

**Gdański Uniwersytet Medyczny**

Katedra i Klinika Dermatologii, Wenerologii i Alergologii

Kierownik Kliniki: Prof. dr hab. med. Roman Nowicki

**Marta Stawczyk-Macieja**

**Analiza współwystępowania wybranych genów podatności  
na łuszczycę z allelem *HLA-Cw\*06***

ROZPRAWA DOKTORSKA

**Promotor: Dr hab. med. Aneta Szczerkowska-Dobosz**

**Gdańsk 2016**

*Składam serdeczne podziękowania  
mojemu Promotorowi Dr hab. med. Anecie Szczerkowskiej-Dobosz  
za opiekę naukową, wsparcie oraz zaangażowanie,  
dzięki którym możliwe było napisanie tej pracy*

*Wyrażam wdzięczność Dr hab. Krzysztofowi Rębale  
za pomoc i cenne uwagi przy tworzeniu pracy*

*Pracę tę poświęcam moim Rodzicom i Mężowi*



# Spis treści

## Objaśnienia skrótów i symboli używanych w tekście

1. Wstęp.....	8
1.1 Epidemiologia łuszczycy .....	8
1.2 Etiopatogeneza łuszczycy .....	9
1.2.1 Zaburzenia immunologiczne w łuszczycy.....	10
1.2.2 Rola czynników środowiskowych w patogenezie łuszczycy.....	12
1.2.3 Genetyczne uwarunkowanie łuszczycy.....	13
1.2.3.1 Rodzinne występowanie łuszczycy.....	14
1.2.3.2 Badania bliźniąt.....	14
1.2.3.3 Związek łuszczycy z antygenami zgodności tkankowej.....	15
1.2.3.4 <i>Loci</i> genowe związane z łuszczycą.....	15
1.2.3.5 <i>HLA-Cw*06</i> jako główny gen podatności na łuszczycę.....	17
1.2.3.6 Geny podatności na łuszczycę niezwiązane z regionem MHC (ang. <i>non-MHC associated proteins genes</i> ).....	20
1.2.3.7 Rola koperty rogowej oraz genów zaangażowanych w funkcjonowanie bariery naskórkowej w patogenezie łuszczycy.....	24
1.2.3.8 Rola genów związanych z nabytą odpowiedzią immunologiczną mediowaną przez limfocyty CD8+ w patogenezie łuszczycy.....	32
2. Założenia i cele pracy.....	36
3. Materiał i metody.....	38
3.1 Materiał badany.....	38
3.1.1 Populacja chorych.....	38
3.1.2 Populacja kontrolna.....	39
3.2 Metody badawcze.....	40
3.2.1 Kliniczna ocena chorych.....	40
3.2.2 Metody badań molekularnych.....	41
3.2.2.1 Izolacja DNA.....	41

3.2.2.2	Oznaczanie jakości DNA.....	42
3.2.2.3	Oznaczanie allelu <i>HLA-Cw*06</i> .....	42
3.2.2.4	Oznaczanie polimorfizmu <i>LCE3C_LCE3B-del</i> .....	45
3.2.2.5	Oznaczanie polimorfizmów <i>CSTA</i> .....	49
3.2.2.6	Oznaczanie polimorfizmów <i>ERAP1</i> .....	52
3.2.2.7	Oznaczanie polimorfizmów <i>ZAP70</i> .....	57
3.2.3	Metody statystyczne.....	61
4.	Wyniki .....	63
4.1	Częstość występowania <i>HLA-Cw*06</i> u chorych na łuszczycę.....	63
4.2	Częstość występowania <i>LCE3C_LCE3B-del</i> u chorych na łuszczycę .....	65
4.3	Częstość występowania alleli genu <i>CSTA</i> u chorych na łuszczycę.....	68
4.4	Częstość występowania alleli genu <i>ERAP1</i> u chorych na łuszczycę.....	71
4.5	Częstość występowania alleli genu <i>ZAP70</i> u chorych na łuszczycę.....	74
4.6	Korelacja wartości wskaźnika PASI z <i>HLA-C, LCE3C_LCE3B, CSTA, ERAP1, ZAP70</i> .....	77
4.7	Porównanie częstości <i>LCE3C_LCE3B, CSTA, ERAP1, ZAP70</i> u osób z allelem <i>HLA-Cw*06</i> między populacją chorych na łuszczycę a grupą kontrolną.....	79
4.8	Ryzyko względne oraz iloraz szans.....	81
4.9	Genetyczny wskaźnik ryzyka rozwoju łuszczycy.....	83
5.	Dyskusja.....	85
6.	Wnioski.....	98
7.	Streszczenie.....	99
8.	Summary.....	101
9.	Piśmiennictwo.....	103
10.	Spis tabel i rycin.....	125

## Objaśnienia skrótów i symboli używanych w tekście

**AFLP** - polimorfizm długości amplifikowanych fragmentów (*amplified fragment length polymorphism*)

**APC** – komórka prezentująca antygen (*antigen-presenting cell*)

**cGRS** – zsumowany genetyczny wskaźnik ryzyka (*counted genetic risk score*)

**CNV**- zmienność liczby kopii genów (*copy number variation*)

**Da** – dalton

**DNA** – kwas deoksyrybonukleinowy (*deoxyribonucleic acid*)

**dNTP** – trójfosforany dezoksynukleotydów (*deoxynucleotide triphosphate*)

**EDC** - kompleks różnicowania naskórka (*epidermal differentiation complex*)

**GRS** – genetyczny wskaźnik ryzyka (*genetic risk score*)

**GWAS** – badania asocjacyjne całego genomu (*genome wide association studies*)

**HLA** – ludzkie antygeny leukocytarne (*human leukocyte antigens*)

**kb** – tysiąc par zasad (*kilo base*)

**LCE** – późna koperta rogowa (*late cornified envelope*)

**l.d.** – niezrównoważenie sprzężeń (*linkage disequilibrium*)

**locus** – miejsce genu na chromosomie (*locus*)

**MgCl<sub>2</sub>** – chlorek magnezu (*magnesium chloride*)

**MHC** - główny układ zgodności tkankowej (*major histocompatibility complex*)

**mRNA** - matrycowy kwas rybonukleinowy (*messenger ribonucleic acid*)

**OR** – iloraz szans (*odds ratio*)

**PASI** – wskaźnik rozległości i ciężkości łuszczycy (*psoriasis area and severity index*)

**PCR** – reakcja łańcuchowa polimerazy (*polymerase chain reaction*)

**PCR-SSP** - metoda specyficznej sekwencji starterów (*sequence specific primers*)

**PPP** – krostkowica dłoni i stóp, łuszczyca krostkowa dłoni i stóp (*pustulosis palmo-plantaris*)

**PSORS** – *locus* podatności na łuszczycę (*Psoriasis Susceptibility Locus*)

**RFLP** - polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych (*restriction fragment length polymorphism*)

**RR** – ryzyko względne (*relative risk*)

**RT-PCR**- reakcja łańcuchowa polimerazy z odwrotną transkryptazą (*reverse transcriptase polymerase chain reaction*)

**SDS** – dodecylosiarczan sodu (*sodium dodecyl sulphate*)

**SNP** - polimorfizm pojedynczego nukleotydu (*single nucleotide polymorphism*)

**u** – jednostka (*unit*)

**wGRS** – ważony genetyczny wskaźnik ryzyka (*weighted genetic risk score*)

# 1. Wstęp

Łuszczyca (łac. *psoriasis vulgaris*) jest częstą, przewlekłą chorobą zapalną skóry. Schorzenie znane jest od setek lat, a pierwsze zapiski dotyczące leczenia łuszczycy zawarte w Papirusie Ebersa, powstały prawdopodobnie już w XV wieku p.n.e. [1]. W 1808 roku brytyjski dermatolog Robert Willan po raz pierwszy wyodrębnił łuszczycę jako jednostkę chorobową należącą do schorzeń grudkowo-złuszczających [2]. Pełnego opisu klinicznego łuszczycy pod nazwą *psoriasis* oraz oddzielenia tej dermatozy od trądu dokonał Ferdinand von Hebra w 1841 roku [3,4].

Przyczyna łuszczycy nie została jak dotąd w pełni poznana, jednak uważa się, że w indukowaniu procesu chorobowego istotną rolę odgrywa wzajemne oddziaływanie czynników genetycznych, immunologicznych oraz środowiskowych [5]. Wyjaśnienie związków pomiędzy poszczególnymi ścieżkami patogenetycznymi pozostaje nadal przedmiotem badań. W ostatnich latach udowodniono, iż mechanizmy odpowiedzialne za rozwój stanu zapalnego w przebiegu łuszczycy są wspólne z mechanizmami innych schorzeń systemowych o podłożu zapalnym, m.in. łuszczycowego zapalenia stawów, reumatoidalnego zapalenia stawów, nieswoistych zapaleń jelit, zespołu metabolicznego czy schorzeń układu sercowo-naczyniowego rozwijających się na podłożu miażdżycy [5].

Łuszczyca jako schorzenie przewlekłe i nieuleczalne oraz wiążące się z tym poczucie stygmatyzacji ma negatywny wpływ na jakość życia chorych, często prowadząc do zaburzeń depresyjnych [6].

## 1.1 Epidemiologia łuszczycy

Szacuje się, że łuszczyca występuje u 2% do 4% populacji krajów zachodnich [7,8]. Liczne badania epidemiologiczne potwierdzają istotny wpływ czynników etnicznych i rasowych na zróżnicowanie częstości występowania łuszczycy na świecie. Najwyższy odsetek zachorowań na tę dermatozę zaobserwowano dotychczas w populacji zamieszkującej część arktyczną Kazachstanu (11,8%), co istotnie kontrastuje z częstością występowania łuszczycy na poziomie od 0% do 0,3% w populacji Azjatów, Indian Ameryki Północnej i mieszkańców Afryki Zachodniej [9,10]. Kolejnym dowodem na wyraźny wpływ czynników



geograficznych i rasowych na epidemiologię łuszczycy jest niski odsetek występowania tego schorzenia (od 0,45% do 0,7%) w negroidalnej populacji Stanów Zjednoczonych w porównaniu z jej pozostałą częścią (od 1,4% do 4,6%) [11-13].

Łuszczycza występuje z równą częstością u obu płci [14]. Choroba może rozpocząć się w każdym wieku, niemniej jednak wyróżnia się dwa szczyty zachorowań, wyraźny przypadający na 30-39. r.ż. oraz mniejszy w 5-6 dekadzie życia, czego wyrazem jest podział schorzenia na typ wczesny (rozpoczynający się przed 40. r.ż.) oraz typ późny (rozpoczynający się po 40. r.ż.) [15-17].

## **1.2 Etiopatogeneza łuszczycy**

Badania dotyczące etiopatogenezy łuszczycy sięgają lat sześćdziesiątych ubiegłego wieku. Początkowo kluczową rolę w patogenezie łuszczycy przypisywano nieprawidłowościom w procesie różnicowania się i nadmiernej proliferacji keratynocytów, co klinicznie wyraża się tworzeniem blaszek łuszczycowych. Przyjmowano, że występowanie nacieków zapalnych w naskórku i skórze właściwej stanowiło zjawisko wtórne do zaburzeń keratynizacji. Współcześnie łuszczycę uznaje się za chorobę zapalną, mediowaną pierwotnie zaburzeniami immunologicznymi, występującymi u osób predysponowanych genetycznie pod wpływem działania określonych czynników środowiskowych. Hipotezę tę potwierdzają liczne obserwacje kliniczne, wyniki badań doświadczalnych oraz skuteczność leków immunomodulujących stosowanych w terapii łuszczycy.

Analizy genetyczne oraz badania z wykorzystaniem hodowli keratynocytów w ostatnich latach ponownie zwróciły uwagę badaczy na istotną rolę zaburzeń keratynizacji, a w szczególności nieprawidłowości w tworzeniu koperty rogowej i funkcjonowaniu bariery naskórkowej w patogenezie łuszczycy. Nowo odkryte polimorfizmy w obrębie genów-kandydatów biorących udział w tworzeniu koperty rogowej jak i zmiany w ekspresji poszczególnych genów kodujących białka kompleksu różnicowania naskórka dowodzą hipotetycznej roli genetycznie uwarunkowanych zaburzeń bariery naskórkowej w patogenezie łuszczycy.

Dyskusja nad znaczeniem poszczególnych zjawisk zaangażowanych w patomechanizmy łuszczycy nadal trwa. Konieczne są dalsze badania mogące wyjaśnić powiązania pomiędzy uwarunkowaniami genetycznymi, zaburzeniami w funkcjonowaniu

bariery naskórkowej oraz zaburzeniami w regulacji procesów dotyczących wrodzonej i nabytej odpowiedzi immunologicznej w przebiegu łuszczycy.

### 1.2.1 Zaburzenia immunologiczne w łuszczycy

Zgodnie z aktualnym stanem wiedzy, istotną rolę w patogenezie łuszczycy przypisuje się nieprawidłowościom w regulacji wrodzonej i nabytej odpowiedzi immunologicznej. Proces chorobowy mediowany jest za pośrednictwem aktywowanych w niekontrolowany sposób limfocytów T [18]. Hipotezę tę potwierdzono licznymi obserwacjami wykazującymi wysoką skuteczność cyklosporyny A w terapii łuszczycy [19,20]. Kolejny dowód stanowią badania wykazujące dominującą obecność limfocytów T w naciekach zapalnych skóry zmienionej chorobowo [21,22].

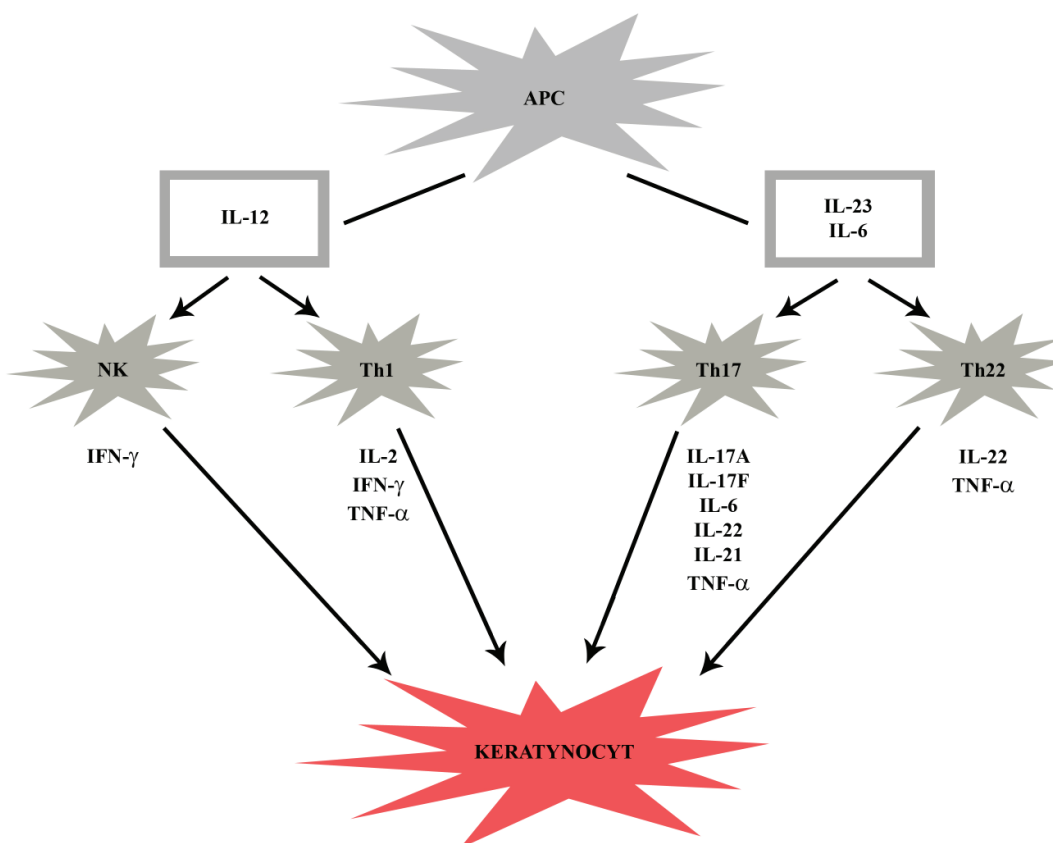
Inicjacja procesu zapalnego odbywa się poprzez prezentację za pośrednictwem cząsteczek głównego układu zgodności tkankowej (ang. *major histocompatibility complex*, MHC) nieznanego jak dotąd antygeny na komórkach prezentujących antygen (ang. *antigen-presenting cells*, APCs), do których należą m.in. komórki dendrytyczne (ang. *dendritic cells*, DC) i makrofagi. Pobudzone komórki APC migrują do regionalnych węzłów chłonnych, gdzie za pośrednictwem interleukiny 12 (IL-12) oraz kostymulatorów inicjują różnicowanie się limfocytów naiwnych w komórki Th1 (ang. *T helper*, limfocyt T pomocniczy) [23]. IL-12 bierze również udział w aktywacji komórek NK (ang. *natural killer*). Stymulacja limfocytów Th1 prowadzi do produkcji licznych cytokin prozapalnych takich jak: interleukina 2 (IL-2), interleukina 3 (IL-3), IL-12, czynnik martwicy nowotworu  $\alpha$  i  $\beta$  (ang. *tumor necrosis factor*, TNF- $\alpha$  i  $-\beta$ ), interferon  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) [24]. Nieprawidłowa odpowiedź limfocytów Th1 inicjuje nadmierną proliferację i aktywację keratynocytów, jak również migrację komórek T do naskórka.

Do niedawna uważano, że oś IL-12/Th1/IFN- $\alpha$  odgrywa kluczową rolę w patogenezie łuszczycy, jednak szeroko zakrojone badania nad nowo odkrytą ścieżką IL-23/Th17 udowodniły, że ma ona również istotne znaczenie w zaburzeniach immunologicznych w przebiegu łuszczycy. Interleukina 23 (IL-23) jest heterodimerem składającym się z dwóch podjednostek – p19, swoistej dla interleukiny oraz p40 identycznej z podjednostką obecną w IL-12. IL-23 wytwarzana jest głównie przez komórki dendrytyczne, makrofagi i keratynocyty [25]. Teunissen i wsp. wykazali wysoki poziom matrycowego kwasu rybonukleinowego (ang.

*messenger ribonucleic acid*, mRNA) IL-23 w obrębie ognisk łuszczycowych w porównaniu ze zdrową skórą [26]. Razem z interleukiną 6 (IL-6) odgrywa ona istotną rolę w różnicowaniu się limfocytów dziewiczych Th0 do linii limfocytów efektorowych Th17 [27]. IL-23 stymuluje komórki Th17 do produkcji szeregu cytokin prozapalnych, takich jak: interleukina 17A (IL-17A), interleukina 17F (IL-17F), interleukina 22 (IL-22), interleukina 21 (IL-21), IL-6 oraz TNF- $\alpha$ . IL-17A i IL-17F pobudzają keratynocyty do proliferacji i produkcji  $\beta$ -defensyn, peptydów przeciwdrobnoustrojowych (ang. *antimicrobial peptides*, AMPs) oraz chemokin – interleukiny 8 (IL-8), CCL2, CCL20, które prowadzą do migracji neutrofilów w miejsce stanu zapalnego [28]. Wiele doniesień naukowych potwierdza również istotne znaczenie komórek Th17 i interleukiny 17 (IL-17) w procesach autoimmunizacji [29].

Nowo poznana subpopulacja limfocytów pomocniczych biorących udział w patogenezie łuszczycy są limfocyty Th22. Komórki te pod wpływem TNF- $\alpha$ , IL-6 i chemokiny CCL20 produkują interleukinę 22 (IL-22), która podobnie jak IL-17 jest istotna dla prawidłowego funkcjonowania IL-23 [18,23]. Podwyższony poziom IL-22 prowadzi do hamowania końcowych etapów różnicowania keratynocytów i powstawania zjawiska akantozy w naskórku. Co więcej, interleukina ta bierze udział w regulacji ekspresji genów kodujących białka o działaniu przeciwdrobnoustrojowym [30].

Schemat odpowiedzi komórkowej zaangażowanej w patogenezę łuszczycy przedstawiono na rycinie 1.



