya N., Wu H., Tsao B.P., Tokunaga K.: Association of Fcγ receptor IIA, but not IIB and IIIA, polymorphisms with systemic lupus erythematosus: A family-based association study in Caucasians. *Arthritis Rheum.* 2004, 50, 671–673.
 99. Lahiri D.K., Numberger J.I.: A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Res.* 1991, 19, 5444.
 100. Landré-Beauvais A.J.: The first description of rheumatoid arthritis. Unabridged text of the doctoral dissertation presented in 1800. *Joint Bone Spine.* 2001, 68, 130–143.
 101. Lee Y.H., Bae S.-C., Song G.G.: FCGR2A, FCGR3A, FCGR3B polymorphisms and susceptibility to rheumatoid arthritis: a meta-analysis. *Clin Exp Rheumatol.* 2015, 33, 647–654.
 102. Lee Y.H., Ji J.D., Song G.G.: Associations between FCGR3A polymorphisms and susceptibility to rheumatoid arthritis: a metaanalysis. *J Rheumatol.* 2008, 35, 2129–2135.
 103. Lee Y.H., Ji J.D., Song G.G.: Fcγ receptor IIB and IIIB polymorphisms and susceptibility to systemic lupus erythematosus and lupus nephritis: a meta-analysis. *Lupus.* 2009, 18, 727–734.
 104. Lejeune J., Piègu B., Gouilleux-Gruart V., Ohresser M., Watier H., Thibault G.: FCGR2C genotyping by pyrosequencing reveals linkage disequilibrium with FCGR3A V158F and FCGR2A H131R polymorphisms in a Caucasian population. *MAbs.* 2012, 4, 784–787.
 105. Li L.-H., Yuan H., Pan H.-F., Li W.-X., Li X.-P., Ye D.-Q.: Role of the Fcγ receptor IIIA-V/F158 polymorphism in susceptibility to systemic

- lupus erythematosus and lupus nephritis: a meta-analysis. *Scand J Rheumatol.* 2010, 39, 148–154.
106. Li R., Peng H., Chen G.-M., Feng C.-C., Zhang Y.-J., Wen P.-F., Qiu L.-J., Leng R.-X., Pan H.-F., Ye D.-Q.: Association of FCGR2A-R/H131 polymorphism with susceptibility to systemic lupus erythematosus among Asian population: a meta-analysis of 20 studies. *Arch Dermatol Res.* 2014, 306, 781–791.
 107. Li X., Gibson A.W., Kimberly R.P.: Human FcR polymorphism and disease. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2014, 382, 275–302.
 108. Li X., Ptacek T.S., Brown E.E., Edberg J.C.: Fcγ receptors: structure, function and role as genetic risk factors in SLE. *Genes Immun.* 2009, 10, 380–389.
 109. Li X., Wu J., Ptacek T., Redden D.T., Brown E.E., Alarcón G.S., Ramsey-Goldman R., Petri M.A., Reveille J.D., Kaslow R.A., Kimberly R.P., Edberg J.C.: Allelic-dependent expression of an activating Fc receptor on B cells enhances humoral immune responses. *Sci Transl Med.* 2013, 5, 216ra175.
 110. Liu Z., Davidson A.: Taming lupus—a new understanding of pathogenesis is leading to clinical advances. *Nat Med.* 2012, 18, 871–882.
 111. Lood C., Gullstrand B., Truedsson L., Olin A.I., Alm G. V., Rönnblom L., Sturfelt G., Eloranta M.-L., Bengtsson A.A.: C1q inhibits immune complex-induced interferon-α production in plasmacytoid dendritic cells: a novel link between C1q deficiency and systemic lupus erythematosus pathogenesis. *Arthritis Rheum.* 2009, 60, 3081–3090.
 112. Magnusson V., Zunec R., Odeberg J., Sturfelt G., Truedsson L., Gunnarsson I., Alarcón-Riquelme M.E.: Polymorphisms of the Fcγ receptor type IIB gene are not associated with systemic lupus erythematosus in the Swedish population. *Arthritis Rheum.* 2004, 50, 1348–1350.
 113. Majdan M.: *Toczeń rumieniowaty układowy.* Poznań: Termedia, 2015. ISBN 97-88379880-07-2.
 114. Manger K., Repp R., Jansen M., Geisselbrecht M., Wassmuth R., Westerdaal N.A.C., Pfahlberg A., Manger B., Kalden J.R., van de Winkel J.G.J.: Fcγ receptor IIa, IIIa, and IIIb polymorphisms in German patients with systemic lupus erythematosus: association with clinical symptoms. *Ann Rheum Dis.* 2002, 61, 786–792.
 115. McInnes .B., Schett G.: The pathogenesis of rheumatoid arthritis. *N Engl J Med.* 2011, 365, 2205–2219.
 116. Meister S., Engelmann R., Kneitz C., Müller-Hilke B.: The presence of FCGR2B promoter or transmembrane region variant alleles leads to reduced serum IL-6 levels in rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int.* 2015, 35, 1311–1318.
 117. Morel P.A., Ernst L.K., Metes D.: Functional CD32 molecules on human NK cells. *Leuk Lymphoma.* 1999, 35, 47–56.
 118. Morgan A.W., Barrett J.H., Griffiths B., Subramanian D., Robinson J.I., Keyte V.H., Ali M., Jones E.A., Old R.W., Ponchel F., Boylston A.W.,