**Rycina 1.** Odpowiedź komórkowa w łuszczycy [23,31]

**Figure 1.** Cellular immunity in psoriasis [23,31]

### 1.2.2 Rola czynników środowiskowych w patogenezie łuszczycy

Do czynników środowiskowych odgrywających istotną rolę w indukcji i/lub zaostrzeniu łuszczycy należą: stres psychiczny, uraz fizyczny, infekcje, otyłość, nikotynizm, spożywanie alkoholu oraz niektóre leki (beta-blokery, lit, niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ), leki antymalaryczne, inhibitory konwertazy angiotensyny (ACE-inhibitory), interferony, glikokortykosteroidy stosowane systemowo, imikwimod) [32-38]. Spośród czynników środowiskowych mogących wyzwać bądź zaostrzać proces łuszczycowy warto zwrócić uwagę na zjawisko Koebner'a, opisanie w 1876 roku jako objaw izomorficzny polegający na występowaniu nowych grudek i blaszek łuszczycowych w miejscu urazu fizycznego skóry [39]. Zjawisko Koebner'a obserwuje się średnio u 25% chorych z łuszczycą [40]. Okres pomiędzy zadziałaniem czynnika sprawczego a wysiewem ognisk chorobowych jest kwestią indywidualną i waha się od 3 do 14 dni [41]. Zaobserwowano częstsze

występowanie tego zjawiska u chorych z łuszczycą w sezonie zimowym oraz w okresach zaostrzenia schorzenia [42]. Dokładna patogeneza keratynizacji nie została jednak w pełni poznana. Zgodnie z aktualnym stanem wiedzy, zjawisko to uważa się za proces dwustopniowy polegający, w pierwszym etapie, na wytworzeniu nieswoistego stanu zapalnego, prowadzącego do produkcji cytokin prozapalnych, takich jak IL-23, czynnika wzrostu fibroblastów (ang. *fibroblast growth factor*, FGF), cząsteczek adhezyjnych oraz autoantygenów. Drugi etap obejmuje swoiste reakcje immunologiczne mediowane przez limfocyty T i B oraz autoprzeciwciała [43]. Interesującym odkryciem ostatnich lat, mogącym mieć znaczenie w patogenezie zjawiska Koebner'a są genetycznie uwarunkowane nieprawidłowości w funkcjonowaniu bariery naskórkowej. Utrata funkcji części genów, pod postacią wspólnej delecji w obrębie genów kodujących białka późnej koperty rogowej (ang. *late cornified envelope*, LCE) *LCE3B* i *LCE3C* (*LCE3C\_LCE3B-del*), może prowadzić do nieprawidłowości w funkcjonowaniu białek koperty rogowej i dysfunkcji procesów naprawczych w naskórku. W kontekście objawu Koebner'a, zjawisko to może wiązać się z łatwiejszą penetracją antygenów do naskórka oraz indukcją procesów zapalnych. Związku pomiędzy obecnością *LCE3C\_LCE3B-del* w populacji osób chorych na łuszczycę a występowaniem objawu Koebner'a nie potwierdziło jednak badanie przeprowadzone przez Bergboer i wsp. i z tego względu zagadnienie to wymaga dalszych analiz [44].

### 1.2.3 Genetyczne uwarunkowanie łuszczycy

Podłoże genetyczne odgrywa kluczową rolę w patogenezie łuszczycy. Cennymi badaniami potwierdzającymi dziedziczne uwarunkowanie tej dermatozy są badania rodzin chorych na łuszczycę, badania bliźniąt oraz analizy genetyczne, począwszy od wczesnych badań wykazujących związek łuszczycy z antygenami zgodności tkankowej, poprzez analizy sprzężeń (ang. *linkage analysis*), które pozwoliły na identyfikację regionów (*loci*) wysokiego ryzyka zachorowania na łuszczycę, kończąc na nowej erze badań molekularnych, jakimi są badania asocjacyjne całego genomu (ang. *genome wide association studies*, GWAS), których wyniki doprowadziły do wykrycia licznych polimorfizmów pojedynczego nukleotydu (ang. *single nucleotide polymorphism*, SNP) oraz zmienności liczby kopii genów (ang. *copy number variation*, CNV) o rzeczywistym, choć niewielkim udziale w predyspozycji do zachorowania na łuszczycę.

Zgodnie z aktualnym stanem wiedzy, łuszczycę zaliczana jest do chorób kompleksowych o wielogenowym i wieloczynnikowym modelu dziedziczenia. Kliniczne

ujawnienie się procesu chorobowego wynika z oddziaływań pomiędzy czynnikami genetycznymi i środowiskowymi oraz wzajemnej interakcji pomiędzy licznymi genami podatności na łuszczycę.

### **1.2.3.1 Rodzinne występowanie łuszczycy**

Wyniki licznych badań epidemiologicznych obejmujących rodziny osób chorych na łuszczycę stanowią potwierdzenie dziedzicznego charakteru schorzenia.

Ryzyko rozwoju tej dermatozy u rodzeństwa osoby chorej, gdy oboje rodziców cierpi na łuszczycę, wynosi około 50%. W przypadku gdy jedno bądź żadne z rodziców nie choruje wartości te wynoszą odpowiednio 16% i 8% [45]. Dodatni wywiad rodzinny obserwowany jest u 71% pacjentów z łuszczycą wczesną [46].

### **1.2.3.2 Badania bliźniąt**

Cennymi badaniami potwierdzającymi genetyczne uwarunkowanie łuszczycy są obserwacje bliźniąt, wykazujące znamienne wyższy współczynnik zgodności (ang. *concordance rate*) występowania tej choroby u bliźniąt monozygotycznych w porównaniu do bliźniąt dwuzygotycznych. Retrospektywne badanie przeprowadzone przez Fabera i wsp., którym objęto 61 par bliźniąt wykazało, iż częstość występowania łuszczycy w przypadku bliźniąt jednojajowych wynosi 65% w porównaniu z bliźniętami dwujajowymi (23%) [47]. Analizy przeprowadzone przez Duffy i wsp. w populacji australijskiej potwierdziły istotnie wyższy współczynnik zgodności występowania łuszczycy wśród bliźniąt jednojajowych (35%) w porównaniu z bliźniętami dwujajowymi (12%) [48].

Powyższe obserwacje stanowią niezbitą dowód na genetyczne uwarunkowanie łuszczycy, jednak fakt niepełnej zgodności jej występowania wśród bliźniąt monozygotycznych świadczy o wpływie innych niż genetyczne czynników na ujawnienie się schorzenia.

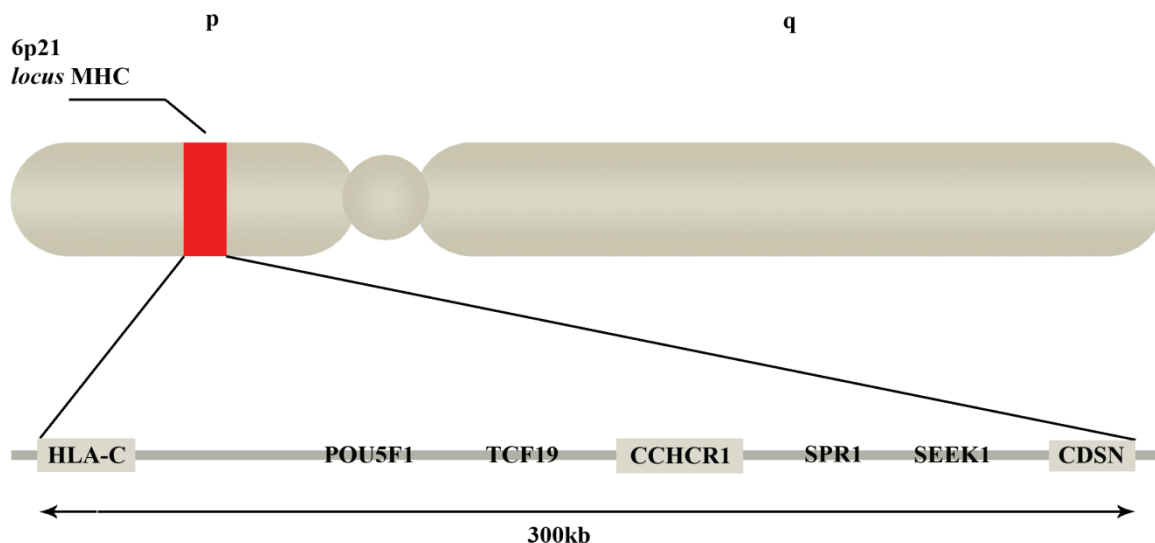
### 1.2.3.3 Związek łuszczycy z antygenami zgodności tkankowej

Pierwsze doniesienia dotyczące związku antygenów zgodności tkankowej (ang. *human leukocyte antigen*, HLA) z łuszczycą sięgają lat siedemdziesiątych XX wieku. Na podstawie dwóch niezależnych badań, Russell i White zaobserwowali częstsze występowanie antygenów HLA klasy I: HLA-B13 i –B57 w populacji osób chorych na łuszczycę [49,50]. W 1975 roku Sveygard i wsp. udowodnili silny związek łuszczycy z antygenami HLA kodowanymi przez geny zlokalizowane w obrębie *locus C* [51]. Obserwacje te zostały w kolejnych latach potwierdzone przez niezależne badania przeprowadzone w etnicznie i rasowo zróżnicowanych populacjach. Analizy te wykazały silną korelację między obecnością antygeny HLA-Cw6 z zachorowaniem na łuszczycę [52-54].

### 1.2.3.4 Loci genowe związane z łuszczycą

Badania obejmujące duże rodziny, w których wykorzystywano genetyczną analizę sprzężeń oraz badania GWAS doprowadziły do ujawnienia przeszło 46 *loci* wykazujących w sposób istotny związek z podatnością na łuszczycę [55,56].

Jak dotąd, najsilniejsze sprzężenie z łuszczycą wykazuje *locus* PSORS1 (ang. *psoriasis susceptibility locus 1*) [57-60]. Rejon ten obejmuje około 300 tysięcy par zasad (ang. *kilobase*, kb) zlokalizowanych w obrębie regionu MHC na chromosomie 6p21, od genu korneodesmozyiny (ang. *corneodesmosin*, *CDSN*) do *HLA-C* [61]. Lokalizację PSORS1 wraz z wybranymi genami zidentyfikowanymi w obrębie *locus* prezentuje rycina 2.



**Rycina 2.** Locus podatności na łuszczycę 1 (PSORS1). Zaznaczona lokalizacja wybranych genów PSORS1

**Figure 2.** Psoriasis susceptibility locus 1 (PSORS1). Position of some PSORS1 genes marked

Szacuje się, że geny zlokalizowane w obrębie PSORS1 odpowiadają za 35-50% predyspozycji genetycznej do rozwoju łuszczycy wczesnej w populacjach kaukazyjskich [62-64]. W obrębie opisywanego *locus* zidentyfikowano przynajmniej 10 genów, m.in. *HLA-C*, *HERV-K*, *HCG27*, *PSORSIC3*, *POU5F1*, *TCF19*, *CCHCR1* (*HCR*), *LMP*, *SEEK1* (*PSORSIC1*), *SPR1* (*PSORSIC2*), *STG* oraz *CDSN* [65]. Z uwagi na występowanie w regionie MHC zjawiska nielosowego sprzężania się alleli w haplotypach (ang. *linkage disequilibrium*, l.d.), wiele genów zidentyfikowanych w obrębie PSORS1 wykazuje korelację z łuszczycą. Wyniki niezależnych badań potwierdziły silny związek z łuszczycą dla *HLA-C*, *CCHCR1* oraz *CDSN* [66-68]. Pomimo że wszystkie trzy białka kodowane przez powyższe geny mają istotne znaczenie dla procesów biologicznych zaangażowanych w patogenezę łuszczycy, *HLA-C* uznaje się za główny gen podatności na łuszczycę [69].

*CCHCR1* (ang. *coiled-coil  $\alpha$ -helical rod 1*) koduje białko składające się z 757 aminokwasów, ulegające zwiększonej ekspresji w keratynocytach w obrębie ognisk łuszczycowych. Badanie przeprowadzone przez Asulamahti i wsp. wykazało, że wariant białka kodowany przez haplotyp *CCHCR1\*WWCC* może brać udział w zaburzeniach proliferacji i różnicowania keratynocytów, co stanowi istotny czynnik ryzyka dla rozwoju łuszczycy [63]. Wyniki badania O'Brien i wsp., wykazały natomiast, że asocjacja



polimorfizmów genetycznych *CCHCR1* z łuszczycą wynika ze zjawiska l.d. z *HLA-Cw\*0602* i z tego powodu białko kodowane przez *CCHCR1* nie może być w sposób bezpośredni zaangażowane w proces łuszczycowy [70].

*CDSN* koduje korneodesmozynę - glikoproteinę ulegającą ekspresji w warstwie ziarnistej naskórka w końcowej fazie keratynizacji, warunkując tym samym prawidłowe przyleganie keratynocytów. W warstwie rogowej naskórka pochodzącego ze zmian łuszczycowych zaobserwowano zwiększoną ilość produktu ekspresji *CDSN*, co może przemawiać za związkiem tego genu z zaburzeniami procesów złuszczenia w przebiegu łuszczycy [71]. *CDSN* cechuje ponadto wybitny polimorfizm. Z uwagi na występowanie zjawiska l.d. w obrębie *locus* PSORS1, prowadzącego do częstszego od przypadkowego dziedziczenia *CDSN* i *HLA-C* razem, istnieją pewne trudności w określeniu, który z genów stanowi główny gen podatności na łuszczycę [72]. Wątpliwości te zostały ostatecznie wyjaśnione dzięki opublikowanym w 2006 r. wynikom szeroko zakrojonych badań przeprowadzonych przez Nair i wsp. w populacji kaukazoidalnej. Na podstawie analiz rekombinowanych haplotypów zawierających wyłącznie *HLA-C* lub *CDSN*, stwierdzono, że *HLA-Cw\*06* stanowi główny allel podatności na łuszczycę w obrębie PSORS1 [69]. Obserwacje te zostały potwierdzone badaniami przeprowadzonymi w etnicznie zróżnicowanych populacjach [54,73-77].

### **1.2.3.5 *HLA-Cw\*06* jako główny gen podatności na łuszczycę**

Na początku lat dziewięćdziesiątych ubiegłego wieku rozpoczęto identyfikację *HLA-Cw6* na poziomie genu, co charakteryzowało się większą czułością i swoistością w porównaniu z metodami serologicznymi. Meta-analiza przeprowadzona w 2010 roku przez Wu i wsp. potwierdziła związek wariantu *HLA-Cw\*0602* ze zwiększonym ryzykiem rozwoju łuszczycy zarówno w populacji kaukazoidalnej jak i azjatyckiej [77]. Badanie Gudjonsson'a i wsp. wykazało ponadto, że u pacjentów homozygotycznych pod kątem obecności allelu *HLA-Cw\*0602* stwierdza się 2,5-krotnie większe ryzyko zachorowania na łuszczycę w porównaniu do osób heterozygotycznych [78].

Częstość występowania allelu *HLA-Cw\*06* różni się w zależności od szerokości geograficznej. W populacjach osób chorych na łuszczycę rasy kaukazoidalnej częstość ta waha się w przedziale od 36,3% (populacja grecka) do 87% (populacja duńska), podczas gdy w populacji generalnej nie przekracza 10-15% [12,51,79]. Badanie przeprowadzone przez Szczerkowską-Dobosz i wsp. w populacji polskiej osób chorych na łuszczycę wykazało

częstość występowania *HLA-Cw\*06* na poziomie 47,8% [80]. Genotyp *HLA-Cw\*06* stwierdza się najrzadziej wśród rasy azjatyckiej [81,82].

*HLA-Cw\*06* stanowi jedyny wariant genetyczny wpływający na fenotyp łuszczycy. Wiele niezależnych badań potwierdziło związek allelu z wczesnym początkiem schorzenia [54,75,76,78,83,84]. W 1985 roku Hensler i Christophers wyodrębnili dwa typy łuszczycy – typ I (Cw6-dodatni) z początkiem zachorowania przed 40 rokiem życia oraz typ II (Cw6-ujemny) z początkiem choroby po 40 roku życia. Badacze zaobserwowali ponadto, że w grupie pacjentów z wczesnym wiekiem zachorowania częściej stwierdza się dodatni wywiad rodzinny w kierunku łuszczycy, cięższy przebieg kliniczny schorzenia, częstsze nawroty oraz wyraźną korelację z obecnością antygenu HLA-Cw6 [17]. Potwierdzeniem wpływu *HLA-Cw\*06* na obraz kliniczny łuszczycy stanowi szeroko zakrojone badanie przeprowadzone przez Gudjonsson i wsp., którym objęto 1019 osób chorych na łuszczycę i stwierdzono istotny związek pomiędzy obecnością allelu *HLA-Cw\*06* a wcześniejszym wiekiem zachorowania, cięższym przebiegiem klinicznym schorzenia, większą tendencją do występowania wysiewnej postaci schorzenia oraz dodatniego objawu Koebnera, a także częstszymi remisjami klinicznymi w grupie kobiet ciężarnych chorujących na łuszczycę w porównaniu do osób *HLA-Cw\*06*-ujemnych. Dodatkowo badacze zaobserwowali, że w grupie chorych *HLA-Cw\*06*-dodatnich częściej stwierdzano łuszczycę paznokci oraz zapalenie stawów [75]. Podobne wyniki uzyskano w badaniu przeprowadzonym przez Fan X. i wsp. w populacji chińskiej. Wyniki analiz, którymi objęto grupę 679 chorych na łuszczycę potwierdziły związek obecności *HLA-Cw\*0602* z wcześniejszym wiekiem zachorowania, cięższym przebiegiem schorzenia, większą tendencją do występowania wysiewnych postaci łuszczycy, dodatnim objawem Koebnera oraz częstszym występowaniem zmian skórnych w obrębie tułowia i kończyn dolnych [85].

Asocjację *HLA-Cw\*06* z łuszczycą wykazano również w populacjach Polski północnej i południowej. Łuszczek i wsp. dokonując analizy w grupie 102 pacjentów z łuszczycą wykazali czterokrotnie większą częstość występowania genotypu *HLA-Cw\*06* wśród chorych będących w przedziale wiekowym od 0 do 20 lat w porównaniu z grupą wszystkich chorych oraz osiemdziesiąt razy częstsze występowanie *Cw\*06* w grupie pacjentów z łuszczycą w porównaniu z populacją kontrolną [86]. Szczerkowska-Dobosz i wsp. w badaniu obejmującym populację 50 chorych z przewlekłą łuszczycą plackowatą i 28 chorych z postacią wysiewną łuszczycy udowodnili niemal sześciokrotnie częstsze występowanie allelu *HLA-Cw\*06* w grupie chorych z początkiem schorzenia przed 40 rokiem życia i pozytywnym wywiadem rodzinnym w porównaniu do grupy kontrolnej [76]. W

kolejnej analizie klinicznej dotyczącej chorych z tego samego regionu Polski, w populacji 383 pacjentów z odmianą plackowatą łuszczycy stwierdzono, że *HLA-Cw\*06* nie jest allelem ryzyka schorzenia rozpoczynającego się powyżej 44 roku życia. Dodatkowo, w grupie 30 chorych z rozpoznaną odmianą krostkową łuszczycy dłoni i stóp (*pustulosis palmo-plantaris*, PPP) nie wykazano częstszego występowania *HLA-Cw\*06*, natomiast znamiennej korelację z występowaniem tego genotypu stwierdzono w grupie 25 chorych z postacią kropelkową schorzenia [87]. Istotną asocjację genotypu *HLA-Cw\*06* z fenotypem łuszczycy udowodniono w odniesieniu do odmiany drobnogrudek schorzenia, poprzedzonej infekcją górnych dróg oddechowych, wywołaną paciorkowcami  $\beta$ -hemolizującymi grupy A. Sugeruje się, że udział cząsteczek Cw6 w patogenezie łuszczycy może polegać na zjawisku mimikry molekularnej, bądź pośredniczeniu w prezentacji egzogennych lub endogennych epitopów limfocytom T [78,88]. Związek obecności allelu *HLA-Cw\*06* z odmianą kropelkową łuszczycy wykazano również w populacji chorych pochodzących z Polski północnej [89].

Pomimo licznych badań potwierdzających związek występowania allelu *HLA-Cw\*06* ze zwiększoną predyspozycją do rozwoju łuszczycy, znaczenie tej asocjacji na poziomie molekularnym nie zostało jak dotąd w pełni poznane. Główna hipoteza tłumacząca udział Cw6 w patogenezie łuszczycy opiera się na zjawisku zdolności tej cząsteczki do prezentacji antygenów limfocytom CD8+, dominujących w zmianach łuszczycowych. Prezentowane antygeny wykazują reakcje krzyżowe z podobnymi do siebie antygenami keratyny 17, zawartej w naskórku [79]. Zjawisko mimikry molekularnej wydaje się odgrywać szczególną rolę w odmianie kropelkowej łuszczycy, w której reakcje krzyżowe mogą zachodzić pomiędzy powierzchniowym białkiem M paciorkowców  $\beta$ -hemolizujących grupy A, pełniącym rolę superantygeny, a keratyną 17 [90]. Kolejnym sugerowanym białkiem mogącym aktywować limfocyty T za pośrednictwem naskórkowych makrofagów CD68+ w przebiegu łuszczycy jest peptydoglikan (ang. *peptidoglycan*, PG) stanowiący główny składnik paciorkowcowych ścian komórkowych [91].