- Situnayake R.D., Markham A.F., Emery P., Isaacs J.D.: Analysis of Fcγ receptor haplotypes in rheumatoid arthritis: FCGR3A remains a major susceptibility gene at this locus, with an additional contribution from FCGR3B. *Arthritis Res Ther.* 2006, 8, R5.
119. Morgan A.W., Griffiths B., Ponchel F., Montague B.M., Ali M., Gardner P.P., Gooi H.C., Situnayake R.D., Markham A.F., Emery P., Isaacs J.D.: Fcγ receptor type IIIA is associated with rheumatoid arthritis in two distinct ethnic groups. *Arthritis Rheum.* 2000, 43, 2328–2334.
 120. Morgan A.W., Robinson J.I., Barrett J.H., Martin J., Walker A., Babbage S.J., Ollier W.E.R., Gonzalez-Gay M.A., Isaacs J.D.: Association of FCGR2A and FCGR2A-FCGR3A haplotypes with susceptibility to giant cell arteritis. *Arthritis Res Ther.* 2006, 8, R109.
 121. Muñoz L.E., Bavep C. Van, Franz S., Berden J., Herrmann M., Vlag J. Van Der: Apoptosis in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. 2008, 371–375.
 122. Niederer H.A., Clatworthy M.R., Willcocks L.C., Smith K.G.C.: FcγRIIB, FcγRIIIB, and systemic lupus erythematosus. *Ann N Y Acad Sci.* 2010, 1183, 69–88.
 123. Nieto A., Cáliz R., Pascual M., Matarán L., García S., Martín J.: Involvement of Fcγ receptor IIIA genotypes in susceptibility to rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2000, 43, 735–739.
 124. Nile C.J., Read R.C., Akil M., Duff G.W., Wilson A.G.: Methylation status of a single CpG site in the IL6 promoter is related to IL6 messenger RNA levels and rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2008, 58, 2686–2693.
 125. Nimmerjahn F., Ravetch J. V.: Fcγ receptors as regulators of immune responses. *Nat Rev Immunol.* 2008, 8, 34–47.
 126. Norsworthy P., Theodoridis E., Botto M., Athanassiou P., Beynon H., Gordon C., Isenberg D., Walport M.J., Davies K.A.: Overrepresentation of the Fcγ receptor type IIA R131/R131 genotype in caucasoid systemic lupus erythematosus patients with autoantibodies to C1q and glomerulonephritis. *Arthritis Rheum.* 1999, 42, 1828–1832.
 127. Nourse J.P., Lea R., Crooks P., Wright G., Tran H., Catalano J., Brighton T., Grigg A., Marlton P., Gandhi M.K.: The KIR2DS2/DL2 genotype is associated with adult persistent/chronic and relapsed immune thrombocytopenia independently of FCGR3a-158 polymorphisms. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2012, 23, 45–50.
 128. Nowakowski S., Typiak M D.A.: Receptory dla Fc części stałej immunoglobuliny G w etiopatogenezie chorób z autoagresji. *Int Rev Allergol Clin Immunol Fam Med.* 2015, 21, 55–61.
 129. Olfieriev M., Masuda E., Tanaka S., Blank M.C., Pricop L.: The role of activating protein 1 in the transcriptional regulation of the human FCGR2B promoter mediated by the -343 G → C polymorphism associated with systemic lupus erythematosus. *J Biol Chem.* 2007, 282, 1738–1746.

130. Paoliello-Paschoalato A.B., Marchi L.F., de Andrade M.F., Kabeya L.M., Donadi E.A., Lucisano-Valim Y.M.: Fcγ and Complement Receptors and Complement Proteins in Neutrophil Activation in Rheumatoid Arthritis: Contribution to Pathogenesis and Progression and Modulation by Natural Products. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2015, 2015, 429878.
131. Park Y.-W., Kee S.-J., Cho Y.-N., Lee E.-H., Lee H.-Y., Kim E.-M., Shin M.-H., Park J.-J., Kim T.-J., Lee S.-S., Yoo D.-H., Kang H.-S.: Impaired differentiation and cytotoxicity of natural killer cells in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2009, 60, 1753–1763.
132. Pawlik A., Ostanek L., Brzosko I., Dabrowska-Zamojcin E., Brzosko M., Florczak M., Gawrońska-Szklarz B.: The influence of Fcγ3 polymorphism on rheumatoid arthritis. *Pol Arch Med Wewnętrznej.* 2004, 112, 907–910.
133. Petri M., Kim M.Y., Kalunian K.C., Grossman J., Hahn B.H., Sammaritano L.R., Lockshin M., Merrill J.T., Belmont H.M., Askanase A.D., McCune W.J., Heath-Holmes M., Dooley M.A., Von Feldt J., Friedman A., Tan M., Davis J., Cronin M., Diamond B., Mackay M., Sigler L., Fillius M., Rupel A., Licciardi F., Buyon J.P.: Combined oral contraceptives in women with systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med.* 2005, 353, 2550–2558.
134. Petri M., Orbai A.-M., Alarcón G.S., Gordon C., Merrill J.T., Fortin P.R., Bruce I.N., Isenberg D., Wallace D.J., Nived O., Sturfelt G., Ramsey-Goldman R., Bae S.-C., Hanly J.G., Sánchez-Guerrero J., Clarke A., Aranow C., Manzi S., Urowitz M., Gladman D., Kalunian K., Costner M., Werth V.P., Zoma A., Bernatsky S., Ruiz-Irastorza G., Khamashta M.A., Jacobsen S., Buyon J.P., Maddison P., Dooley M.A., van Vollenhoven R.F., Ginzler E., Stoll T., Peschken C., Jorizzo J.L., Callen J.P., Lim S.S., Fessler B.J., Inanc M., Kamen D.L., Rahman A., Steinsson K., Franks A.G., Sigler L., Hameed S., Fang H., Pham N., Brey R., Weisman M.H., McGwin G., Magder L.S.: Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2012, 64, 2677–2686.
135. Petri M.: Epidemiology of systemic lupus erythematosus. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2002, 16, 847–858.
136. van der Pol W.L., van den Berg L.H., Scheepers R.H., van der Bom J.G., van Doorn P.A., van Koningsveld R., van den Broek M.C., Wokke J.H., van de Winkel J.G.: IgG receptor IIa alleles determine susceptibility and severity of Guillain-Barré syndrome. *Neurology.* 2000, 54, 1661–1665.
137. van der Pol W.L., Jansen M.D., Kuks J.B.M., de Baets M., Leppers-van de Straat F.G.J., Wokke J.H.J., van de Winkel J.G.J., van den Berg L.H.: Association of the Fc gamma receptor IIA-R/R131 genotype with myasthenia gravis in Dutch patients. *J Neuroimmunol.* 2003, 144, 143–147.
138. Pradhan V., Deshpande N., Nadkarni A., Patwardhan M., Surve P., Ghosh K.: Fc gamma R IIIB polymorphisms: their association with clinical manifestations and autoantibodies in SLE patients from western India. *Int J*

- Rheum Dis. 2010, 13, 138–143.
139. Puszczewicz M., Białkowska-Puszczewicz G.: *Reumatologia*. Warszawa : Medical Tribune Polska, 2010.
 140. Radstake T.R.D.J., Franke B., Wenink M.H., Nabbe K.C.A.M., Coenen M.J.H., Welsing P., Bonvini E., Koenig S., van den Berg W.B., Barrera P., van Riel P.L.C.M.: The functional variant of the inhibitory Fcγ receptor IIb (CD32B) is associated with the rate of radiologic joint damage and dendritic cell function in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2006, 54, 3828–3837.
 141. Radstake T.R.D.J., Petit E., Pierlot C., van de Putte L.B.A., Cornelis F., Barrera P.: Role of Fcγ receptors IIA, IIIA, and IIIB in susceptibility to rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 2003, 30, 926–933.
 142. Raknes G., Skeie G.O., Gilhus N.E., Aadland S., Vedeler C.: Fcγ RIIA and Fcγ RIIIB polymorphisms in myasthenia gravis. *J Neuroimmunol.* 1998, 81, 173–176.
 143. Rodriguez S., Gaunt T.R., Day I.N.M.: Hardy-Weinberg equilibrium testing of biological ascertainment for Mendelian randomization studies. *Am J Epidemiol.* 2009, 169, 505–514.
 144. Rother N., van der Vlag J.: Disturbed T Cell Signaling and Altered Th17 and Regulatory T Cell Subsets in the Pathogenesis of Systemic Lupus Erythematosus. *Front Immunol.* 2015, 6, 610.
 145. Salmon J.E., Millard S., Schachter L.A., Arnett F.C., Ginzler E.M., Gourley M.F., Ramsey-Goldman R., Peterson M.G., Kimberly R.P.: Fc γ RIIIA alleles are heritable risk factors for lupus nephritis in African Americans. *J Clin Invest.* 1996, 97, 1348–1354.
 146. Scott D.L., Wolfe F., Huizinga T.W.J.: Rheumatoid arthritis. *Lancet.* 2010, 376, 1094–1108.
 147. Shegarfi H., Naddafi F., Mirshafiey A.: Natural killer cells and their role in rheumatoid arthritis: friend or foe? *ScientificWorldJournal.* 2012, 2012, 491974.
 148. Shrestha S., Wiener H., Shendre A., Kaslow R.A., Wu J., Olson A., Bowles N.E., Patel H., Edberg J.C., Portman M.A.: Role of activating FcγR gene polymorphisms in Kawasaki disease susceptibility and intravenous immunoglobulin response. *Circ Cardiovasc Genet.* 2012, 5, 309–316.
 149. Silman A.J., Pearson J.E.: Epidemiology and genetics of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res.* 2002, 4 Suppl 3, S265–S272.
 150. Sinha S., Prasad, K.N., Jain D., Nyati K.K., Pradhan S., Agrawal S.: Immunoglobulin IgG Fc-receptor polymorphisms and HLA class II molecules in Guillain-Barré syndrome. *Acta Neurol Scand.* 2010, 122, 21–26.
 151. Sinico R.A., Rimoldi L., Radice A., Bianchi L., Gallelli B., Moroni G.: Anti-C1q autoantibodies in lupus nephritis. *Ann N Y Acad Sci.* 2009, 1173, 47–51.
 152. Siriboonrit U., Tsuchiya N., Sirikong M., Kyogoku C., Bejrachandra S., Suthipinittharm P., Luangtrakool K., Srinak D., Thongpradit R., Fujiwara K.,