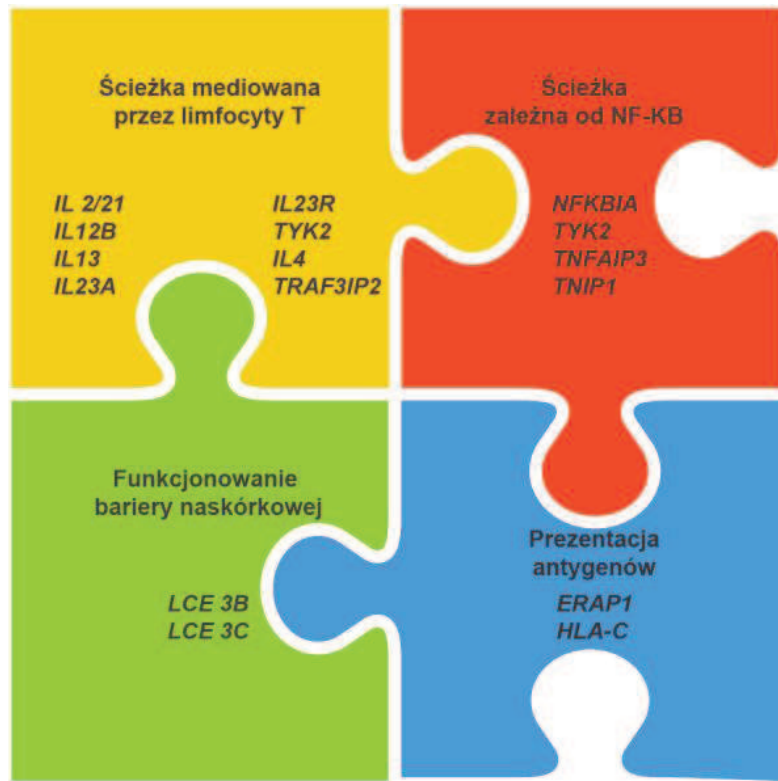
Inną sugerowaną przez badaczy funkcją HLA-Cw6 jest udział w regulacji naturalnych komórek cytotoksycznych za pośrednictwem immunoglobulinopodobnych receptorów (ang. *killer immunoglobulin – like receptor*, KIR), kodowanych przez geny *KIR* zlokalizowanych w obrębie chromosomu 19. Cząsteczka Cw6 wiąże się z receptorami KIR2DL1 i KIR2DS1. Udowodniono związek genu dla KIR2DS1 z łuszczycą i łuszczycowym zapaleniem stawów [92,93]. Cząsteczki będące ligandami dla receptorów KIR mogą stymulować bądź hamować komórki NK, stanowiące ważny element łączący wrodzoną i nabytą odpowiedź immunologiczną.

Pomimo że PSORS1 powszechnie uznaje się za główne *locus* podatności na łuszczycę, region ten odpowiada za mniej niż 50% predyspozycji genetycznej do rozwoju łuszczycy wczesnej w populacjach kaukazyjskich. Świadczy to o obecności innych *loci*/genów spoza regionu MHC, które mogą wiązać się ze zwiększonym ryzykiem rozwoju łuszczycy. Dodatkowo, penetracja genów zidentyfikowanych w obrębie PSORS1 szacowana jest na poziomie 10-15%, co może stanowić dowód na istnienie zjawiska epistazy (interakcji) pomiędzy genami spoza regionu MHC, a zlokalizowanymi w obrębie PSORS1.

#### **1.2.3.6 Geny podatności na łuszczycę niezwiązane z regionem MHC (ang. *non-MHC associated genes*)**

Badania GWAS stanowią najnowszy kierunek analiz genetycznych ostatniej dekady. Ich przydatność jest szczególnie duża w odniesieniu do badań dotyczących chorób o podłożu wielogenowym, jak łuszczycy, w których pojedyncze geny mają niewielki wpływ na fenotyp. Kluczowym założeniem GWAS jest genotypowanie setek tysięcy polimorfizmów, zidentyfikowanych w ramach międzynarodowego projektu HapMap (ang. *International HapMap Project*) w obrębie dużych populacji oraz analiza związku pomiędzy występowaniem określonej cechy klinicznej a polimorfizmami typu SNP lub CNV rozmieszczonymi w genomie. Technika GWAS umożliwia odnalezienie markerów genetycznych badanej cechy poprzez wykazanie istotnych statystycznie różnic w częstościach występowania ich polimorficznych wariantów w genomach dwóch grup różniących się pod względem danej cechy.

Przeprowadzone w ostatnich latach badania GWAS doprowadziły do ujawnienia ponad czterdziestu genów-kandydatów mogących odgrywać rolę w patogenezie łuszczycy i łuszczycowego zapalenia stawów. Do odkrytych dotychczas markerów genowych zaliczamy liczne polimorfizmy genetyczne związane z funkcjonowaniem bariery naskórkowej (*LCE3B*, *LCE3C*), ścieżką immunologiczną mediowaną przez IL-12/IL-23 (*IL12B*, *IL23A*, *IL23R*, *TRAF3IP2*, *TYK2*), sygnalizowaniem zależnym od *NF-κB* i IFN (*TNFAIP3*, *TNIP1*, *NFKBIA*, *REL*, *TYK2*, *IFIH1*, *IL28RA*), ścieżką immunologiczną Th2-zależną (*IL4*, *IL13*) oraz nabytą odpowiedzią immunologiczną mediowaną przez limfocyty CD8+ (*ERAP1*, *ZAP70*) [95,96] (Rycina 3). W tabeli I przedstawiono geny zaangażowane w ścieżki patogenetyczne w łuszczycy.



**Rycina 3.** Geny zaangażowane w ścieżki patogenetyczne w łuszczycy [94,95]

**Figure 3.** Genes involved in pathogenic pathways in psoriasis [94,95]

<b>Gen/locus</b>	<b>Opis</b>	<b>Lokalizacja</b>	<b>Biologiczna funkcja</b>	<b>Piśmiennictwo</b>
<i>LCE3B</i> i <i>LCE3C</i>	Późna koperta rogowa 3B i 3C	1q21.3	Funkcjonowanie bariery naskórkowej	[55,96-102]
<i>IL-23R</i>	Podjednostka receptora IL-23	1p31.3	Odporność nabyta; dojrzewanie limfocytów T	[103]
<i>IL-12B</i>	Podjednostka p40 dla IL-12/IL-23	5q31.1-q33.1	Odporność nabyta; dojrzewanie limfocytów T	[104]
<i>TRAF3IP2</i>	Białko 2 wchodzące w interakcję z TRAF3	6q21	Regulacja odporności nabytej	[55,105,106]
<i>IL-23A</i>	Łańcuch $\alpha$ podjednostki p19 dla IL-23	12q13.3	Odporność nabyta, oś Th-17-zależna	[55,97]
<i>TYK2</i>	Kinaza tyrozynowa 2	19p13.2	Odporność wrodzona, ścieżka mediowana IL12/IL-23, sygnalizowanie zależne od <i>NF-<math>\kappa</math>B</i> i	[55]
<i>IFIH1</i>	Domena 1 helikazy C indukująca IFN	2q24	Odporność wrodzona, sygnalizowanie zależne od <i>NF-<math>\kappa</math>B</i> i IFN	[55,107]

**Tabela 1.** Geny podatności na łuszczycę oraz ich biologiczna funkcja  
**Table 1.** Psoriasis susceptibility genes and their biological function

<b>Gen/locus</b>	<b>Opis</b>	<b>Lokalizacja</b>	<b>Biologiczna funkcja</b>	<b>Piśmiennictwo</b>
<i>REL</i>	Czynnik transkrypcyjny należący do rodziny Rel/NF-κB	2p13	Odporność wrodzona, sygnalizowanie zależne od NF-κB i IFN	[55]
<i>TNIP1</i>	Białko 1 wchodzące w interakcję z TNFAIP3	5q32-q33.1	Odporność wrodzona, sygnalizowanie zależne od NF-κB	[55,97,100,108]
<i>TNFAIP3</i>	Białko 3 indukowane TNFα	6q23.3	Odporność wrodzona, hamowanie sygnalizowania zależnego od NF-κB	[98,101,110]
<i>IL-28RA</i>	Podjednostka α receptora dla IL-28	1p36.11	Odporność wrodzona, receptor dla IL-28A, IL-28B, IL-29	[55]
<i>NFKBIA</i>	Białko I-kappa-B	14q13.2	Hamowanie sygnalizowania zależnego od NF-κB	[55,105,109]
<i>IL-4, IL-13</i>	IL-4, IL-13	5q31.1	Odporność nabyta, regulacja odpowiedzi Th2-zależnej	[55,97,108,110]
<i>ERAP1</i>	Aminopeptydaza retikulum endoplazmatycznego 1	5q15	Obróbka antygenów prezentowanych w kontekście MHC klasy I	[55,98,108]
<i>ZAP70</i>	Niereceptorowa kinaza tyrozynowa	2q11	Aktywacja limfocytów CD8+	[55]

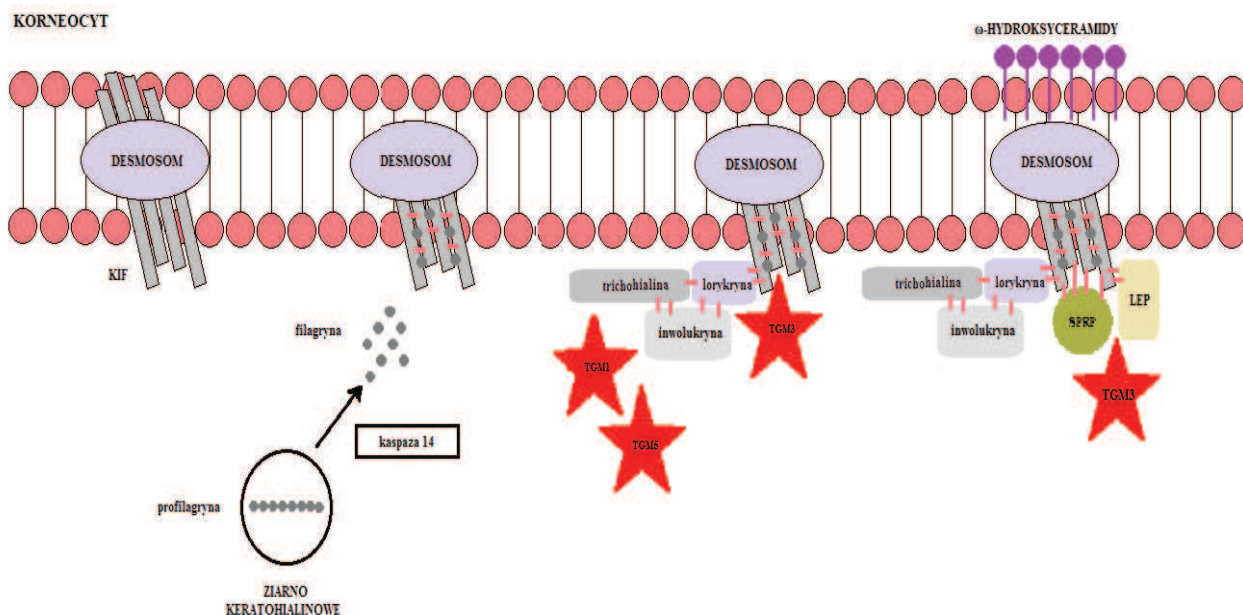
**Tabela I.** Geny podatności na łuszczycę oraz ich biologiczna funkcja  
**Table I.** Psoriasis susceptibility genes and their biological function



### 1.2.3.7 Rola koperty rogowej oraz genów zaangażowanych w funkcjonowanie bariery naskórkowej w patogenezie łuszczycy

Poszczególne etapy różnicowania się keratynocytów charakteryzują się ekspresją genów kodujących specyficzne białka powierzchniowe. W końcowej fazie keratynizacji, w obrębie keratynocytów dochodzi do wytworzenia wysoko wyspecjalizowanej nierozpuszczalnej struktury białkowo-lipidowej nazywanej kopertą rogową (ang. *cornified envelope*, CE). Na poziomie molekularnym, za pośrednictwem procesów katalizowanych przez transglutaminazy (ang. *transglutaminases*, TGs) TG1, TG3 i TG5 powstają stabilne wiązania krzyżowe pomiędzy łańcuchami peptydowymi [111]. W początkowym etapie, tworzenie cytoszkieletu opiera się na łączeniu pośrednich filamentów keratynowych (ang. *Keratin Intermediate Filaments*, KIFs) z filagryną (FLG). W późniejszych fazach transglutaminazy katalizują procesy przyłączania inwolukryny (IVL), lorykryny (LOR), trichohialiny (TCHH), białek bogatych w prolinę (ang. *small proline-rich proteins*, SPRPs) oraz ostatnio odkrytej rodziny białek późnej koperty rogowej (ang. *late envelope proteins*, LEPs) i białek z rodziny S100 (ang. *S100 proteins*) [111-114]. W końcowym etapie keratynizacji następuje przyłączenie lipidów, m.in. ceramidów do białkowej struktury koperty rogowej. Schemat poszczególnych etapów tworzenia koperty rogowej przedstawiono na rycinie 4.





**Rycina 4.** Uproszczony schemat tworzenia koperty rogowej [111,115]

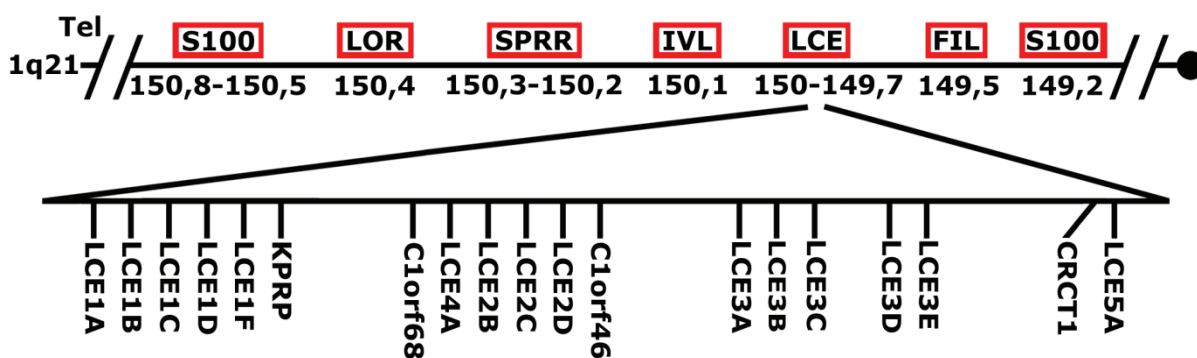
**Figure 4.** Simplified scheme of a cornified envelope formation [111,115]

Rola koperty rogowej jest kluczowa dla prawidłowego funkcjonowania bariery naskórkowej. Liczne badania eksperymentalne potwierdzają wpływ uszkodzeń naskórka na ekspresję genów kodujących poszczególne białka wchodzące w skład koperty rogowej. Świadczą o tym analizy przeprowadzone w populacji osób zdrowych, u których gwałtowne zerwanie taśmy klejącej przytwierdzonej do skóry bądź aplikacja dodecylosiarczanu sodu (ang. *sodium dodecyl sulfate*, SDS) na skórę, stymulowały ekspresję białek FLG i IVL jak również powodowały zwiększony poziom mRNA *FLG*, *IVL*, *TGMI* oraz genów kodujących enzymy zaangażowane w procesy metaboliczne lipidów w obrębie naskórka [116-118]. Podobnie zaprojektowane badanie przeprowadzone przez Koning i wsp. jednak w populacjach osób chorych na łuszczycę i atopowe zapalenie skóry, wykazało obniżenie ekspresji na poziomie białek jak i mRNA *LCE5A*, *LCE2B*, *FLG*, *FLG2* i *LOR* oraz zwiększenie ekspresji *IVL*, *SPRP1*, *SPRP2*, *HRNR*, *LCE3A*, *TGMI*, *TGM3* i *TGM5* w pozornie niezmienionej skórze pod wpływem gwałtownego zerwania taśmy klejącej przytwierdzonej do skóry jak i aplikacji SDS na skórę [119].

Wszelkie nieprawidłowości w ekspresji genów kodujących białka, które wchodzą w

skład koperty, bądź uczestniczą w katalizowaniu procesów enzymatycznych, mogą skutkować zaburzeniami na poszczególnych etapach różnicowania się keratynocytów oraz ostatecznie doprowadzić do dysfunkcji bariery naskórkowej. Przeprowadzone w ostatnich latach badania GWAS skupiają się nad rolą poszczególnych genów-kandydatów zaangażowanych w procesy tworzenia koperty rogowej w patogenezie łuszczycy zwyczajnej.

Kompleks różnicowania naskórka (ang. *epidermal differentiation complex*, EDC), zlokalizowany w obrębie PSORS4 na chromosomie 1q21, zawiera geny ulegające ekspresji na poszczególnych etapach keratynizacji. Lokalizację genów wchodzących w skład EDC w obrębie *locus* PSORS4 zaprezentowano na rycinie 5.



**Rycina 5.** Geny kompleksu różnicowania naskórka

**Figure 5.** *Epidermal differentiation complex genes*

Jak dotąd, odkryto 45 genów wchodzących w skład EDC. Białka, będące produktami ekspresji genów należących do kompleksu zostały podzielone na trzy rodziny: grupa białek prekursorowych koperty rogowej, tj. LOR, IVL, SPRR, LEP, grupa białek wiążących filamenty keratynowe, tj. FLG, TCHH, filagryna 2 (FLG2), repetyna (RPTN), horneryna (HRNR), kornulina (CRNN) oraz grupa białek S100 wiążących jony wapnia [120-122].

Badania nad rolą genetycznie uwarunkowanych nieprawidłowości bariery naskórkowej w patogenezie atopowego zapalenia skóry, doprowadziły do odkrycia dwóch niezależnych mutacji typu *null* (R510X oraz 2282del4) w genie *FLG* w populacjach osób chorych na atopowe zapalenie skóry [123]. Odkrycie to zrewolucjonizowało dotychczasowe poglądy na temat tej dermatozy jako schorzenia mediowanego głównie zaburzeniami w

odpowiedzi immunologicznej. Ze względu na bliską lokalizację genu *FLG* w stosunku do *locus* PSORS4, rozpoczęto poszukiwania związku mutacji typu utraty funkcji - R510X oraz 2282del4 w genie *FLG* w populacjach osób chorych na łuszczycę. W badanych populacjach niemieckiej i duńskiej wyniki analiz genetycznych nie wykazały istotnej asocjacji *FLG* z ryzykiem rozwoju łuszczycy [124,125]. Odmiennie wyniki uzyskali Kim i wsp. Badacze wykazali związek łuszczycy z obniżoną ekspresją genów kodujących *FLG* i *LOR*. Za pomocą techniki RT-PCR (ang. *reverse transcriptase-PCR*) przeanalizowano 9 wycinków skórnych pobranych zarówno z ognisk łuszczycowych, jak i skóry pozornie niezmienionej w grupie osób chorych na łuszczycę. Udowodniono obniżoną ekspresję genów *FLG* oraz *LOR*, co dodatkowo zostało potwierdzone barwieniem immunohistochemicznym w kierunku kodowanych przez nie białek w wycinkach skórnych [126]. Obniżoną ekspresję *LOR* oraz jej istotny związek z ryzykiem rozwoju łuszczycy wykazano również w analizie przeprowadzonej przez Giardina i wsp. [127]. Z kolei Chen i wsp. udowodnili znamiennej asocjacje SNP sprzężonego z genem *IVL* z podatnością na wczesną postać łuszczycy w populacji chińskiej [122]. Dalsze analizy *in vitro* w badaniu Kim i wsp. wykazały również istotny udział cytokiny TNF- $\alpha$  w procesie regulacji za pośrednictwem ścieżki zależnej od N-terminalnej kinazy białka C-Jun prowadzącej do obniżenia ekspresji genów *FLG* i *LOR* [126]. Podobnie jak w przypadku TNF- $\alpha$ , cytokiny Th2-zależne regulują procesy ekspresji genów kodujących białka kompleksu różnicowania naskórka, jednak prawdopodobnie zjawisko to związane jest z odmiennym mechanizmem sygnałowym. W odniesieniu do genów *FLG*, *LOR*, *IVL* udowodniono związek z obniżeniem ich ekspresji przy udziale cytokin Th2-zależnych, w populacji osób z atopowym zapaleniem skóry oraz niezależnie w populacji osób chorych na łuszczycę [126,128,129]. Powyższe doniesienia potwierdzają, że geny bariery naskórkowej nie są genami konstytutywnymi, a ich ekspresja podlega regulacji przez m.in. czynniki immunologiczne, co przemawia za złożonością zjawisk patogenetycznych w przebiegu łuszczycy.