- Chandanayingyong D., Tokunaga K.: Association of Fcγ receptor IIb and IIIb polymorphisms with susceptibility to systemic lupus erythematosus in Thais. *Tissue Antigens*. 2003, 61, 374–383.
153. Smyth L.J., Snowden N., Carthy D., Papasteriades C., Hajeer A., Ollier W.E.: Fc gamma RIIa polymorphism in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis*. 1997, 56, 744–746.
154. Sokka T., Abelson B., Pincus T.: Mortality in rheumatoid arthritis: 2008 update. *Clin Exp Rheumatol*. 26, S35–S61.
155. Song Y.W., Han C.W., Kang S.W., Baek H.J., Lee E.B., Shin C.H., Hahn B.H., Tsao B.P.: Abnormal distribution of Fc gamma receptor type IIa polymorphisms in Korean patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 1998, 41, 421–426.
156. Soni C., Domeier P.P., Wong E.B., Shwetank, Khan T.N., Elias M.J., Schell S.L., Lukacher A.E., Cooper T.K., Rahman Z.S.M.: Distinct and synergistic roles of FcγRIIB deficiency and 129 strain-derived SLAM family proteins in the development of spontaneous germinal centers and autoimmunity. *J Autoimmun*. 2015, 63, 31–46.
157. van Sorge N.M., van der Pol W.-L., Jansen M.D., Geleijns K.P.W., Kalmijn S., Hughes R.A.C., Rees J.H., Pritchard J., Vedeler C.A., Myhr K.-M., Shaw C., van Schaik I.N., Wokke J.H.J., van Doorn P.A., Jacobs B.C., van de Winkel J.G.J., van den Berg L.H.: Severity of Guillain-Barré syndrome is associated with Fc gamma Receptor III polymorphisms. *J Neuroimmunol*. 2005, 162, 157–164.
158. Squatrito D., Emmi G., Silvestri E., Ciucciarelli L., D'Elia M.M., Prisco D., Emmi L.: Pathogenesis and potential therapeutic targets in systemic lupus erythematosus: from bench to bedside. *Auto-Immun highlights*. 2014, 5, 33–45.
159. Stahl E.A., Raychaudhuri S., Remmers E.F., Xie G., Eyre S., Thomson B.P., Li Y., Kurreeman F.A.S., Zernakova A., Hinks A., Guiducci C., Chen R., Alfredsson L., Amos C.I., Ardlie K.G., Barton A., Bowes J., Brouwer E., Burtt N.P., Catanese J.J., Coblyn J., Coenen M.J.H., Costenbader K.H., Criswell L.A., Crusius J.B.A., Cui J., de Bakker P.I.W., De Jager P.L., Ding B., Emery P., Flynn E., Harrison P., Hocking L.J., Huizinga T.W.J., Kastner D.L., Ke X., Lee A.T., Liu X., Martin P., Morgan A.W., Padyukov L., Posthumus M.D., Radstake T.R.D.J., Reid D.M., Seielstad M., Seldin M.F., Shadick N.A., Steer S., Tak P.P., Thomson W., van der Helm-van Mil A.H.M., van der Horst-Bruinsma I.E., van der Schoot C.E., van Riel P.L.C.M., Weinblatt M.E., Wilson A.G., Wolbink G.J., Wordsworth B.P., Wijmenga C., Karlson E.W., Toes R.E.M., de Vries N., Begovich A.B., Worthington J., Siminovitch K.A., Gregersen P.K., Klareskog L., Plenge R.M.: Genome-wide association study meta-analysis identifies seven new rheumatoid arthritis risk loci. *Nat Genet*. 2010, 42, 508–514.
160. Stanisławska-Biernat E., Sierakowska M., Sierakowski S.: Nowe kryteria klasyfikacyjne reumatoidalnego zapalenia stawów. *Reumatologia*. 2010, 48,

- 361–365.
161. Stein M.P., Edberg J.C., Kimberly R.P., Mangan E.K., Bharadwaj D., Mold C., Du Clos T.W.: C-reactive protein binding to FcγRIIIa on human monocytes and neutrophils is allele-specific. *J Clin Invest.* 2000, 105, 369–376.
 162. Stewart-Akers A.M., Cunningham A., Wasko M.C., Morel P.A.: Fc γ R expression on NK cells influences disease severity in rheumatoid arthritis. *Genes Immun.* 2004, 5, 521–529.
 163. Su K., Wu J., Edberg J.C., Li X., Ferguson P., Cooper G.S., Langefeld C.D., Kimberly R.P.: A Promoter Haplotype of the Immunoreceptor Tyrosine-Based Inhibitory Motif-Bearing Fc RIIb Alters Receptor Expression and Associates with Autoimmunity. I. Regulatory FCGR2B Polymorphisms and Their Association with Systemic Lupus Erythematosus. *J Immunol.* 2004, 172, 7186–7191.
 164. Su K., Wu J., Edberg J.C., McKenzie S.E., Kimberly R.P.: Genomic organization of classical human low-affinity Fcγ receptor genes. *Genes Immun.* 2002, 3 Suppl 1, S51–S56.
 165. Sullivan P.W., Ghushchyan V., Huang X.-Y., Globe D.R.: Influence of rheumatoid arthritis on employment, function, and productivity in a nationally representative sample in the United States. *J Rheumatol.* 2010, 37, 544–549.
 166. Szucs G., Kawai M., Kiss E., Csipo I., Szegedi G.: Correlation of IgG Fc Receptors on Granulocytes with Serum Immune Complex Level in Systemic Lupus Erythematosus. *Scand J Immunol.* 1995, 42, 577–580.
 167. Takagi H., Ishiguro N., Iwata H., Kanamono T.: Genetic association between rheumatoid arthritis and estrogen receptor microsatellite polymorphism. *J Rheumatol.* 2000, 27, 1638–1642.
 168. Takai T.: Fc receptors and their role in immune regulation and autoimmunity. *J Clin Immunol.* 2005, 25, 1–18.
 169. Tan T.C., Fang H., Magder L.S., Petri M.A.: Differences between Male and Female Systemic Lupus Erythematosus in a Multiethnic Population. *J Rheumatol.* 2012, 39, 759–769.
 170. Tengstrand B., Carlström K., Felländer-Tsai L., Hafström I.: Abnormal levels of serum dehydroepiandrosterone, estrone, and estradiol in men with rheumatoid arthritis: high correlation between serum estradiol and current degree of inflammation. *J Rheumatol.* 2003, 30, 2338–2343.
 171. Tengstrand B., Carlström K., Hafström I.: Bioavailable testosterone in men with rheumatoid arthritis-high frequency of hypogonadism. *Rheumatology (Oxford).* 2002, 41, 285–289.
 172. Thabet M.M., Huizinga T.W.J., Marques R.B., Stoeken-Rijsbergen G., Bakker A.M., Kurreeman F.A., White S.J., Toes R.E.M., van der Helm-van Mil A.H.M.: Contribution of Fcγ receptor IIIA gene 158V/F polymorphism and copy number variation to the risk of ACPA-positive rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2009, 68, 1775–1780.

173. Thanei S., Trendelenburg M.: Anti-C1q Autoantibodies from Systemic Lupus Erythematosus Patients Induce a Proinflammatory Phenotype in Macrophages. *J Immunol.* 2016, 196, 2063–2074.
174. Tian Z., Gershwin M.E., Zhang C.: Regulatory NK cells in autoimmune disease. *J Autoimmun.* 2012, 39, 206–215.
175. Thustochowicz W., Brzosko M., Filipowicz-Sosnowska A., Głuszko P., Kucharz E.J., Maśliński W., Samborski W., Szechiński J., Wiland P.: Stanowisko Zespołu Ekspertów Konsultanta Krajowego ds. Reumatologii w sprawie diagnostyki i terapii reumatoidalnego zapalenia stawów. *Reumatologia.* 2008, 46, 111–114.
176. Tobón G.J., Youinou P., Saraux A.: The environment, geo-epidemiology, and autoimmune disease: Rheumatoid arthritis. *J Autoimmun.* 2010, 35, 10–14.
177. Tsang-A-Sjoe M.W.P., Nagelkerke S.Q., Bultink I.E.M., Geissler J., Tanck M.W.T., Tacke C.E., Ellis J.A., Zenz W., Bijl M., Berden J.H., de Leeuw K., Derksen R.H., Kuijpers T.W., Voskuyl A.E.: Fc-gamma receptor polymorphisms differentially influence susceptibility to systemic lupus erythematosus and lupus nephritis. *Rheumatology.* 2016, kev433.
178. Tse W.Y., Abadeh S., Jefferis R., Savage C.O., Adu D.: Neutrophil FcgammaRIIb allelic polymorphism in anti-neutrophil cytoplasmic antibody (ANCA)-positive systemic vasculitis. *Clin Exp Immunol.* 2000, 119, 574–577.
179. Tse W.Y., Abadeh S., McTiernan A., Jefferis R., Savage C.O., Adu D.: No association between neutrophil FcgammaRIIa allelic polymorphism and anti-neutrophil cytoplasmic antibody (ANCA)-positive systemic vasculitis. *Clin Exp Immunol.* 1999, 117, 198–205.
180. Tsuchiya N., Kobayashi S., Kawasaki A., Kyogoku C., Arimura Y., Yoshida M., Tokunaga K., Hashimoto H.: Genetic background of Japanese patients with antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis: association of HLA-DRB1*0901 with microscopic polyangiitis. *J Rheumatol.* 2003, 30, 1534–1540.
181. Tsujimura Y., Obata K., Mukai K., Shindou H., Yoshida M., Nishikado H., Kawano Y., Minegishi Y., Shimizu T., Karasuyama H.: Basophils play a pivotal role in immunoglobulin-G-mediated but not immuno-globulin-E-mediated systemic anaphylaxis. *Immunity.* 2008, 28, 581–589.
182. Tukaj S., Lipińska B.: [Heat shock proteins in rheumatoid arthritis: friend or foe?]. *Postępy Hig i Med doświadczalnej.* 2011, 65, 427–436.
183. Typiak M., Rębała K., Dudziak M., Słomiński J.M., Dubaniewicz A.: Polymorphism of FCGR2A, FCGR2C, and FCGR3B Genes in the Pathogenesis of Sarcoidosis. *Adv Exp Med Biol.* 2016,.
184. Typiak M.: Polimorfizm genów FCGR w etiopatogenezie sarkoidozy. Gdańsk : Gdański Uniwersytet Medyczny, 2013.
185. Typiak M.J., Rębała K., Dudziak M., Dubaniewicz A.: Polymorphism of FCGR3A gene in sarcoidosis. *Hum Immunol.* 2014, 75, 283–288.
186. Vedeler C.A., Raknes G., Myhr K.M., Nyland H.: IgG Fc-receptor