Rodzina białek S100 obejmuje około 25 przedstawicieli. Białka te wchodzi w skład koperty rogowej i charakteryzują się niską masą cząsteczkową (9-13 kDa), a ich rola polega na aktywacji wrodzonej odpowiedzi immunologicznej za pośrednictwem stymulacji produkcji cytokin prozapalnych, m.in. TNF- $\alpha$ . Dodatkowo, białka S100A7 (psoriazyna), S100A8 (kalgranulina A), S100A9 (kalgranulina B) i S100A15 (koebneryzyna) posiadają właściwości peptydów antydrobnoustrojowych (ang. *antimicrobial peptides*, AMPs) [130-134]. Zaobserwowano zwiększoną ekspresję *S100A7*, *S100A8*, *S100A9*, *S100A12* oraz *S100A15* w ogniskach chorobowych osób chorych na łuszczycę [135-138]. W badaniu przeprowadzonym

przez Wolf i wsp. wykazano, że zwiększona ekspresja *S100A7* oraz *S100A15* w skórze myszy wiąże się z indukcją procesów zapalnych prowadzących do rozwoju cech histologicznych charakterystycznych dla skóry pozornie niezmięnionej u osoby chorej na łuszczycę [139]. *S100A7* i *S100A15* są stymulowane przez cytokiny wytwarzane na drodze Th-1, Th-17 i Th-22 zależnej, co znacząco wpływa na tworzenie stanu zapalnego w zmianach łuszczycowych [139,140]. Białka te pobudzają keratynocyty do produkcji cytokin prozapalnych takich jak: TNF- $\alpha$ , IL-6 i IL-8, co również przemawia za istotną rolę *S100A7* i *S100A15* w patogenezie łuszczycy [140]. Przypuszcza się, że *S100A8* i *S100A9* mogą działać w dwojaki sposób. Białka wydzielane do przestrzeni zewnątrzkomórkowej prawdopodobnie stymulują nadmierną proliferację i nieprawidłowe różnicowanie keratynocytów, podczas gdy formy wewnątrzkomórkowe *S100A8* i *S100A9* hamują aktywność mitotyczną keratynocytów [141]. *S100A12* również wykazuje zwiększoną ekspresję w zmianach łuszczycowych, jednak jego rola w patogenezie schorzenia nie została jak dotąd w pełni poznana [138].

W ostatnim czasie szczególną uwagę badaczy zwraca rodzina genów kodujących białka późnej koperty rogowej (ang. *late cornified envelope*, LCE) obejmująca 18 przedstawicieli pogrupowanych w sześć podrodzin *LCE 1-6* [121]. Klaster genów *LCE* zlokalizowany jest obrębie *locus* PSORS4 na chromosomie 1q21.3 i wchodzi w skład kompleksu *EDC*. Białka późnej koperty rogowej biorą udział w terminalnym etapie różnicowania keratynocytów [142]. Badanie przeprowadzone przez Jackson i wsp. dowodzi zróżnicowanej ekspresji tkankowej poszczególnych podgrup omawianych genów. Rodzina *LCE1* i *LCE2* ulega ekspresji głównie w obrębie skóry, z kolei ekspresja grupy *LCE3* jest niewykrywalna bądź wykrywalna w niskim stopniu w obrębie komórek epitelialnych [121]. W odniesieniu do badań nad związkiem *LCE* z łuszczycą interesujące wyniki dotyczą wspólnej delecji w obrębie *LCE3B* i *LCE3C* (*LCE3C\_LCE3B-del*). W pionierskim badaniu przeprowadzonym przez de Cid i wsp. w 2009 r. w populacjach: holenderskiej, włoskiej i hiszpańskiej wykazano zmienną liczbę kopii genów związaną w sposób istotny z rodziną *LCE* u osób chorych na łuszczycę. Dalsze analizy doprowadziły do odkrycia wspólnej delecji genów *LCE3C-LCE3B* liczącej 32,2 kb, której częstość występowania istotnie korelowała z ryzykiem rozwoju łuszczycy [96]. Powtarzalne wyniki uzyskano w kolejnych badaniach przeprowadzonych w etnicznie zróżnicowanych populacjach – europejskiej, chińskiej oraz mongolskiej [102,143,144]. Co więcej, w badaniu obejmującym populację chińską odkryto polimorfizmy SNP pozostające w sprzężeniu z *LCE3C\_LCE3B-del* u osób chorych na łuszczycę [98]. Dodatkowe potwierdzenie tych wyników stanowią rezultaty meta-analizy Riveira-Munoz i wsp., którą objęto 9389 chorych na łuszczycę oraz 9477 osób w grupie

kontrolnej z różnych populacji pochodzenia europejskiego i azjatyckiego. Analizy genetyczne wykazały znamienne częstsze występowanie osób homozygotycznych pod kątem obecności *LCE3C\_LCE3B-del* w grupie badanej pochodzenia europejskiego w porównaniu z grupą kontrolną [145]. Podobne wyniki uzyskali Coto i wsp. w populacji osób chorych na łuszczycę z rejonu Hiszpanii północnej. Badacze odkryli częstsze występowanie homozygot *LCE3C\_LCE3B-del* w grupie osób z przewlekłą łuszczycą plackowatą. Częstość tego genotypu u chorych z łuszczycowym zapaleniem stawów nie różniła się od częstości w grupie kontrolnej. Na podstawie uzyskanych wyników autorzy wysnuli wniosek, że genotyp ten stanowi marker ryzyka dla rozwoju wyłącznie zmian skórnych [146]. Związku częstszego występowania *LCE3C\_LCE3B-del* w grupie chorych z łuszczycowym zapaleniem stawów nie wykazano również w populacji niemieckiej [147]. Z drugiej strony, odmienne wyniki świadczące o korelacji *LCE3C\_LCE3B-del* z ryzykiem rozwoju łuszczycowego zapalenia stawów uzyskali Decompo i wsp. w populacjach włoskiej i hiszpańskiej [148]. W obserwacjach dotyczących związku genotypu *LCE3C\_LCE3B-del* z fenotypem łuszczycy, Xu i wsp. oraz Bergboer i wsp. niezależnie udowodnili częstsze występowanie delecji w populacji chorych z wczesnym początkiem zachorowania na łuszczycę [102, 149]. W badaniu nad asocjacją genetycznych markerów podatności na łuszczycę z odpowiedzią na leczenie biologiczne, wykazano większą skuteczność terapii ustekinumabem w grupie osób chorych *HLA-Cw\*06*-dodatnich. Takiego związku nie wykazano w odniesieniu do polimorfizmów *LCE3B* i *LCE3C* [150].

Związek delecji w obrębie *LCE3B* i *LCE3C* ze zwiększonym ryzykiem zachorowania udowodniono także dla innych schorzeń o podłożu immunologicznym, takich jak reumatoidalne zapalenie stawów (w populacji hiszpańskiej i chińskiej) oraz toczeń rumieniowaty układowy (w populacji chińskiej) [151,152]. Z uwagi na rewolucyjne odkrycie, świadczące o kluczowej roli mutacji w genie filagryny w patogenezie atopowego zapalenia skóry, rozpoczęto poszukiwania innych polimorfizmów genów wchodzących w skład *EDC*, mogących wiązać się z zaburzeniami funkcjonowania bariery naskórkowej w przebiegu atopowego zapalenia skóry. Szeroko zakrojone badanie przeprowadzone przez Bergboer i wsp. nie potwierdziło jednak asocjacji *LCE3C\_LCE3B-del* z podatnością na atopowe zapalenie skóry, jak i astmę oskrzelową w grupie osób chorych [153].

Rola *LCE3C\_LCE3B-del* w patogenezie łuszczycy nie jest w pełni poznana. Co ciekawe, częstość jej występowania w całej populacji jest wysoka i sięga około 60-70% [147]. W badaniu przeprowadzonym przez Bassaganyas i wsp., którym objęto 13 grup populacyjnych pochodzących ze zbiorów *HapMap* oraz *Human Genome Diversity Panel*,

podjęto próbę scharakteryzowania różnic populacyjnych w występowaniu *LCE3C\_LCE3B-del*. Analizy wykazały częstsze nosicielstwo delekcji w postaci heterozygotycznej w populacji ogólnej. Porównanie częstości występowania genotypu *LCE3C\_LCE3B-del* w populacjach pochodzących z różnych rejonów geograficznych przedstawia tabela II [154].

Rejon geograficzny	Populacja	Częstość występowania allelu <i>LCE3C_LCE3B-del</i> (%)	
		+	-
Kraje afrykańskie leżące na południe od Sahary	Pigmeje	64,77	35,23
	Jorubowie	65,91	34,09
	Bantu	72,22	27,78
Afryka Północna	Algieria	32,69	67,31
	Beduini	47,22	52,78
Europa	Francja	40,74	59,26
Azja Południowa	Brahui	43,18	56,82
	Hazarowie	79,41	20,59
Azja Wschodnia	Chińczycy Han	38,24	61,76
	Jakuci	77,27	22,73
Oceania	Papua-Malanezja	50	50
Ameryka	PIMA	25	75
	MAYA	38,1	61,9

**Tabela II.** Częstość występowania allelu *LCE3C\_LCE3B-del* (%) w wybranych populacjach pochodzących z różnych rejonów geograficznych

*Table II. LCE3C\_LCE3B-del allele frequency (%) in chosen populations from different geographic regions*

Autorzy powyższej analizy sugerują, że szerokie rozpowszechnienie genotypu *LCE3C\_LCE3B-del* może świadczyć o zniesieniu pewnych funkcji uzależnionych od genów zlokalizowanych w grupie *LCE*. Prawdopodobnie, występowanie wyłącznie delekcji nie wystarcza do fenotypowego ujawnienia się łuszczyca, gdyż inne geny przejmują funkcję *LCE3B* i *LCE3C*. Przeciwnie, w sytuacji gdy oprócz *LCE3C\_LCE3B-del* u danej osoby



występują inne markery genetyczne podatności na łuszczycę, ryzyko rozwoju schorzenia jest znacznie wyższe [154].

Fizjologicznie białka z rodziny LCE3 są niewykrywalne w skórze, jednak na skutek uszkodzeń naskórka dochodzi do indukcji ekspresji genów z rodziny *LCE3*. W pionierskim badaniu eksperymentalnym przeprowadzonym przez zespół de Cid i wsp. wykazano związek pomiędzy *LCE3C\_LCE3B-del* a nieprawidłową odpowiedzią bariery naskórkowej na czynniki mechaniczne. Usunięcie warstwy rogowej naskórka poprzez gwałtowne zerwanie taśmy klejącej przytwierdzonej do skóry stymulowało proces proliferacji i różnicowania keratynocytów, jak również prowadziło do zwiększonej ekspresji *LCE3C* jak i innych genów zaangażowanych w funkcjonowanie bariery naskórkowej. Zjawisko to nie zostało jednak potwierdzone w przypadku osób homozygotycznych pod kątem występowania *LCE3C\_LCE3B-del*, u których nie wykryto mRNA *LCE3C* [96]. Do podobnych wniosków doszedł zespół Bergboer i wsp. Holenderscy badacze udowodnili, że w wyniku ostrego (zerwanie taśmy klejącej przytwierdzonej do naskórka) jak i przewlekłego (blaszka łuszczycowa) procesu prowadzącego do uszkodzenia bariery naskórkowej dochodzi do zwiększenia ekspresji *LCE3* oraz obniżenia ekspresji *LCE1*, *LCE2*, *LCE5*, *LCE6* [155]. Wyniki powyższych badań eksperymentalnych dowodzą istotnej roli białek LCE3 w procesach naprawczych prowokowanych uszkodzeniami powstałymi w naskórku. W odniesieniu do patofizjologii łuszczycy, utrata funkcji części genów, pod postacią *LCE3C\_LCE3B-del*, może prowadzić do nieprawidłowości w funkcjonowaniu koperty rogowej oraz dysfunkcji procesów naprawczych w naskórku [96]. Uszkodzona bariera naskórkowa ułatwia penetrację egzogennych antygenów, co może wtórnie stymulować bądź indukować procesy zapalne w łuszczycy. Co więcej, badanie przeprowadzone przez Capon i wsp. już w 1999 r., obejmujące rodziny pochodzenia włoskiego, wykazało interakcję pomiędzy *locus* PSORS4 a głównym allelem podatności na łuszczycę, *HLA-Cw\*06* [60]. Dalszy rozwój badań genetycznych oraz sekwencjonowanie PSORS4, doprowadziły do uzyskania interesujących wyników świadczących o istnieniu interakcji pomiędzy *HLA-Cw\*06* oraz *LCE3C\_LCE3B-del* u osób chorych na łuszczycę, co wydaje się potwierdzać kompleksową naturę schorzenia [55,96,146,147,155].

Nowo odkryte polimorfizmy sprzężone z genem *CSTA* (ang. *cystatin A*) wykazują również związek z predyspozycją do rozwoju łuszczycy. Gen *CSTA* zlokalizowany jest w regionie PSORS5 na chromosomie 3q21 i koduje białko o masie cząsteczkowej 11 kDa. Cystatyna A jest endogennym inhibitorem proteazy cysteinowej, prekursorem białek koperty rogowej i bierze udział w regulacji procesów złuszczenia naskórka oraz różnicowania

keratynocytów. W badaniu przeprowadzonym przez Vasilopoulos i wsp. wykazano istotną asocjację dwóch haplotypów - *CSTA* TCC oraz *CSTA* TTC z ryzykiem rozwoju łuszczycy. Wyniki powyższej analizy stanowią także dowód na obecność interakcji pomiędzy ww. haplotypami a allelem *HLA-Cw\*06*, co w przypadku nosicieli obu czynników ryzyka prowadzi do istotnego zwiększenia predyspozycji do rozwoju łuszczycy [156]. Vasilopoulos i wsp. kontynuując badania genetyczne nad związkami *CSTA* z łuszczycą, udowodnili istnienie interakcji pomiędzy PSORS1, PSORS4 i PSORS5 w grupie obejmującej 130 rodzin z wywiadem łuszczycy pochodzących z rejonu Wielkiej Brytanii. W obrębie wymienionych *loci* podatności na łuszczycę wybrano odpowiednio zlokalizowane markery genetyczne: *HLA-Cw\*06*, D1S2346 oraz *CSTA* c162T>T. Wykazano 105-krotnie zwiększone ryzyko rozwoju schorzenia w przypadku osób *HLA-Cw\*06*-dodatnich, będących dodatkowo nosicielami dwóch kopii allelu w obrębie *CSTA* i D1S2346 [157].

Kolejnym białkiem zaangażowanym w proces regulacji tworzenia bariery naskórkowej jest cystatyna M/E, kodowana przez *CST6*. Gen *CST6* wykazuje silną ekspresję w górnych warstwach naskórka, mieszkach włosowych, gruczołach łojowych oraz gruczołach potowych [158]. Cystatyna M/E będąca inhibitorem katepsyny L (CTSL) oraz legumainy (LGMN), kontroluje procesy krzyżowego wiązania białek strukturalnych przez TGM3 podczas procesu keratynizacji. Dysregulacja ścieżki kontrolowanej przez cystatynę M/E prowadzi do zaburzeń rogowacenia oraz upośledzenia funkcji bariery naskórkowej. W badaniu przeprowadzonym przez Cheng i wsp. wykazano zmniejszoną ekspresję cystatyny M/E w obrębie ognisk łuszczycowych [159].

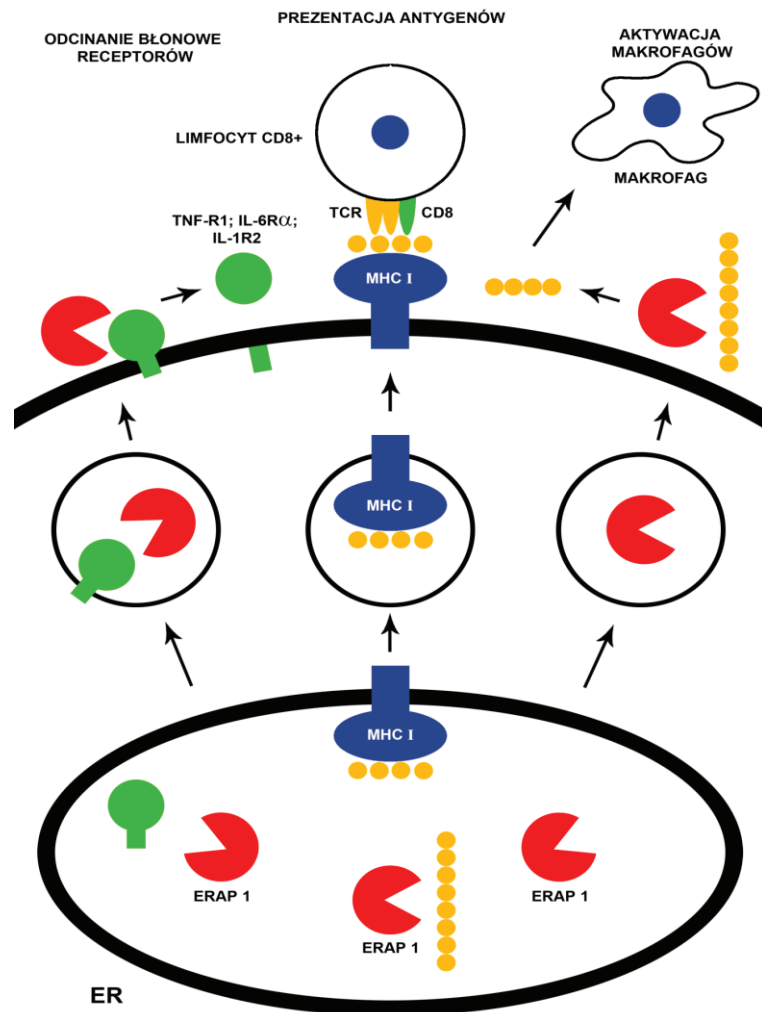
#### **1.2.3.8 Rola genów związanych z nabytą odpowiedzią immunologiczną mediowaną przez limfocyty CD8+ w patogenezie łuszczycy**

Pionierskie badanie GWAS przeprowadzone przez Strange i wsp. w 2010 r., którym objęto 2622 chorych z łuszczycą oraz 5667 niespokrewnionych osób grupy kontrolnej, pochodzących z terenu Wielkiej Brytanii i Irlandii, wskazało na asocjację łuszczycy z wariantami genów *ERAPI* oraz *ZAP70* zlokalizowanymi odpowiednio na chromosomach 5q15 oraz 2q11. Obserwacje te wykazały ponadto częstsze występowanie polimorfizmu pojedynczego nukleotydu rs27524 sprzężonego z *ERAPI* w grupie osób będących nosicielami przynajmniej jednej kopii allelu *HLA-C* ( $p=6.95 \times 10^{-6}$ ). Co więcej, podobną asocjację na



poziomie istotności  $p = 2.37 \times 10^{-7}$  wykazano dla rs17695937 znajdującego się w pobliżu *ZAP70* w populacji osób *HLA-C*-dodatnich. Powyższe doniesienia stanowią dowód na istnienie interakcji pomiędzy głównym genem podatności na łuszczycę *HLA-Cw\*06* a nowo odkrytymi polimorfizmami w obrębie *ERAP1* i *ZAP70* [55].