- polymorphisms in Guillain-Barré syndrome. *Neurology*. 2000, 55, 705–707.
187. Vigato-Ferreira I.C.C., Toller-Kawahisa J.E., Pancoto J.A.T., Mendes-Junior C.T., Martinez E.Z., Donadi E.A., Louzada-Júnior P., Del Lama J.E.C., Marzocchi-Machado C.M.: FcγRIIa and FcγRIIIb polymorphisms and associations with clinical manifestations in systemic lupus erythematosus patients. *Autoimmunity*. 2014, 47, 451–458.
188. Vogt B., Führrohr B., Müller R., Sheriff A.: CRP and the disposal of dying cells: consequences for systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Autoimmunity*. 2007, 40, 295–298.
189. Warmerdam P.A., van de Winkel J.G., Gosselin E.J., Capel P.J.: Molecular basis for a polymorphism of human Fc gamma receptor II (CD32). *J Exp Med*. 1990, 172, 19–25.
190. Weersma R.K., Crusius J.B.A., Roberts R.L., Koeleman B.P.C., Palomino-Morales R., Wolfkamp S., Hollis-Moffatt J.E., Festen E.A.M., Meisneris S., Heijmans R., Noble C.L., Garry R.B., Barclay M.L., Gómez-García M., Lopez-Nevot M.A., Nieto A., Rodrigo L., Radstake T.R.D.J., van Bodegraven A.A., Wijmenga C., Merriman T.R., Stokkers P.C.F., Peña A.S., Martín J., Alizadeh B.Z.: Association of FcγR2a, but not FcγR3a, with inflammatory bowel diseases across three Caucasian populations. *Inflamm Bowel Dis*. 2010, 16, 2080–2089.
191. Wei F., Chang Y., Wei W.: The role of BAFF in the progression of rheumatoid arthritis. *Cytokine*. 2015, 76, 537–544.
192. Wenink M.H., Santegoets K.C.M., Roelofs M.F., Huijbens R., Koenen H.J.P.M., van Beek R., Joosten I., Meyer-Wentrup F., Mathsson L., Ronnelid J., Adema G.J., Bonvini E., Koenig S., van den Berg W.B., van Riel P.L.C.M., Radstake T.R.D.J.: The inhibitory Fc gamma IIb receptor dampens TLR4-mediated immune responses and is selectively up-regulated on dendritic cells from rheumatoid arthritis patients with quiescent disease. *J Immunol*. 2009, 183, 4509–4520.
193. Williams Y., Lynch S., McCann S., Smith O., Feighery C., Whelan A.: Correlation of platelet Fc gammaRIIA polymorphism in refractory idiopathic (immune) thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol*. 1998, 101, 779–782.
194. Wu J., Edberg J.C., Redecha P.B., Bansal V., Guyre P.M., Coleman K., Salmon J.E., Kimberly R.P.: A novel polymorphism of FcγRIIIa (CD16) alters receptor function and predisposes to autoimmune disease. *J Clin Invest*. 1997, 100, 1059–1070.
195. Xiang Z., Cutler A.J., Brownlie R.J., Fairfax K., Lawlor K.E., Severinson E., Walker E.U., Manz R.A., Tarlinton D.M., Smith K.G.C.: FcγRIIb controls bone marrow plasma cell persistence and apoptosis. *Nat Immunol*. 2007, 8, 419–429.
196. Xu J., Huang Y., Tao J., Zhou Z., Chen Z., Ge J., Yang R.: An FcγRIIb transmembrane polymorphism in Chinese ITP patients. *Platelets*. 2010, 21, 479–485.
197. Yamada R., Suzuki A., Chang X., Yamamoto K.: Peptidylarginine deiminase type 4: identification of a rheumatoid arthritis-susceptible gene. *Trends Mol Med*. 2003, 9, 503–508.
198. Yaniv G., Twig G., Shor D.B.-A., Furer A., Sherer Y., Mozes O., Komisar O.,