Gen *ERAP1* zlokalizowany w obrębie długiego ramienia chromosomu 5, obejmuje 47 kb i składa się z 20 egzonów [160]. Jego transkrypcja jest stymulowana przez IFN- $\gamma$  [161]. *ERAP1* koduje aminopeptydazę retikulum endoplazmatycznego 1 (ang. *endoplasmic reticulum aminopeptidase 1*, ERAP1) zaliczaną do grupy oksytocynaz należących do rodziny M1 aminopeptydaz [162]. Białko to zlokalizowane jest w świetle retikulum endoplazmatycznego (ang. *endoplasmic reticulum*, ER), a jego główna funkcja enzymatyczna polega na proteolitycznej obróbce N-końcowych fragmentów cząsteczek prezentowanych w kontekście MHC klasy I limfocytom CD8+ [163,164]. Wyniki kilku niezależnych badań dowodzą ponadto, że ERAP1 w pewnych warunkach opuszcza ER do przestrzeni zewnątrzkomórkowej biorąc udział w enzymatycznym „odcinaniu” błonowym (ang. *shedding*) wybranych receptorów cytokinowych takich jak – receptor typu 1 dla TNF (ang. *type 1 tumor necrosis factor receptor*, TNF-R1), podjednostka alfa receptora dla interleukiny-6 (ang. *interleukin-6 receptor  $\alpha$* , IL-6R $\alpha$ ) oraz receptor typu 2 dla interleukiny-1 (ang. *type 2 interleukin-1 receptor*, IL-1R2) [165-167]. Zjawisko to świadczy o istotnej roli ERAP1 w modulowaniu odpowiedzi immunologicznej. Enzym ten jest również wydzielany przez makrofagi stymulowane IFN- $\gamma$  i lipopolisacharydem (ang. *lipopolysaccharide*, LPS), co zwiększa aktywność fagocytową makrofagów [168]. Opisane powyżej funkcje ERAP1 przedstawiono na rycinie 6.



**Rycina 6.** Mechanizmy działania ERAP1 [169]

**Figure 6.** The mechanisms of ERAP1 action [169]

Asocjację wybranych polimorfizmów *ERAP1* ze zwiększonym ryzykiem rozwoju łuszczycy, poza obserwacjami przeprowadzonymi przez Strange i wsp. w populacji europejskiej, wykazały również niezależne badania obejmujące populacje chińskie [108,170]. Interesujące wyniki badań nad *ERAP1* udało się uzyskać także w odniesieniu do łuszczycy rozpoczynającej się w młodym wieku. Analizy genetyczne przeprowadzone przez Lysell i wsp. w populacji szwedzkiej wykazały asocjację SNP rs26653 sprzężonego z *ERAP1* z częstszym występowaniem łuszczycy jedynie w grupie chorych z początkiem zachorowania w przedziale wiekowym od 10 do 20 r.ż. Wartym podkreślenia jest również fakt, iż w tej grupie wiekowej związek ten nie był zależny od obecności allelu *HLA-Cw\*0602* [171].

Częstsze występowanie *ERAPI* w grupie chorych z wiekiem zachorowania poniżej 18 r.ż. uzyskali także badacze duńscy. W przeciwieństwie do wyników opublikowanych przez Lysell i wsp., Bergboer i wsp. udało się wykazać asocjację *ERAPI* z *HLA-Cw\*06* w tej grupie chorych [149]. Poza populacjami europejskimi częstsze występowanie polimorfizmów *ERAPI* wśród chorych z typem I łuszczycy udowodniono również w populacjach azjatyckich [108]. Dodatkowo, Oostven i wsp. w toku prowadzonych w grupie dziecięcej badań, wykazali znamiennej asocjację *ERAPI* z ciężką odmianą łuszczycy [172].

Na podstawie badań GWAS, zaobserwowano istnienie związku pomiędzy poszczególnymi polimorfizmami *ERAPI* a innymi schorzeniami o podłożu autoimmunologicznym, takimi jak: zeszywniające zapalenie stawów kręgosłupa, choroba Behceta czy stwardnienie rozsiane [173-176]. W związku z tymi obserwacjami sugeruje się, że enzym ten za pośrednictwem obróbki antygenów prezentowanych w kontekście MHC klasy I, bierze udział w tworzeniu białek autoimmunogennych [177].

*ZAP70* koduje niereceptorową kinazę tyrozynową (ang. *zeta associated protein*, *ZAP70*) o masie cząsteczkowej 70 kDa. Wyróżnia się cztery typy kinaz. Pierwsza grupa to kinazy Scr-podobne (Lck i Fyn), druga to kinazy Syk-podobne, do których zalicza się *ZAP70* i Syk, do trzeciego typu należą kinazy Tec (Itk), a do czwartego kinazy Csk. Ekspresję *ZAP70* wykryto w obrębie komórek NK i limfocytów T, gdzie enzym ten wiąże się z łańcuchem zeta CD3 kompleksu receptora limfocytów T (ang. *T cell receptor*, TCR). Kinaza ta niezbędna jest dla prawidłowego dojrzewania i różnicowania się limfocytów T [178]. Poprzez fosforylację reszt tyrozynowych motywów ITAM (ang. *immunoreceptor tyrosine-based activation motif*) zlokalizowanych w rejonie receptora TCR, *ZAP70* bierze udział w transdukcji sygnałów do cytoplazmy. Kinaza ta jest niezbędna dla prawidłowej aktywacji limfocytów CD8+ [182]. Udowodniono, że mutacje w obrębie *ZAP70* prowadzą do poważnych zaburzeń odporności związanych z deficytem limfocytów CD8+ [180]. Badania ostatnich lat wykazały ponadto istotne znaczenie ekspresji *ZAP70* jako czynnika rokowniczego korelującego z aktywnością przewlekłej białaczki limfocytowej [181].

Związek *ZAP70* z podatnością na łuszczycę niezależnie od badań Strange i wsp. wykazano na podstawie analizy interakcji na poziomie białek przeprowadzonej przez Park i wsp. Uzyskane wyniki dowodzą, że kinaza może odgrywać istotną rolę w patogenezie łuszczycy i w związku z tym może być ważnym celem przyszłych terapii, jednak jej biologiczne znaczenie wymaga dalszych i bardziej szczegółowych analiz [182].

## 2. Założenia i cele pracy

Łuszczyca jest częstą, zapalną chorobą, która istotnie obniża jakość życia chorych i zwiększa ryzyko innych poważnych schorzeń. Mimo olbrzymiego postępu w poznaniu patogenezы choroby, wyrażającego się m.in. wprowadzeniem do praktyki klinicznej leczenia biologicznego, przyczyna łuszczycy nadal nie jest poznana. Istotą schorzenia jest nadmierne, zaburzone różnicowanie keratynocytów w odpowiedzi na aktywację układu immunologicznego, z kluczową rolą limfocytów T, komórek dendrytycznych, prozapalnych cytokin i chemokin. Wiadomo obecnie, że czynniki immunologiczne wraz z wpływami środowiskowymi i podłożem genetycznym składają się na kompleksową etiologię tego częstego schorzenia.

Spośród wielu poznanych markerów genetycznych predysponujących do rozwoju łuszczycy, kluczową rolę przypisuje się allelowi *HLA-Cw\*06*, zlokalizowanemu w obrębie *locus* PSORS1 na chromosomie 6. Szacuje się, że PSORS1 odpowiada za 35-50% predyspozycji do łuszczycy wczesnej w populacjach kaukazyjskich [62-64]. Znaczący rozwój badań molekularnych, a szczególnie odkrycia genetyczne dokonane dzięki badaniom GWAS doprowadziły do identyfikacji wielu innych polimorfizmów genetycznych zlokalizowanych poza regionem MHC, wykazujących związek ze zwiększonym ryzykiem rozwoju łuszczycy. Na szczególną uwagę zasługują najnowsze wyniki badań, potwierdzające asocjację genów zaangażowanych w funkcjonowanie bariery naskórkowej (*LCE3*, *CSTA*) oraz wariantów genetycznych biorących udział w obróbce antygenów w kontekście MHC klasy I oraz regulacji aktywacji limfocytów CD8+ (*ERAP1*, *ZAP70*) z łuszczycą [55,96-102, 156]. Biologiczne znaczenie nowo odkrytych markerów genetycznych ryzyka łuszczycy wpisuje się w mechanizmy zależne od *HLA-Cw\*06*, a ich rola może hipotetycznie polegać na łatwiejszej penetracji antygenów spowodowanej zaburzeniami funkcjonowania bariery naskórkowej, jak i nieprawidłowościach w obróbce oraz prezentacji antygenów limfocytom T. Fenotypowe ujawnienie się łuszczycy zależy nie tylko od interakcji pomiędzy czynnikami genetycznymi i środowiskowymi, lecz również od wzajemnego oddziaływania na poziomie genów, czyli zjawiska epistazy opisanego w odniesieniu do kilku polimorfizmów genetycznych, takich jak - *LCE3C\_LCE3B-del*, *CSTA*, *ERAP1* i *ZAP70* z *HLA-Cw\*06* [55,96,98,108,145,149,156,157]. Opublikowane dotychczas wyniki badań dotyczących interakcji jak i asocjacji tych genów-kandydatów z ryzykiem rozwoju łuszczycy są niejednoznaczne.

Z powodu kompleksowej natury łuszczycy, oszacowanie ryzyka rozwoju schorzenia na podstawie oceny pojedynczych polimorfizmów genetycznych nie jest możliwe. W ostatnim czasie zaproponowano panel 10 markerów typu SNP, które wykazują związek z łuszczycą. Ich łączna ocena pozwala na oszacowanie predyspozycji do zachorowania na łuszczycę. W zaproponowanym panelu wartość prognostyczna wystąpienia schorzenia dla allelu *HLA-Cw\*06* była porównywalna do łącznej wartości prognostycznej wszystkich innych ujętych w zestawie 9 wariantów genowych [100]. W innym badaniu, w którym analizowano panel 3 markerów łuszczycy, obejmujący *HLA-Cw\*06*, *CSTA* i *D1S2346*, które wykazują wzajemną interakcję, stwierdzono ponad 100-krotnie zwiększone ryzyko wystąpienia choroby u osób będących nosicielami równocześnie wszystkich tych polimorfizmów genetycznych [157].

Niniejsza praca wpisuje się zatem w najnowszy trend łączenia poznanych dotąd markerów predysponujących do rozwoju łuszczycy pod kątem kompleksowej oceny genetycznego ryzyka rozwoju tej dermatozy a także badania korelacji polimorfizmów genetycznych mających związek z patogenezą łuszczycy nieanalizowanych jak dotąd w populacji polskiej. W tym celu wybrano aż 5 markerów wykazujących interakcję, co może dostarczyć cennego narzędzia diagnostycznego w praktyce dermatologicznej.

Jak dotąd nie ukazały się publikacje dotyczące związku *LCE3C\_LCE3B-del*, *CSTA*, *ERAPI* oraz *ZAP70* z łuszczycą ani możliwych interakcji/współwystępowania z genem *HLA-Cw\*06* w populacji polskiej.

Powyższe przesłanki były powodem podjęcia badań, których celem było:

1. Porównanie częstości występowania: *HLA-Cw\*06*, *LCE3C\_LCE3B-del*, *CSTA*, *ERAPI*, *ZAP70* w populacji chorych na łuszczycę i w populacji kontrolnej pochodzących z Polski północnej.
2. Porównanie współwystępowania: *LCE3C\_LCE3B-del*, *CSTA*, *ERAPI*, *ZAP70* z allelem *HLA-Cw\*06* w populacji chorych na łuszczycę i w populacji kontrolnej pochodzących z Polski północnej.
3. Ocena korelacji *HLA-Cw\*06*, *LCE3C\_LCE3B-del*, *CSTA*, *ERAPI* i *ZAP70* z ciężkością łuszczycy, wyrażonej wskaźnikiem PASI.
4. Oszacowanie genetycznego wskaźnika ryzyka wystąpienia łuszczycy dla pięciu badanych polimorfizmów genetycznych *HLA-C*, *LCE3C\_LCE3B-del*, *CSTA*, *ERAPI*, *ZAP70*.

## 3. Materiał i metody

### 3.1 Materiał badany

#### 3.1.1. Populacja chorych

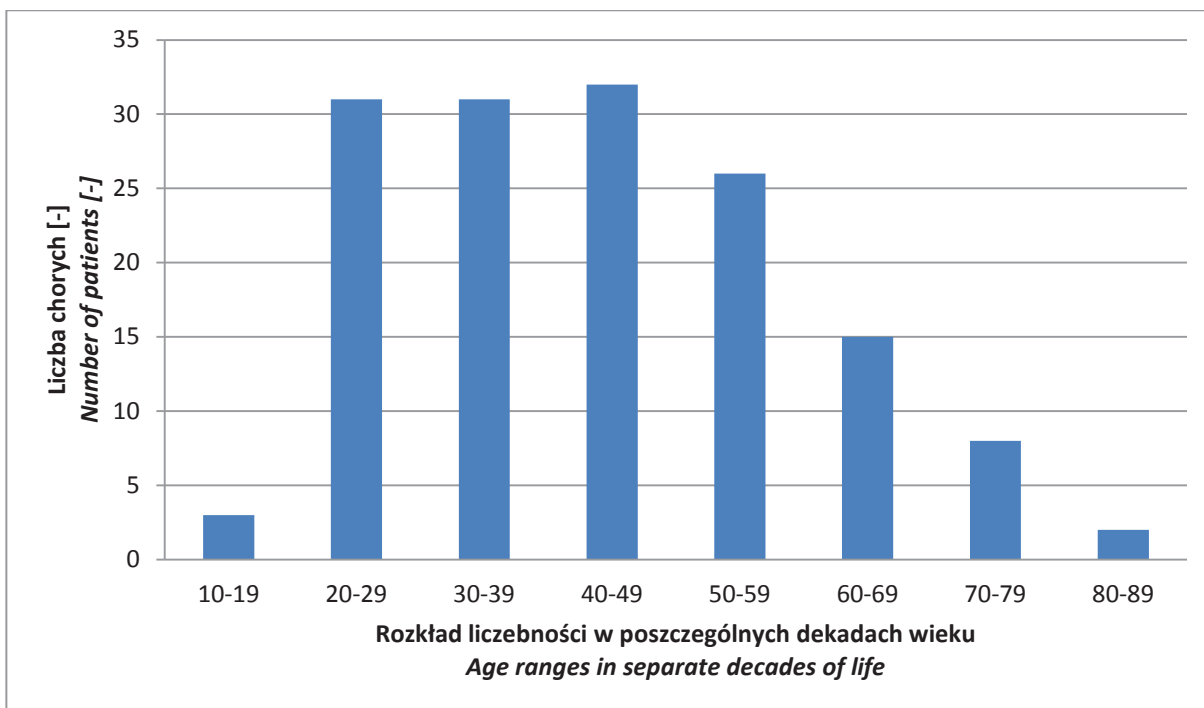
Do badań genetycznych zostało użyte jądro DNA wyizolowane z 4 ml obwodowej krwi żyłnej pobranej od wstępnie ocenionych klinicznie 148 niespokrewnionych ze sobą chorych z przewlekłą łuszczycą plackowatą, hospitalizowanych w Klinice Dermatologii, Wenerologii i Alergologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego (n=105) oraz będących pod opieką Poradni Kliniki Dermatologii, Wenerologii i Alergologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego (n=43). W grupie badanej było 79 mężczyzn (53,38%) oraz 69 kobiet (46,62%) w wieku od 18 do 83 lat. Średnia wieku osób chorych wynosiła 43,3 lat (wśród mężczyzn – 43,32 lat; wśród kobiet – 43,28 lat). Dane demograficzne osób należących do populacji badanej przedstawiono w tabeli III.

Parametr	Mężczyźni	Kobiety	Ogółem
Liczebność	79	69	148
Średni wiek (lata)	43,32	43,28	43,3

**Tabela III.** Dane demograficzne chorych z łuszczycą zakwalifikowanych do grupy badanej (n=148)

*Table III. Demographic data of the patients with psoriasis included into the study group (n=148)*

Rozkład liczebności chorych w poszczególnych przedziałach wiekowych przedstawia rycina 7.



**Rycina 7.** Rozkład wieku chorych na łuszczycę włączonych do badania (n=148)

**Figure 7.** Age ranges of the patients with psoriasis at the time of the study (n=148)

Do populacji badanej kwalifikowano osoby obu płci, u których na podstawie badania fizykalnego stwierdzono na skórze zmiany łuszczycowe o typie łuszczycy plackowatej. Chorzy ze zmianami skórnymi odpowiadającymi rozpoznaniu łuszczycy kropelkowej, odmiany krostkowej i erytrodemii łuszczycowej byli wykluczeni z populacji badanej.

### 3.1.2. Populacja kontrolna

Populację kontrolną stanowiły osoby zdrowe, niespokrewnione ze sobą, dobrane odpowiednio pod względem wieku i płci w stosunku do grupy badanej. Grupa ta liczyła 146 osób, w tym 83 mężczyzn (56,64%) i 63 kobiet (43,16%) w wieku od 19 do 84 lat. Średnia wieku populacji kontrolnej wyniosła 42,0 lat.

Od osób tych zbierano szczegółowy wywiad osobniczy oraz rodzinny w kierunku chorób skóry. Do grupy kontrolnej nie włączono osób ze zmianami łuszczycowymi na skórze, z rozpoznaniem łuszczycowego zapalenia stawów jak również z dodatnim lub wątpliwym

wywiadem osobniczym oraz rodzinnym w kierunku łuszczycy i/lub łuszczycowego zapalenia stawów.

Populacje badane i kontrolne pochodziły z tego samego regionu Polski północnej.

Chorzy oraz osoby z grupy kontrolnej przed przystąpieniem do badania wyraziły pisemną zgodę na udział w nim.

Projekt badawczy uzyskał zgodę Niezależnej Komisji Bioetycznej Do Spraw Badań Naukowych przy Gdańskim Uniwersytecie Medycznym (NKBBN/181/2012).

## **3.2 Metody badawcze**

### **3.2.1. Kliniczna ocena chorych**

Chorych kwalifikowano do grupy badanej na podstawie badania dermatologicznego. U wszystkich pacjentów określono wskaźnik PASI (ang. *psoriasis area nad severity index*), służący do oceny stopnia nasilenia łuszczycy. Wskaźnik ten uwzględnia obszar skóry zajętej przez zmiany łuszczycowe, nasilenie złuszczenia, rumienia oraz nacieku [183] (Tabela IV).



Punktacja	0	1	2	3	4	5	6
r – rumień n – naciek z – złuszczenie	brak	nieznaczne	umiarkowane	ciężkie	bardzo ciężkie	-	-
p – powierzchnia (%)	0	1-9	10-29	30-49	50-69	70-89	90-100

$$PASI = 0,1 \cdot (r_g + n_g + z_g) \cdot p + 0,2 \cdot (r_{gk} + n_{gk} + z_{gk}) \cdot p + 0,3 \cdot (r_t + n_t + z_t) \cdot p + 0,4 \cdot (r_{dk} + n_{dk} + z_{dk}) \cdot p$$

**g** – głowa; **gk** – górne kończyny; **t** – tułów; **dk** – dolne kończyny

**Tabela IV.** Schemat obliczania wskaźnika PASI

*Table IV.* The scheme of PASI index calculation

### 3.2.2. Metody badań molekularnych

#### 3.2.2.1. Izolacja DNA

Do izolacji jądrowego DNA z krwi pełnej zastosowano nieznacznie zmodyfikowaną technikę wg. Lahiri’ego i Nurnberger’a [184]. Metoda ta pozwoliła na uzyskanie wysokiej jakości DNA bez konieczności długotrwałej inkubacji z proteinazą K oraz stosowania agresywnych rozpuszczalników organicznych, takich jak fenol, chloroform czy alkohol izoamylowy.

### 3.2.2.2. Oznaczanie jakości DNA

Stężenie i czystość wyizolowanego jądrowego DNA oznaczono spektrofotometrycznie w aparacie NanoDrop® ND-1000. Pomiar odczytano przy długości fali 260 nm, przy której absorbancja dla kwasów nukleinowych wykazuje maksimum.

### 3.2.2.3. Oznaczanie allelu *HLA-Cw\*06*

Do typowania allelu *HLA-Cw\*06* w populacji 148 chorych oraz 146 osób z grupy kontrolnej wykorzystano zoptymalizowaną technikę PCR-SSP (ang. *Sequence Specific Primers*) i PCR-RFLP (ang. *Restriction Fragment Length Polymorphism*) przebiegającą w trzech etapach [87,185].

W pierwszym etapie przeprowadzono typowanie allelu *HLA-Cw\*06* wykorzystując reakcję PCR z użyciem metody specyficznej sekwencji starterów (PCR-SSP). W celu eliminacji wyników fałszywie ujemnych, zastosowano wewnętrzną kontrolę amplifikacji w postaci fragmentu genu *HLA-C*. Reakcję przeprowadzono w 13 ul mieszaniny reakcyjnej składającej się z buforu C dostarczonego w zestawie z polimerazą, 350 μM trójfosforanów dezoksynukleotydów (ang. *deoxynucleotide triphosphate*, dNTP), 750 nM starterów allelospecyficznych, 125 nM starterów wewnętrznej kontroli amplifikacji, 0,1875 u polimerazy *Taq* oraz 30 ng wyizolowanego DNA. Warunki temperaturowe w poszczególnych etapach reakcji PCR zaprezentowano w tabeli V.