- Slonimsky E., Klang E., Lotan E., Welt M., Marai I., Shina A., Amital H., Shoenfeld Y.: A volcanic explosion of autoantibodies in systemic lupus erythematosus: a diversity of 180 different antibodies found in SLE patients. *Autoimmun Rev.* 2015, 14, 75–79.
199. Yap S.N., Phipps M.E., Manivasagar M., Tan S.Y., Bosco J.J.: Human Fc gamma receptor IIA (FcgammaRIIA) genotyping and association with systemic lupus erythematosus (SLE) in Chinese and Malays in Malaysia. *Lupus.* 1999, 8, 305–310.
200. Yuan G., Wei J., Zhou J., Hu H., Tang Z., Zhang G.: Expression of C5aR (CD88) of synoviocytes isolated from patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Chin Med J (Engl).* 2003, 116, 1408–1412.
201. Yuan H., Ni J.-D., Pan H.-F., Li L.-H., Feng J.-B., Ye D.-Q.: Lack of association of FcγRIIb polymorphisms with systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. *Rheumatol Int.* 2011, 31, 1017–1021.
202. Yuan H., Pan H.-F., Li L.-H., Feng J.-B., Li W.-X., Li X.-P., Ye D.-Q.: Meta analysis on the association between FcgammaRIIa-R/H131 polymorphisms and systemic lupus erythematosus. *Mol Biol Rep.* 2009, 36, 1053–1058.
203. Yuan H., Pan H.-F., Li L.-H., Feng J.-B., Li W.-X., Li X.-P., Ye D.-Q.: Meta analysis on the association between FcgammaRIIa-R/H131 polymorphisms and systemic lupus erythematosus. *Mol Biol Rep.* 2009, 36, 1053–1058.
204. Zandman-Goddard G., Berkun Y., Barzilai O., Boaz M., Blank M., Ram M., Sherer Y., Anaya J.M., Shoenfeld Y.: Exposure to Epstein-Barr virus infection is associated with mild systemic lupus erythematosus disease. *Ann N Y Acad Sci.* 2009, 1173, 658–663.
205. Zandman-Goddard G., Solomon M., Rosman Z., Peeva E., Shoenfeld Y.: Environment and lupus-related diseases. *Lupus.* 2012, 21, 241–250.
206. Zhang H., Li P., Wu D., Xu D., Hou Y., Wang Q., Li M., Li Y., Zeng X., Zhang F., Shi Q.: Serum IgG subclasses in autoimmune diseases. *Medicine (Baltimore).* 2015, 94, e387.
207. Zhang Y., Zhao M., Sawalha A.H., Richardson B., Lu Q.: Impaired DNA methylation and its mechanisms in CD4+T cells of systemic lupus erythematosus. *J Autoimmun.* 2013, 41, 92–99.
208. Zhou X.-J., Lv J.-C., Yu L., Cui Z., Zhao J., Yang R., Han J., Hou P., Zhao M.-H., Zhang H.: FCGR2B gene polymorphism rather than FCGR2A, FCGR3A and FCGR3B is associated with anti-GBM disease in Chinese. *Nephrol Dial Transplant.* 2010, 25, 97–101.
209. Zuniga R., Markowitz G.S., Arkachaisri T., Imperatore E.A., D’Agati V.D., Salmon J.E.: Identification of IgG subclasses and C-reactive protein in lupus nephritis: the relationship between the composition of immune deposits and Fc gamma receptor type IIA alleles. *Arthritis Rheum.* 2003, 48, 460–470.
210. The American College of Rheumatology nomenclature and case definitions for neuropsychiatric lupus syndromes. *Arthritis Rheum.* 1999, 42, 599–608.

8. STRESZCZENIE

Etiopatogeneza reumatoidalnego zapalenia stawów (RZS) i toczenia rumieniowatego układowego (TRU) jest złożona i nie do końca poznana. W powstawaniu i rozwoju tych chorób mogą brać udział dysfunkcyjne receptory dla części stałej immunoglobuliny G (FcγR), które wpływają na czynność wielu komórek układu immunologicznego. W różnych grupach etnicznych na świecie wykazano związek polimorfizmów genów *FCGR2A*, *FCGR2B*, *FCGR2C*, *FCGR3A* i *FCGR3B*, kodujących receptory FcγRII oraz FcγRIII, ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na liczne choroby z autoagresji. Natomiast dotychczas nie przeprowadzono jednoczesnego badania polimorfizmu w/w genów, jak i ich analizy porównawczej wśród pacjentów z RZS i TRU w tej samej grupie etnicznej. Dlatego celem niniejszej rozprawy była ocena związku występowania poszczególnych wariantów polimorficznych w/w genów ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na RZS i TRU, w tym na postać nerkową tocznia, w homogennej populacji mieszkańców północnej Polski. Ponadto, celem pracy była analiza porównawcza badanych wariantów w/w genów wśród chorych na RZS i TRU. Badanie przeprowadzono wśród pacjentów Poradni Chorób Tkanki Łącznej oraz Kliniki Chorób Wewnętrznych, Chorób Tkanki Łącznej i Geriatrii Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego w Gdańsku. Materiał badawczy stanowiła krew obwodowa pochodząca od 106 chorych na RZS, 99 pacjentów z TRU oraz od 148 zdrowych ochotników. Badania przeprowadzono z zastosowaniem łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR) z użyciem starterów specyficznych dla poszczególnych alleli genów (*FCGR2A*, *FCGR2C*, *FCGR3A* i *FCGR3B*) oraz reakcji PCR w czasie rzeczywistym dla genu *FCGR2B*. Na podstawie niniejszej rozprawy stwierdzono, że w populacji mieszkańców północnej Polski, polimorfizm X57Q genu *FCGR2C* ma związek z większą predyspozycją do zachorowania na RZS, podczas gdy zwiększone ryzyko zachorowania na TRU było związane z występowaniem polimorfizmu F158V genu *FCGR3A* oraz wariantu NA1/SH genu *FCGR3B*. Ponadto, wystąpienie postaci nerkowej TRU może mieć związek z obecnością polimorfizmu H131R genu *FCGR2A*. W porównaniu do zdrowych ochotników, zmniejszona ilość homozygot 57XX oraz częstsze występowanie allelu 57Q genu *FCGR2C* u pacjentów z RZS może skutkować zwiększonym klirensom kompleksów immunologicznych (KI) przez FcγRIIc na monocytach, makrofagach i neutrofilach o podwyższonej fagocytarnej i prozapalnej aktywności, podczas gdy w TRU częstsze występowanie allelu 158F i genotypu 158FF genu *FCGR3A* oraz zmniejszona częstość allelu SH i genotypu NA1/SH genu *FCGR3B*, może być przyczyną upośledzonego usuwania krążących KI przez te dysfunkcyjne receptory na w/w fagocytach z następową immunokompleksemią oraz depozycją KI w tkankach tych chorych. Ponadto, w przeciwieństwie do polimorfizmu genu *FCGR2C* w RZS, wariant 158FF polimorfizmu F158V genu *FCGR3A*, obecny w TRU, może odpowiadać za zmniejszoną aktywność komórek NK w porównaniu do zdrowych ochotników. Pomimo, że różne polimorfizmy genów *FCGR* mogą warunkować odmienną odpowiedź immunologiczną w tych chorobach, to analiza porównawcza częstości występowania alleli i genotypów *FCGR* pomiędzy RZS i TRU nie wykazała istotnych różnic.

9. SUMMARY

Exact etiopathogenesis of rheumatoid arthritis (RA) and systemic lupus erythematosus (SLE) is complex and still unknown. Disfunctional receptors for immunoglobulin G Fc region, which have influence on many immune cells function, may be involved in their etiology.

A correlation between polymorphisms of *FCGR2A*, *FCGR2B*, *FCGR2C*, *FCGR3A*, *FCGR3B* genes, encoding receptors FcγRII and FcγRIII, and numerous autoimmune disorders has been proved in various ethnic groups. However, simultaneous analysis of these genes' polymorphisms and their comparative analysis among RA and SLE patients from the same ethnic group has not been performed so far.

Therefore, the aim of this study was to evaluate the relationship between the foregoing genes' polymorphisms occurrence and increased risk of RA, SLE and lupus nephropathy among the homogenous population of the residents of northern Poland. Moreover, the aim of this evaluation was a comparative analysis of the examined genes variants' among RA and SLE patients.

The study was performed among the patients of the Connective Tissue Diseases Outpatient Clinic or the Department of Internal Medicine, Connective Tissue Diseases and Geriatrics of the University Clinical Centre in Gdańsk. Studied material was available from 106 RA patients, 99 SLE patients and 148 healthy volunteers. Research was performed with polymerase chain reaction (PCR) with sequence-specific primer (*FCGR2A*, *FCGR2C*, *FCGR3A*, and *FCGR3B*) and real-time PCR (*FCGR2B*). According to the foregoing results of this paper, among the residents of northern Poland, X57Q polymorphism of *FCGR2C* gene is associated with susceptibility to RA, whereas, susceptibility to SLE is associated with F158V polymorphism of *FCGR3A* gene and NA1/SH variant of *FCGR3B* gene. Moreover, in studied population, lupus nephropathy may be associated with H131R polymorphism of *FCGR2A* gene. In comparison to healthy volunteers, a decrease of 57XX homozygotes and higher occurrence of 57Q allele of *FCGR2C* gene in RA may result in increased immune complexes (IC) clearance by FcγRIIc on monocytes, macrophages and neutrophils with their enhanced phagocytic and proinflammatory activity, whereas, in SLE, an increase in 158F allele and 158FF genotype of *FCGR3A* gene, as well as lower occurrence of SH allele and NA1/SH genotype of *FCGR3B* gene, may contribute to disabled clearance of circulating IC by these dysfunctional receptors on phagocytes, leading to immunocomplexemia and deposition of IC in patient's tissues. Furthermore, opposite to *FCGR2C* gene polymorphism in RA, 158FF variant of F158V polymorphism of *FCGR3A* gene in SLE may result in a decreased activity of NK cells, in comparison to healthy volunteers. In spite of the fact, that distinct polymorphisms of *FCGR* genes may determine different immune response in these diseases, the *FCGR* gene alleles' and genotypes' occurrence comparative analysis among RA and SLE did not reveal significant difference.