	Wstępna denaturacja	2 min. w 96 °C
Amplifikacja (30 cykli)	Denaturacja	25 s. w 96 °C
	Hybrydyzacja	60 s. w 64 °C
	Elongacja	120 s. w 72 °C
	Końcowa elongacja	5 min. w 72 °C

**Tabela V.** Warunki amplifikacji alleli *locus* HLA-C

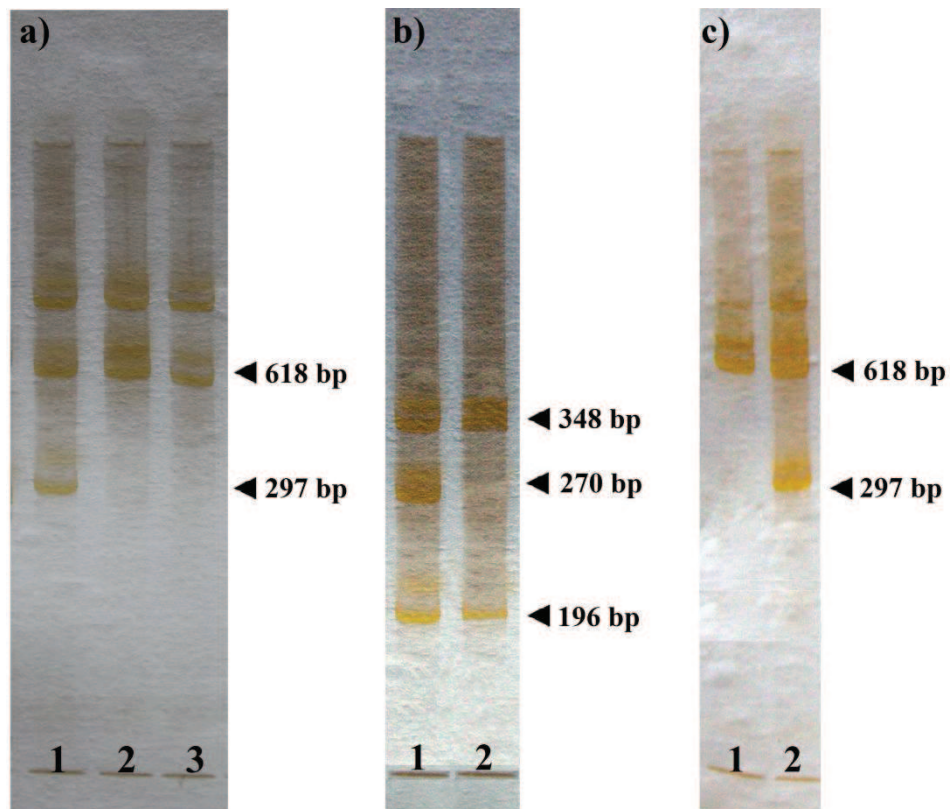
*Table V.* Conditions of amplification of HLA-C allele

W celu wykrycia heterozygot, próbki DNA, w których wytypowano w pierwszej reakcji allel *HLA-Cw\*06*, poddano analizie z wykorzystaniem metody PCR z oceną polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych (PCR-RFLP). Amplifikację prowadzono w 10 ul mieszaniny reakcyjnej zawierającej bufor A dostarczony w zestawie z polimerazą, 1,25 mM chlorku magnezu (ang. *magnesium chloride*, MgCl<sub>2</sub>), 200 μM dNTP, 750 nM starterów HLA-CF i HLA-CR, 0,625 u polimerazy *Taq* oraz 2,5 ng matrycowego DNA. Warunki temperaturowe dla powyższej reakcji obejmowały 2 min. wstępnej denaturacji w 95°C, 30 cykli amplifikacji (60 s. w 95°C, 60 s. w 62°C, 30s. w 72 °C) oraz 5 min. końcowej elongacji w 72°C. Powielony fragment genu *HLA-C* poddano następnie analizie restrykcyjnej z użyciem enzymu *Sma* I. W tym celu 5 ul uzyskanego produktu PCR poddano trawieniu przez 4 h w 25°C w 10 ul mieszaniny reakcyjnej zawierającej ponadto 5 u enzymu *Sma* I oraz bufor dostarczony w zestawie z enzymem *Sma* I. W przypadku homozygot pod wpływem restryktazy *Sma* I z produktu PCR wielkości 618 bp powstawały fragmenty wielkości 348 bp, 196 bp i 74 bp. W przypadku heterozygot obserwowano dodatkowy fragment wielkości 270 bp.

Trzeci etap identyfikacji allelu *HLA-Cw\*06* polegał na wykluczeniu u homozygot niespecyficznego trawienia enzymem *Sma* I, który oprócz *Cw\*06* wykrywał także allele *Cw\*07* i *Cw\*18*. W tym celu wykorzystano zmodyfikowany allelospecyficzny starter *reverse* użyty w pierwszym etapie oraz niezmieniony starter *forward*, co umożliwiło amplifikację *Cw\*07* i *Cw\*18*. Ponownie zastosowano reakcję PCR-SSP, której profil temperaturowy nie różnił się od profilu z pierwszego etapu badania.

Na każdym z trzech etapów produkty PCR rozdzielono w 13% żelu poliakrylamidowym przy użyciu aparatu do elektroforezy poziomej Multiphor II (LKB) przy napięciu 1000 V, natężeniu 30 mA oraz mocy 15 W. Po rozdzieleniu elektroforetycznym DNA barwiono azotanem srebra.

Poszczególne etapy identyfikacji allelu *HLA-Cw\*06* przedstawia rycina 8.



**Rycina 8.** Wyniki typowania obecności i zygotywności allelu *HLA-Cw\*06* zmodyfikowaną metodą PCR-SSP i PCR-RFLP

Etap a – detekcja *Cw\*06*:

- Ścieżka 1 – allel *Cw\*06* obecny (297 bp);
- Ścieżki 2 i 3 – pozytywna kontrola amplifikacji (618 bp), brak allelu *Cw\*06*

Etap b – różnicowanie homozygot i heterozygot *Cw\*06*:

- Ścieżka 1 – widoczne trzy fragmenty (348 bp, 270 bp, 196 bp) – heterozygota *Cw\*06*;
- Ścieżka 2 – widoczne dwa fragmenty (348 bp, 196 bp) – osoba z *Cw\*06* i drugim allelem trawionym przez restryktazę *Sma I*, tj. *Cw\*06* lub *Cw\*07* lub *Cw\*18*

Etap c – identyfikacja alleli *Cw\*07* i *Cw\*18* niespecyficznie trawionych przez *Sma I*:

- Ścieżka 1 – pozytywna kontrola amplifikacji (618 bp) – homozygota *Cw\*06/Cw\*06*;
- Ścieżka 2 - obecny *Cw\*07* lub *Cw\*18* (297 bp) - heterozygota *Cw\*06*

**Figure 8.** The results of detection and zygosity status verification of *HLA-Cw\*06* allele with the use of modified PCR-SSP and PCR-RFLP methods

*Stage a – detection of Cw\*06:*

- *Sample 1 – Cw\*06 allele present (297 bp);*
- *Samples 2 and 3 – positive control of amplification (618 bp), lack of Cw\*06 allele*

*Stage b – discrimination of homo- and heterozygotes with Cw\*06 allele:*

- *Sample 1 – three fragments visible (348 bp, 270 bp, 196 bp) – heterozygote with Cw\*06;*
- *Sample 2 – two fragments visible (348 bp, 196 bp) – person with Cw\*06 and a second allele digested by Sma I restrictase, i.e. Cw\*06 or Cw\*07 or Cw\*18*

*Stage c – identification of Cw\*07 and Cw\*18 alleles, unspecifically digested by Sma I:*

- *Sample 1 – positive control of amplification (618 bp) – homozygote Cw\*06/ Cw\*06;*
- *Sample 2 - Cw\*07 or Cw\*18 allele present (297 bp) – heterozygote with Cw\*06*

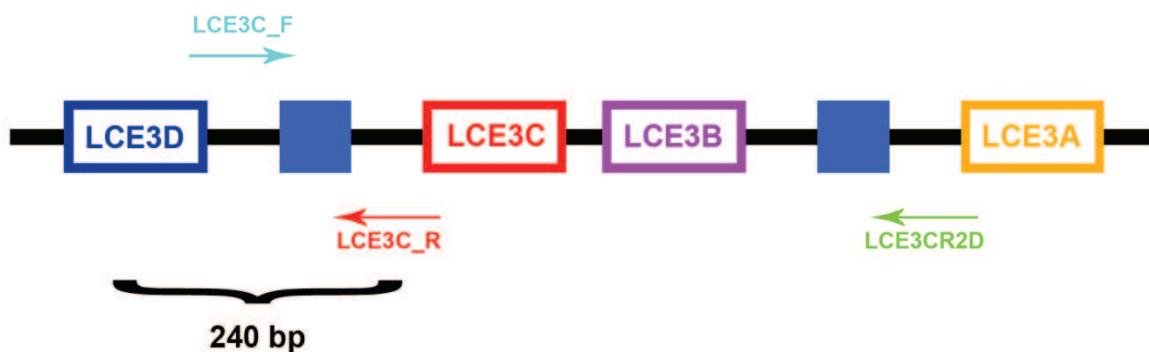
#### **3.2.2.4. Oznaczanie polimorfizmu *LCE3C\_LCE3B-del***

Do oznaczania obecności i zygocyzności *LCE3C\_LCE3B-del* wśród 148 chorych oraz 146 osób z grupy kontrolnej zastosowano reakcję PCR z oceną polimorfizmu długości amplifikowanych fragmentów (ang. *Amplified Fragment Length Polymorphism*, AFLP). Do amplifikacji użyto zoptymalizowanej metody wykorzystującej trzy różne startery charakterystyczne dla badanego miejsca, których sekwencje przedstawiono w tabeli VI [96].

Nazwa starteru	Sekwencja starteru
LCE3C_F	5' TTTGGAGCATGTTGTCAGGA3'
LCE3C_R	5' AGGGTTAGGCACAGGGAAGT3'
LCE3CR2D	5' CATCCCAGGGATGCTGCATG3'

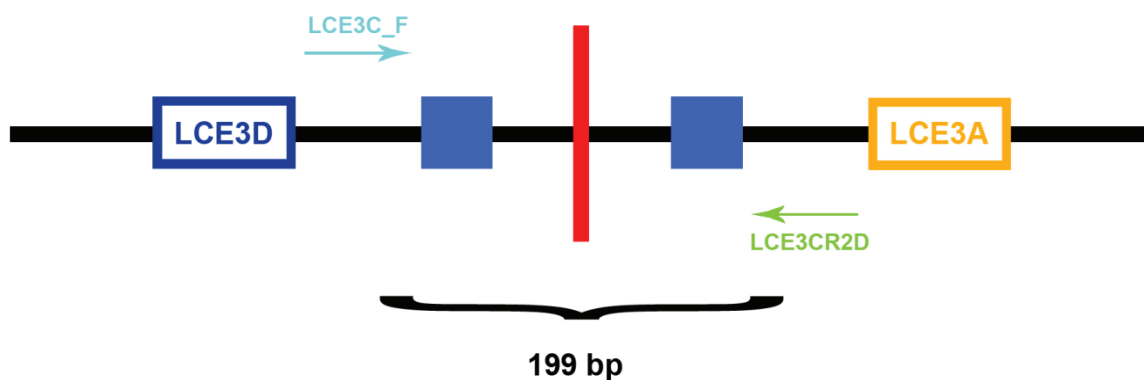
**Tabela VI.** Nazwy i sekwencje starterów wykorzystanych do typowania *LCE3C\_LCE3B-del*  
**Table VI.** *Primer names and sequences used for genotyping LCE3C\_LCE3B-del*

Produkt allelospecyficzny nie wykazujący delecji, wielkości 240 bp, powstawał przy użyciu LCE3C\_F i LCE3C\_R (Rycina 9). Allel posiadający delecję, wielkości 199 bp, wykrywano w oparciu o startery LCE3C\_F i LCE3CR2D (Rycina 10).



**Rycina 9.** Schemat przyłączenia starterów LCE3C\_F i LCE3C\_R w przypadku wariantu bez delecji. Amplifikacji ulega produkt wielkości 240 bp. Fragment LCE3C\_F-LCE3CR2D nie powstaje (32,2 kb)

**Figure 9.** The scheme of *LCE3C\_F* and *LCE3C\_R* hybridization in a variant without the deletion. The product length of 240 bp is amplified. *LCE3C\_F-LCE3CR2D* fragment is not detected



**Rycina 10.** Schemat przyłączenia starterów LCE3C\_F i LCE3CR2D w przypadku wariantu z delecją. Amplifikacji ulega produkt wielkości 199 bp

**Figure 10.** The scheme of LCE3C\_F and LCE3CR2D hybridization in a variant with the deletion. The product length of 199 bp is amplified

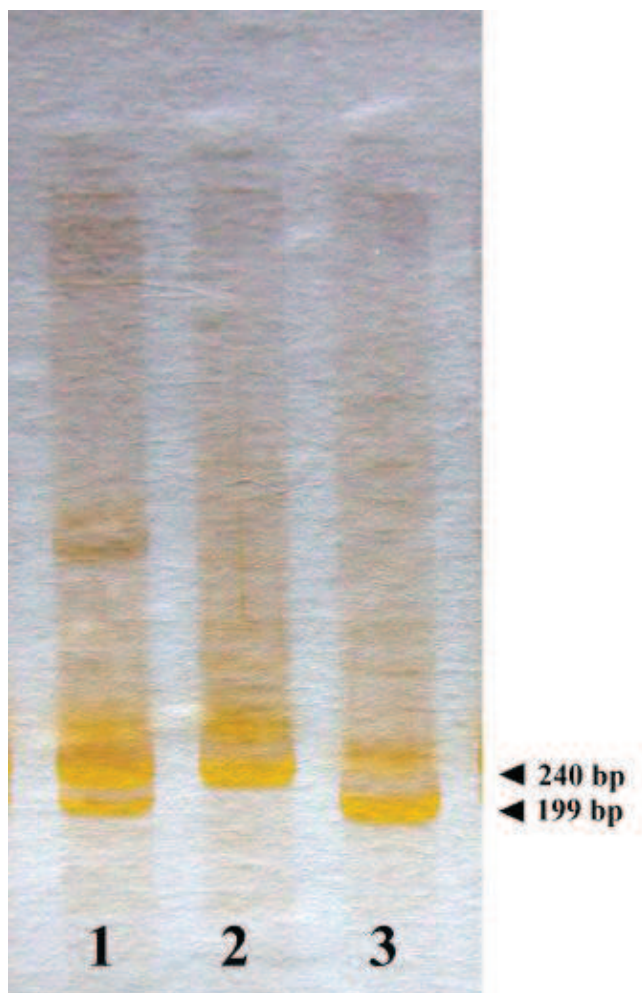
Amplifikację prowadzono w 10  $\mu$ l mieszaniny składającej się z buforu B dostarczonego w zestawie z polimerazą, 200  $\mu$ M dNTP, po 0,2  $\mu$ M każdego ze starterów, 0,5 u polimerazy *Taq* oraz 30 ng wyizolowanego DNA. Warunki temperaturowe w poszczególnych etapach reakcji PCR zaprezentowano w tabeli VII.

Wstępna denaturacja		3 min. w 95 °C
Amplifikacja (30 cykli)	Denaturacja	30 s. w 95 °C
	Hybrydyzacja	30 s. w 60 °C
	Elongacja	50 s. w 72 °C
Końcowa elongacja		10 min. w 72 °C
Końcowa inkubacja		25 °C

**Tabela VII.** Warunki amplifikacji allelu *LCE3C\_LCE3B-del*

**Table VII.** Conditions of amplification of *LCE3C\_LCE3B-del* allele

Produkty PCR rozdzielono w 13% żelu poliakrylamidowym przy użyciu aparatu do elektroforezy poziomej Multiphor II (LKB) przy napięciu 1000 V, natężeniu 30 mA oraz mocy 15 W. Po rozdziale elektroforetycznym DNA barwiono azotanem srebra. Przykładowy wynik typowania *LCE3C\_LCE3B-del* przy użyciu opisywanej metody przedstawiono na rycinie 11.



**Rycina 11.** Ocena obecności i zygotywności allelu *LCE3C\_LCE3B-del*

- Ścieżka 1 – widoczne dwa fragmenty (240 bp, 199 bp), heterozygota *LCE3C\_LCE3B-del*;
- Ścieżka 2 – widoczny jeden fragment (240 bp), brak allelu *LCE3C\_LCE3B-del*;
- Ścieżka 3 – widoczny jeden fragment (199 bp), homozygota *LCE3C\_LCE3B-del/LCE3C\_LCE3B-del*

**Figure 11.** Detection and zygosity status verification of *LCE3C\_LCE3B-del* allele



- *Sample 1*- two fragments visible (240 bp, 199 bp), heterozygote with *LCE3C\_LCE3B-del*;
- *Sample 2* – one fragment visible (240 bp), lack of *LCE3C\_LCE3B-del* allele;
- *Sample 3* – one fragment visible (199 bp), homozygote *LCE3C\_LCE3B-del/LCE3C\_LCE3B-del*

### 3.2.2.5. Oznaczanie polimorfizmów *CSTA*

Do oznaczania polimorfizmów *CSTA*\**C* i *CSTA*\**T* wśród 148 osób z populacji badanej oraz 146 osób z grupy kontrolnej wykorzystano reakcję PCR-SSP.

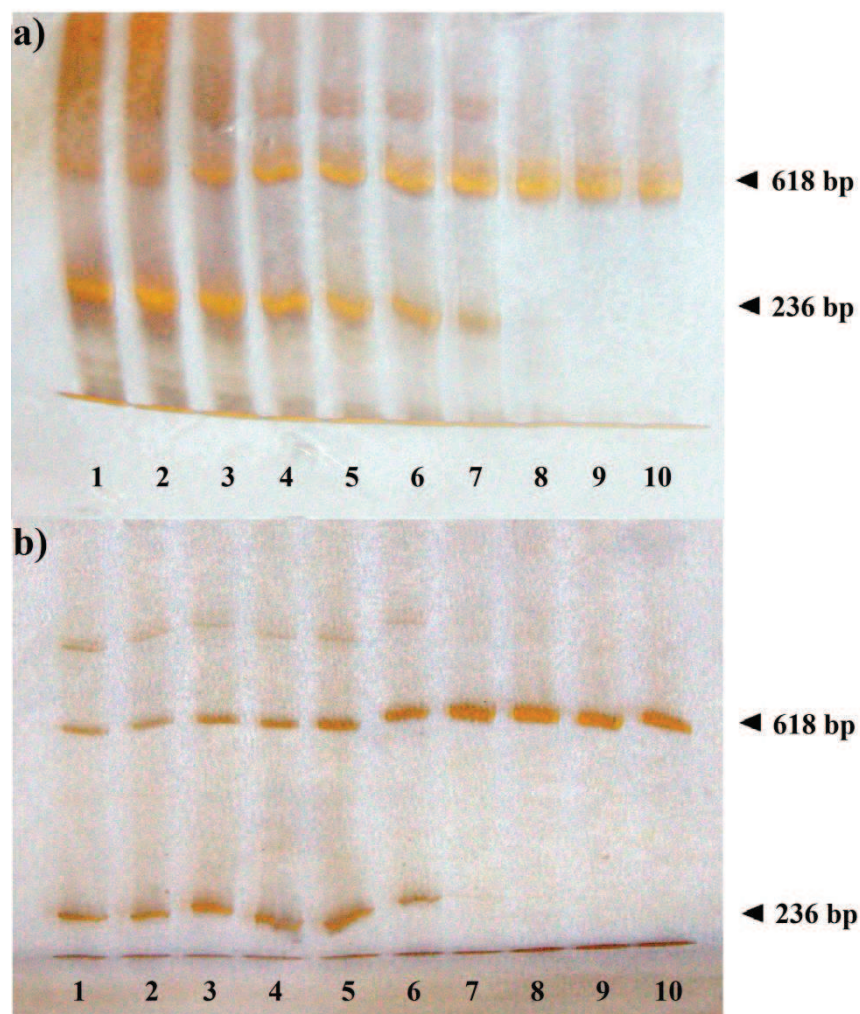
Do amplifikacji wykorzystano startery, których sekwencje przedstawiono w tabeli VIII.

Nazwa starteru	Sekwencja starteru
<b>CSTA-FC</b>	5'GAAGAAAAAACAATGAGACTGAC3'
<b>CSTA-FT</b>	5'GAAGAAAAAACAATGAGACTGAT3'
<b>CSTA-R</b>	5'TGAGAGTCCACCACTTG3'

**Tabela VIII.** Nazwy i sekwencje starterów wykorzystanych do oznaczania *CSTA*\**C* i *CSTA*\**T*

**Table VIII.** Primer names and sequences used for genotyping *CSTA*\**C* and *CSTA*\**T*

W następnym etapie wykonano optymalizację profilu temperaturowego dla reakcji hybrydyzacji starterów charakterystycznych dla badanego miejsca jak i wewnętrznej kontroli amplifikacji (Rycina 12ab).



**Rycina 12.** Wyniki optymalizacji profilu temperaturowego dla reakcji hybrydyzacji starterów wykorzystanych do typowania polimorfizmów *CSTA*:

- a) Gradient temperaturowy dla reakcji hybrydyzacji starterów wykorzystanych do oznaczania *CSTA*\**C*. Sygnał amplifikacji produktu powstałego przy użyciu starterów *CSTA*-*FC* i *CSTA*-*R* oraz kontroli wewnętrznej jest najsilniejszy dla ścieżki 5 (57,3 °C);
- b) Gradient temperaturowy dla reakcji hybrydyzacji starterów wykorzystanych do typowania *CSTA*\**T*. Sygnał amplifikacji produktu powstałego przy użyciu starterów *CSTA*-*FT* i *CSTA*-*R* oraz kontroli wewnętrznej jest najsilniejszy dla ścieżki 5 (57,3 °C)

**Figure 12.** The results of temperature profile optimization for a reaction of hybridization of the primers used for genotyping *CSTA* polymorphisms:

- a) *The temperature gradient for a reaction of hybridization of the primers used for genotyping  $CSTA^*C$ . The amplification signal for the product generated by  $CSTA$ -FC,  $CSTA$ -R primers and amplification control is the strongest in the sample 5 (57,3 °C);*
- b) *The temperature gradient for a reaction of hybridization of the primers used for genotyping  $CSTA^*T$ . The amplification signal for the product generated by  $CSTA$ -FT,  $CSTA$ -R primers and amplification control is the strongest in the samples 5 (57,3 °C)*

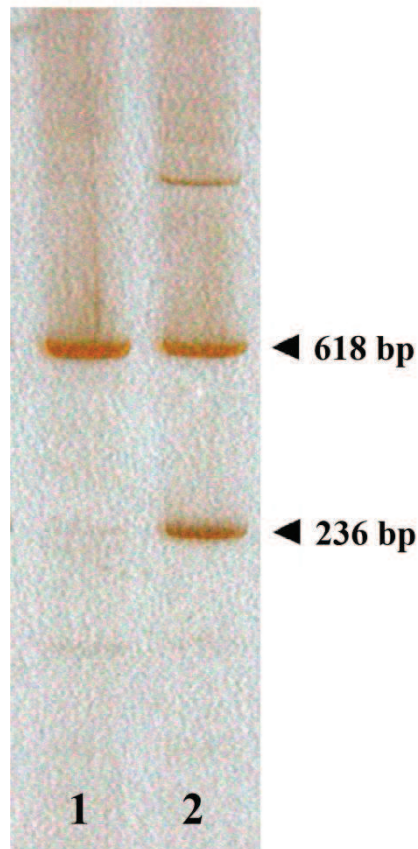
Amplifikację dla allelu  $CSTA^*C$  prowadzono w 13  $\mu$ l mieszaniny składającej się z buforu C dostarczonego w zestawie z polimerazą, 350  $\mu$ M dNTP, 750 nM starteru  $CSTA$ -FC, 750 nM starteru  $CSTA$ -R, po 125 nM starterów wewnętrznej kontroli amplifikacji, 0,875 u polimerazy *Taq* oraz 30 ng wyizolowanego DNA. Amplifikację dla allelu  $CSTA^*T$  prowadzono w 13  $\mu$ l mieszaniny składającej się z buforu C dostarczonego w zestawie z polimerazą, 350  $\mu$ M dNTP, 750 nM starteru  $CSTA$ -FT, 750 nM starteru  $CSTA$ -R, po 125 nM starterów wewnętrznej kontroli amplifikacji, 0,875 u polimerazy *Taq* oraz 30 ng wyizolowanego DNA. Warunki temperaturowe w poszczególnych etapach reakcji PCR wykorzystanej do oznaczania polimorfizmów  $CSTA^*C$  i  $CSTA^*T$  zaprezentowano w tabeli IX.

Wstępna denaturacja		<b>2 min. w 96 °C</b>
Amplifikacja (30 cykli)	<b>Denaturacja</b>	<b>25 s. w 96 °C</b>
	<b>Hybrydyzacja</b>	<b>60 s. w 57 °C</b>
	<b>Elongacja</b>	<b>2 min. w 72 °C</b>
Końcowa elongacja		<b>5 min. w 72 °C</b>
Końcowa inkubacja		<b>25 °C</b>

**Tabela IX.** Warunki amplifikacji alleli  $CSTA^*C$  i  $CSTA^*T$

**Table IX.** *Conditions of amplification of  $CSTA^*C$  and  $CSTA^*T$  alleles*

Produkty PCR rozdzielono w 13% żelu poliakrylamidowym przy użyciu aparatu do elektroforezy poziomej Multiphor II (LKB) przy napięciu 1000 V, natężeniu 30 mA oraz mocy 15 W. Po rozdziale elektroforetycznym DNA barwiono azotanem srebra. Przykładowy wynik typowania  $CSTA^*T$  przy użyciu opisywanej metody przedstawiono na rycinie 13.



**Rycina 13.** Przykładowy wynik typowania allelu *CSTA\**T**

- Ścieżka 1 – pozytywna kontrola amplifikacji (618 bp), brak allelu *CSTA\**T**;
- Ścieżka 2 – widoczne dwa fragmenty, allel *CSTA\**T** obecny (236 bp)

**Figure 13.** *The example of *CSTA\**T** allele genotyping*

- *Sample 1 - positive control of amplification (618 bp), lack of *CSTA\**T** allele;*
- *Sample 2 - two fragments visible, *CSTA\**T** allele present (236 bp)*

### 3.2.2.6. Oznaczanie polimorfizmów *ERAP1*

Do typowania polimorfizmów *ERAP1\**C** i *ERAP1\**G** wśród 148 chorych oraz 146 osób z grupy kontrolnej zastosowano reakcję PCR-SSP.

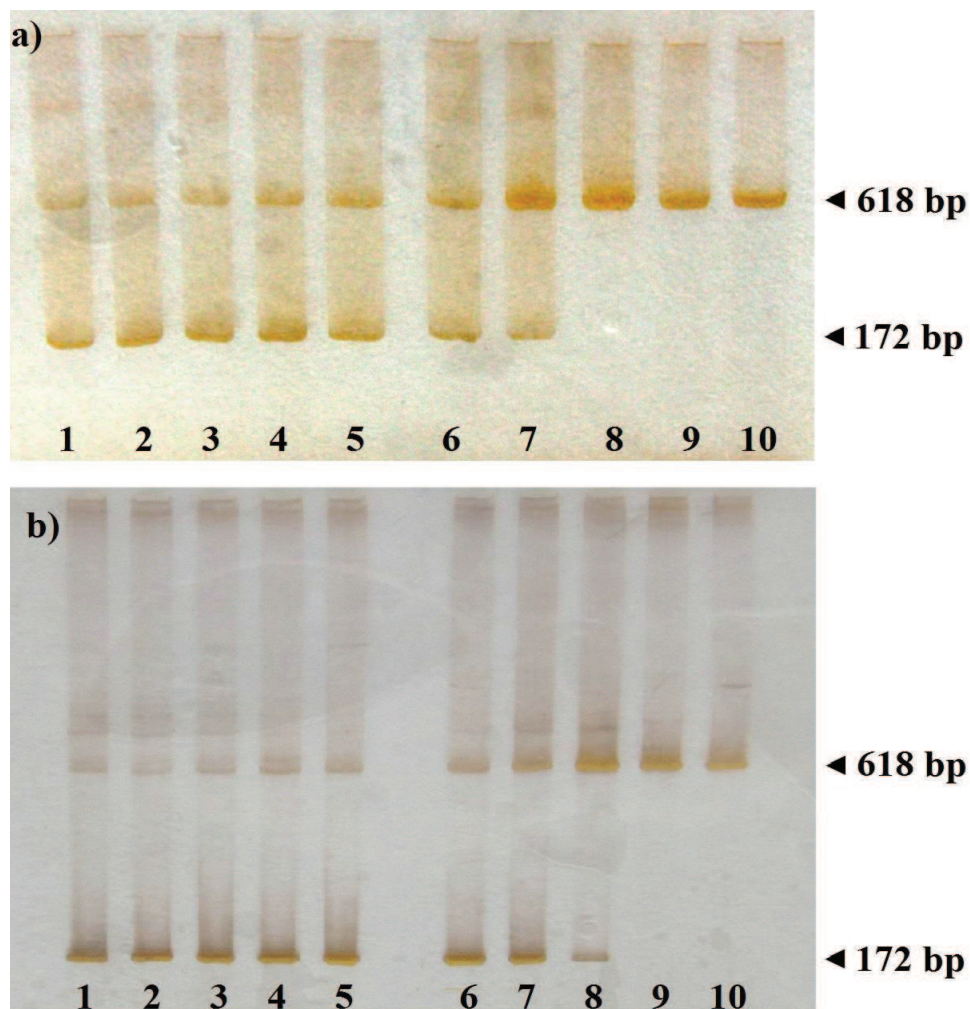
Do amplifikacji wykorzystano trzy startery, których sekwencje przedstawiono w tabeli X.

Nazwa starteru	Sekwencja starteru
<b>ERAP1-FC</b>	5'GCAGTGCAATTTGCTCCTAAC3'
<b>ERAP1-FG</b>	5'GCAGTGCAATTTGCTCCTAAG3'
<b>ERAP1-R</b>	5'TGGGGAACCACGAAAGTAG3'

**Tabela X.** Nazwy i sekwencje starterów wykorzystanych do typowania *ERAP1*\*C i *ERAP1*\*G

**Table X.** Primer names and sequences used for genotyping *ERAP1*\*C and *ERAP1*\*G

W kolejnym etapie zoptymalizowano program temperaturowy dla reakcji hybrydyzacji starterów charakterystycznych dla badanego miejsca jak i wewnętrznej kontroli amplifikacji (Rycina 14ab).



**Rycina 14.** Wyniki optymalizacji programu temperaturowego dla reakcji hybrydyzacji starterów wykorzystanych do typowania polimorfizmów *ERAP1*:

- a) Gradient temperaturowy dla reakcji hybrydyzacji starterów wykorzystanych do typowania *ERAP1*\*C. Sygnał amplifikacji produktu powstałego przy użyciu starterów ERAP1-FC i ERAP1-R oraz kontroli wewnętrznej jest najsilniejszy dla ścieżki 7 (62,2 °C);
- b) Gradient temperaturowy dla reakcji hybrydyzacji starterów wykorzystanych do typowania *ERAP1*\*G. Sygnał amplifikacji produktu powstałego przy użyciu starterów ERAP1-FG i ERAP1-R oraz kontroli wewnętrznej jest najsilniejszy dla ścieżek 7 (62,2 °C) i 8 (64,4 °C)

**Figure 14.** The results of temperature programme optimization for a reaction of hybridization of the primers used for genotyping *ERAP1* polymorphisms:

- a) The temperature gradient for a reaction of hybridization of the primers used for genotyping *ERAP1*\*C. The amplification signal for the product generated by ERAP1-



*FC, ERAP1-R primers and amplification control is the strongest in the sample 7 (62,2 °C);*

- b) The temperature gradient for a reaction of hybridization of the primers used for genotyping ERAP1\*G. The amplification signal for the product generated by ERAP1-FG, ERAP1-R primers and amplification control is the strongest in the samples 7 (62,2 °C) and 8 (64,4 °C)*

Amplifikację allelu *ERAP1\*C* prowadzono w 13 µl mieszaniny składającej się z buforu C dostarczonego w zestawie z polimerazą, 350 µM dNTP, 750 nM starteru ERAP1-FC, 750 nM starteru ERAP1-R, po 125 nM starterów wewnętrznej kontroli amplifikacji, 0,875 u polimerazy *Taq* oraz 30 ng wyizolowanego DNA. Amplifikację allelu *ERAP1\*G* prowadzono w 13 µl mieszaniny składającej się z buforu C dostarczonego w zestawie z polimerazą, 350 µM dNTP, 750 nM starteru ERAP1-FG, 750 nM starteru ERAP1-R, po 125 nM starterów wewnętrznej kontroli amplifikacji, 0,875 u polimerazy *Taq* oraz 30 ng wyizolowanego DNA. Warunki temperaturowe w poszczególnych etapach reakcji PCR dla polimorfizmów *ERAP1\*C* oraz *ERAP1\*G* zaprezentowano w tabelach XI i XII.

Wstępna denaturacja		<b>2 min. w 96 °C</b>
Amplifikacja (30 cykli)	<b>Denaturacja</b>	<b>25 s. w 96 °C</b>
	<b>Hybrydyzacja</b>	<b>60 s. w 62 °C</b>
	<b>Elongacja</b>	<b>2 min. w 72 °C</b>
Końcowa elongacja		<b>5 min. w 72 °C</b>
Końcowa inkubacja		<b>25 °C</b>

**Tabela XI.** Warunki amplifikacji allelu *ERAP1\*C*

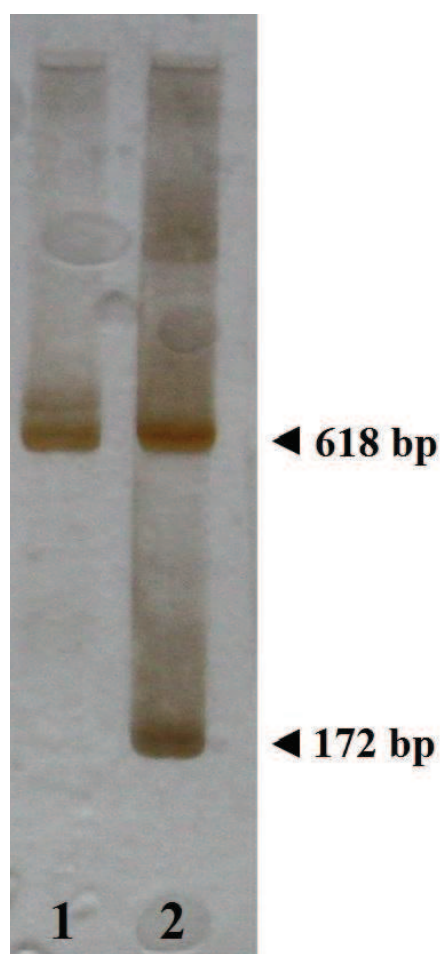
*Table XI. Conditions of amplification of ERAP1\*C allele*

	Wstępna denaturacja	2 min. w 96 °C
Amplifikacja (30 cykli)	Denaturacja	25 s. w 96 °C
	Hybrydyzacja	60 s. w 63 °C
	Elongacja	2 min. w 72 °C
	Końcowa elongacja	5 min. w 72 °C
	Końcowa inkubacja	25 °C

**Tabela XII.** Warunki amplifikacji allelu *ERAPI\*G*

**Table XII.** Conditions of amplification of *ERAPI\*G* allele

Produkty PCR rozdzielono w 13% żelu poliakrylamidowym przy użyciu aparatu do elektroforezy poziomej Multiphor II (LKB) przy napięciu 1000 V, natężeniu 30 mA oraz mocy 15 W. Po rozdziale elektroforetycznym DNA barwiono azotanem srebra. Przykładowy wynik typowania *ERAPI\*G* przy użyciu opisywanej metody przedstawiono na rycinie 15.





**Rycina 15.** Przykładowy wynik typowania allelu *ERAP1\*G*

- Ścieżka 1 – pozytywna kontrola amplifikacji (618 bp), brak allelu *ERAP1\*G*;
- Ścieżka 2 – widoczne dwa fragmenty, allel *ERAP1\*G* obecny (172 bp)

**Figure 15.** *The example of ERAP1\*G allele genotyping*

- *Sample 1 - positive control of amplification (618 bp), lack of ERAP1\*G allele;*
- *Sample 2 - two fragments visible, ERAP1\*G allele present (172 bp)*

### 3.2.2.7. Oznaczanie polimorfizmów *ZAP70*

Do typowania polimorfizmów *ZAP70\*A* i *ZAP70\*G* u wszystkich osób z populacji badanej oraz grupy kontrolnej zastosowano reakcję PCR-SSP.

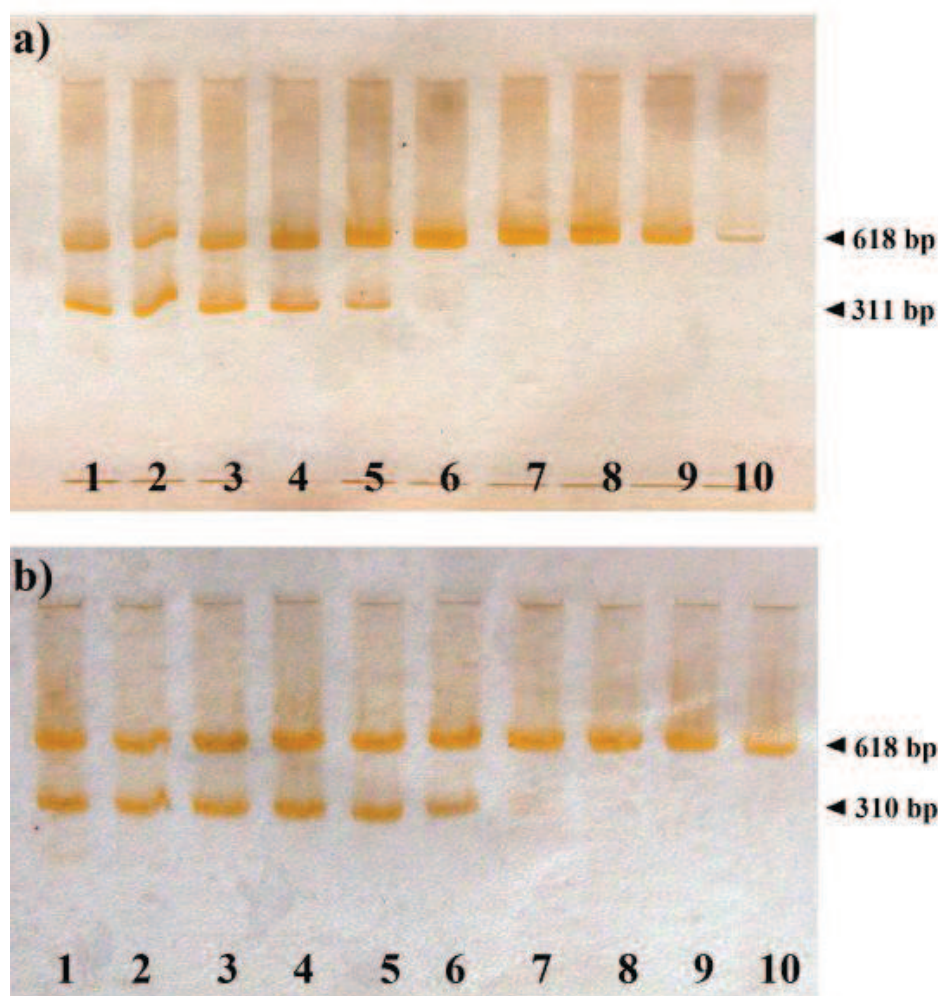
W reakcji amplifikacji wykorzystano trzy startery, których sekwencje przedstawiono w tabeli XIII.

Nazwa starteru	Sekwencja starteru
<b>ZAP70-FA</b>	5'CCTTCGGGGAGATATTTTCA3'
<b>ZAP70-FG</b>	5'CTTCGGGGAGATATTTTCCG3'
<b>ZAP70-R</b>	5'GCTGGACGCTCATTCTT3'

**Tabela XIII.** Nazwy i sekwencje starterów wykorzystanych do typowania *ZAP70\*A* i *ZAP70\*G*

**Table XIII.** *Primer names and sequences used for genotyping ZAP70\*A i ZAP70\*G*

Temperaturę dla reakcji hybrydyzacji starterów allelospecyficzných jak i wewnętrznej kontroli amplifikacji poddano optymalizacji (Rycina 16ab).



**Rycina 16.** Wyniki optymalizacji temperatury dla reakcji hybrydyzacji starterów wykorzystanych do typowania polimorfizmów *ZAP70*:

- a) Gradient temperaturowy dla reakcji hybrydyzacji starterów wykorzystanych do typowania *ZAP70\*A*. Sygnał amplifikacji produktu powstałego przy użyciu starterów *ZAP70-FA* i *ZAP70-R* oraz wewnętrznej kontroli amplifikacji jest najsilniejszy dla ścieżek 4 (54,9 °C) i 5 (57,3 °C);
- b) Gradient temperaturowy dla reakcji hybrydyzacji starterów wykorzystanych do typowania *ZAP70\*G*. Sygnał amplifikacji produktu powstałego przy użyciu starterów *ZAP70-FG* i *ZAP70-R* oraz wewnętrznej kontroli amplifikacji jest najsilniejszy dla ścieżki 6 (59,7 °C)

**Figure 16.** *The results of temperature optimization for a reaction of hybridization of the primers used for genotyping ZAP70 polymorphisms:*

- a) *The temperature gradient for a reaction of hybridization of the primers used for genotyping ZAP70\*A. The amplification signal for the product generated by ZAP70-FA, ZAP70-R primers and amplification control is the strongest in the samples 4 (54,9 °C) and 5 (57,3 °C);*
- b) *The temperature gradient for a reaction of hybridization of the primers used for genotyping ZAP70\*G. The amplification signal for the product generated by ZAP70-FG, ZAP70-R primers and amplification control is the strongest in the sample 6 (59,7 °C)*

Amplifikację allelu *ZAP70\*A* prowadzono w 13 µl mieszaniny składającej się z buforu C dostarczonego w zestawie z polimerazą, 350 µM dNTP, 750 nM starteru ZAP70-FA, 750 nM starteru ZAP70-R, po 125 nM starterów wewnętrznej kontroli amplifikacji, 0,875 u polimerazy *Taq* oraz 30 ng wyizolowanego DNA. Amplifikację allelu *ZAP70\*G* prowadzono w 13 µl mieszaniny składającej się z buforu C dostarczonego w zestawie z polimerazą, 350 µM dNTP, 750 nM starteru ZAP70-FG, 750 nM starteru ZAP70-R, po 125 nM starterów wewnętrznej kontroli amplifikacji, 0,875 u polimerazy *Taq* oraz 30 ng wyizolowanego DNA. Warunki temperaturowe w poszczególnych etapach reakcji PCR dla polimorfizmów *ZAP70\*A* oraz *ZAP70\*G* zaprezentowano w tabelach XVI i XVII.

	Wstępna denaturacja	2 min. w 96 °C
Amplifikacja (30 cykli)	Denaturacja	25 s. w 96 °C
	Hybrydyzacja	60 s. w 56 °C
	Elongacja	2 min. w 72 °C
	Końcowa elongacja	5 min. w 72 °C
	Końcowa inkubacja	25 °C

**Tabela XIV.** Warunki amplifikacji allelu *ZAP70\*A*

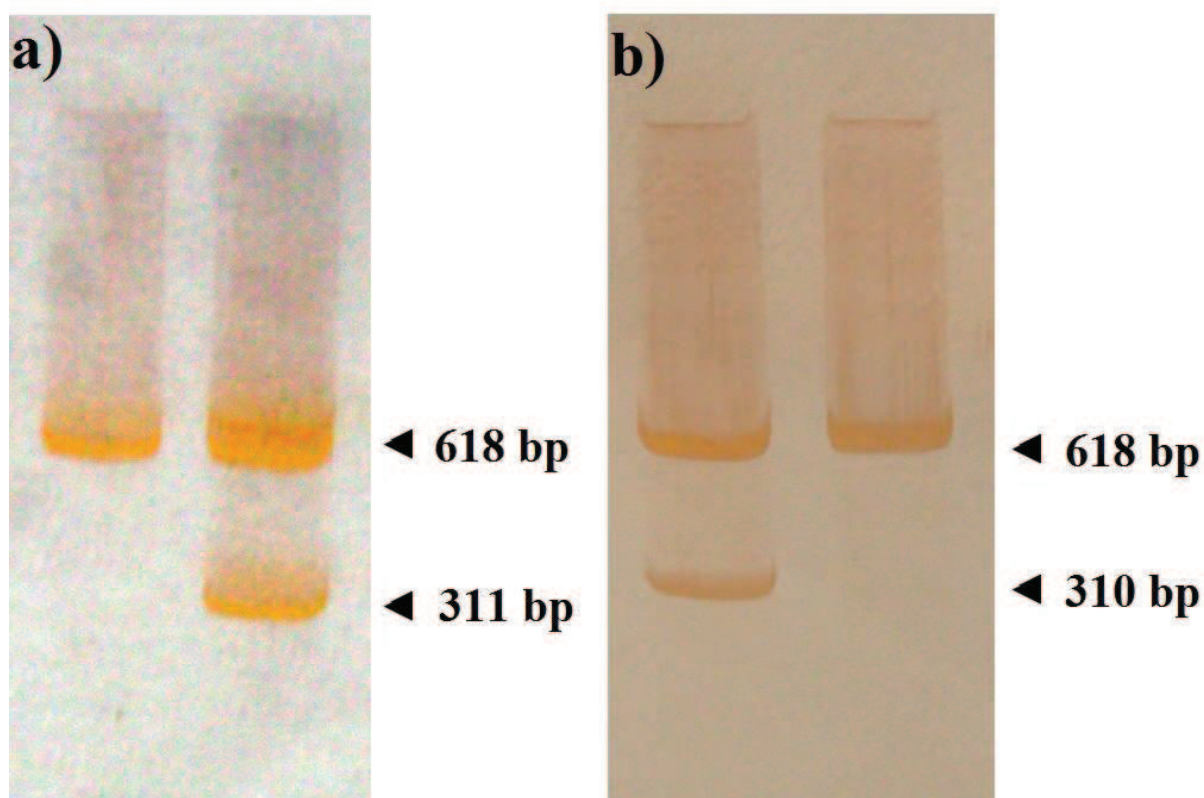
*Table XIV. Conditions of amplification of ZAP70\*A allele*

Wstępna denaturacja		2 min. w 96 °C
Amplifikacja (30 cykli)	Denaturacja	25 s. w 96 °C
	Hybrydyzacja	60 s. w 59 °C
	Elongacja	2 min. w 72 °C
Końcowa elongacja		5 min. w 72 °C
Końcowa inkubacja		25 °C

**Tabela XV.** Warunki amplifikacji allelu *ZAP70\*G*

**Table XV.** Conditions of amplification of *ZAP70\*G* allele

Produkty PCR rozdzielono w 13% żelu poliakrylamidowym przy użyciu aparatu do elektroforezy poziomej Multiphor II (LKB) przy napięciu 1000 V, natężeniu 30 mA oraz mocy 15 W. Po rozdziale elektroforetycznym DNA barwiono azotanem srebra. Przykładowy wynik typowania polimorfizmów *ZAP70* przy użyciu opisanej metody przedstawiono na rycinie 17ab.



### Rycina 17. Przykładowy wynik typowania polimorfizmów *ZAP70*

- a) Ocena obecności allelu *ZAP70\*A*:
- Ścieżka 1 – pozytywna kontrola amplifikacji (618 bp), brak allelu *ZAP70\*A*;
  - Ścieżka 2 – widoczne dwa fragmenty, allel *ZAP70\*A* obecny (311 bp)
- b) Ocena obecności allelu *ZAP70\*G*:
- Ścieżka 1 – widoczne dwa fragmenty, allel *ZAP70\*G* obecny (310 bp);
  - Ścieżka 2 – pozytywna kontrola amplifikacji (618 bp), brak allelu *ZAP70\*G*

**Figure 17.** The example of *ZAP70* polymorphisms genotyping.

- a) Detection of *ZAP70\*A* allele:
- Sample 1 - positive control of amplification (618 bp), lack of *ZAP70\*A* allele;
  - Sample 2 - two fragments visible, *ZAP70\*A* allele present (311 bp)
- b) Detection of *ZAP70\*G* allele:
- Sample 1 - two fragments visible, *ZAP70\*G* allele present (310 bp);
  - Sample 2 - positive control of amplification (618 bp), lack of *ZAP70\*G* allele

### 3.2.3 Metody statystyczne

Częstości występowania poszczególnych alleli i genotypów *HLA-C*, *LCE3C\_LCE3B*, *CSTA*, *ERAPI* i *ZAP70* w grupie chorych na łuszczycę oraz w populacji osób zdrowych porównywano przy użyciu dokładnego testu Fishera dla tabel kontyngencji 2x2 lub testu chi-kwadrat dla tabel większych. Dla tabel 2x2 preferowano dokładny test Fishera, ponieważ wyznacza on zawsze dokładną wartość P, natomiast test chi-kwadrat lepszą lub gorszą jej aproksymację. Analizy interakcji poszczególnych markerów genetycznych z *HLA-Cw\*06* dokonano przy użyciu dokładnego testu Fishera.

Do korelacji średnich wartości wskaźnika PASI z badanymi genotypami wykorzystano test U Manna Whitneya.

Przy pomocy względnego ryzyka (RR) oceniono prawdopodobieństwo rozwoju łuszczycy u osoby posiadającej dany marker genetyczny oraz prawdopodobieństwo wystąpienia tego schorzenia u osoby nie będącej nosicielem tego markera. Wartość RR informuje, ile razy częściej choroba występuje u osób z danym wariantem genetycznym w stosunku do osób bez niego. Iloraz szans (OR) określa związek badanego markera z chorobą.

Wartość 1 mówi o braku różnic, wartość poniżej 1 określa wyższą częstość allele u osób zdrowych niż u osób chorych, zaś wartość powyżej 1 świadczy o częstszym występowaniu allele u chorych w stosunku do osób zdrowych, co wskazuje na jego związek z rozwojem choroby.

Do obliczeń wartości GRS wykorzystano allele predysponujące do rozwoju łuszczycy o wartościach OR i RR większych niż 1 niezależnie od tego, czy zaobserwowany związek z łuszczycą był statystycznie istotny. Były to allele *HLA-Cw\*06*, *ERAPI\*G*, *ZAP70\*G* oraz *LCE3C\_LCE3B-del*. Do obliczeń nie włączono żadnego z alleli genu *CSTA*, ponieważ nie wykazywały one wpływu na ryzyko rozwoju schorzenia. Oszacowanie wartości GRS oparto na wynikach uzyskanych od osób, u których oznaczono pełny genotyp 4 wyżej wymienionych polimorfizmów (127 pacjentów i 100 osób z grupy kontrolnej). GRS dla badanych osób określono dwoma sposobami według metody opisanej przez zespół Chen - jako sumę liczby alleli predysponujących do rozwoju łuszczycy („*count GRS*”, cGRS) oraz jako sumę liczby alleli predysponujących do rozwoju łuszczycy, pomnożonej przez logarytm naturalny z ilorazu szans ( $\ln(\text{OR})$ ) dla każdego z 4 genów („*weighted GRS*”, wGRS) [100].

Obliczenia statystyczne zostały przeprowadzone przy użyciu pakietu statystycznego STATISTICA 12 (StatSoft Inc.) oraz arkusza kalkulacyjnego Excel. Wyniki analiz zostały przedstawione w postaci rycin i tabel.



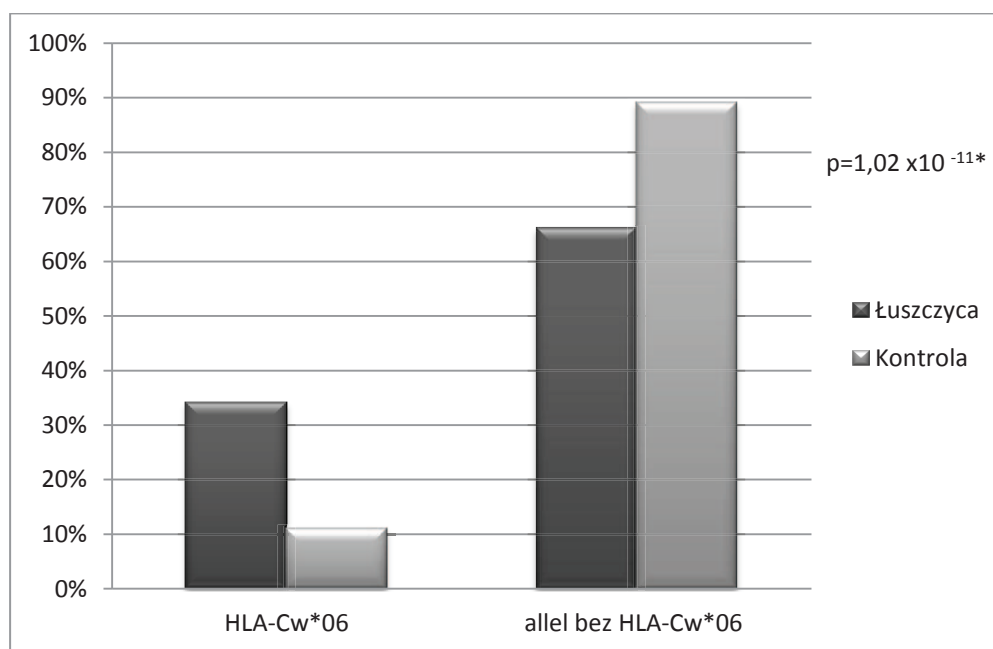
## 4. Wyniki

### 4.1 Częstość występowania *HLA-Cw\*06* u chorych na łuszczycę

W grupie osób chorych oznaczono 296 alleli po kątem obecności *HLA-Cw\*06*. Stwierdzono 101 wariantów z allelem *HLA-Cw\*06* (34,1%) oraz 195 wariantów bez *HLA-Cw\*06* (65,9%). W grupie kontrolnej oznaczono 292 allele, co pozwoliło zaobserwować 32 warianty posiadające *HLA-Cw\*06* (11,0%) oraz 260 nie posiadających *HLA-Cw\*06* (89,0%).

Wykazano istotnie częstsze występowanie allelu *HLA-Cw\*06* w grupie chorych na łuszczycę w porównaniu z osobami z grupy kontrolnej ( $p=1,02 \times 10^{-11}$ ).

Porównanie częstości występowania (%) alleli *HLA-Cw\*06* oraz alleli bez *HLA-Cw\*06* w obu grupach przedstawiono na rycinie 18.



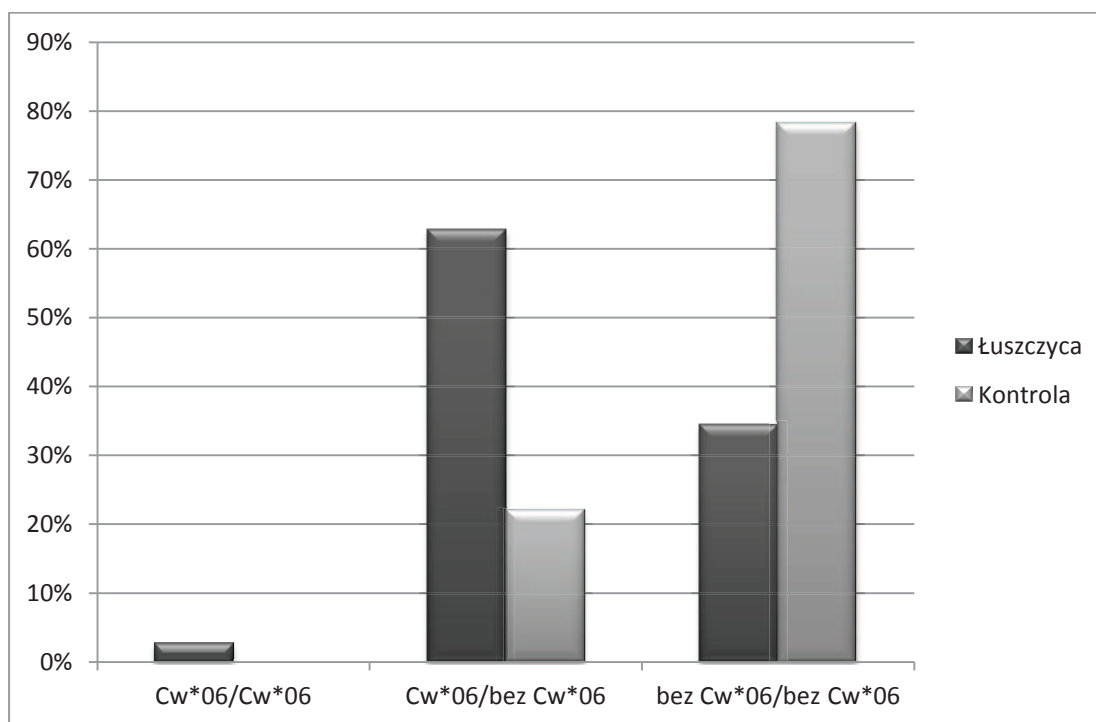
\* $p=1,02 \times 10^{-11}$ , dokładny test Fishera

**Rycina 18.** Porównanie częstości występowania (%) alleli *HLA-Cw\*06* oraz alleli bez *HLA-Cw\*06* w populacji badanej ( $n=148$ ) oraz kontrolnej ( $n=146$ )

**Figure 18.** Comparison of frequencies (%) of alleles with *HLA-Cw\*06* and without *HLA-Cw\*06* in the study population ( $n=148$ ) and controls ( $n=146$ )

W populacji osób chorych na łuszczycę 4 osoby badane (2,7%) były homozygotami *Cw\*06/Cw\*06*, 93 badanych (62,8%) było heterozygotami z genotypem *Cw\*06*/allel bez *HLA-Cw\*06*, natomiast 51 chorych (34,5%) było homozygotami posiadającymi allele bez *HLA-Cw\*06*. W przypadku grupy kontrolnej 32 osoby (21,9%) były heterozygotami z genotypem *Cw\*06*/allel bez *HLA-Cw\*06*, natomiast pozostałe 114 osób stanowiły homozygoty posiadające allele bez *HLA-Cw\*06*. W populacji kontrolnej nie stwierdzono homozygot *Cw\*06/Cw\*06*.

Na rycinie 19 przedstawiono częstości występowania (%) trzech różnych genotypów *HLA-C* w populacji chorych na łuszczycę oraz w grupie kontrolnej.



**Rycina 19.** Częstości występowania (%) trzech różnych genotypów *HLA-C* w populacji chorych na łuszczycę (n=148) i w grupie kontrolnej (n=146)

**Figure 19.** Frequencies (%) of three different *HLA-C* genotypes in the population of patients with psoriasis (n=148) and controls (n=146)



Wykazano statystycznie istotne różnice między chorymi a osobami z grupy kontrolnej w częstościach genotypów *HLA-C*. W populacji chorych na łuszczycę statystycznie częściej obserwowano genotyp heterozygotyczny (Tabela XVI).

W grupie chorych na łuszczycę oraz w populacji kontrolnej porównano częstość występowania allelu *HLA-Cw\*06* w układzie homo-, jak i heterozygotycznym. W grupie badanej 97 chorych (65,5%) posiadało allel *Cw\*06*, natomiast 51 chorych (34,5%) nie posiadało allelu *Cw\*06*. Z kolei w grupie kontrolnej 32 osoby (21,9%) posiadały allel *Cw\*06*, natomiast u 114 osób (78,1%) nie stwierdzono jego obecności.

Gen	Genotyp	Częstość – łuszczycyca	Częstość – kontrola	Test statystyczny	Wartość p
<b>HLA-C</b>	Cw*06/Cw*06	0,027	0,000	test chi- kwadrat	0,000000
	Cw*06/inny	0,628	0,219		
	inny/inny	0,345	0,781		
	heterozygoty	0,628	0,219	dokładny	8,09 x 10 <sup>-13</sup>
	homozygoty	0,372	0,781	test Fishera	
	Cw*06 (+)	0,655	0,219	dokładny	2,55 x 10 <sup>-14</sup>
	Cw*06 (-)	0,345	0,781	test Fishera	
	inny (+)	0,973	1,000	dokładny	0,122
inny (-)	0,027	0,000	test Fishera		

**Tabela XVI.** Porównanie częstości genotypów *HLA-C* w populacji chorych na łuszczycę (n=148) i w grupie kontrolnej (n=146)

*Table XVI. Comparison of HLA-C genotypes frequencies in the population of patients with psoriasis (n=148) and controls (n=146)*

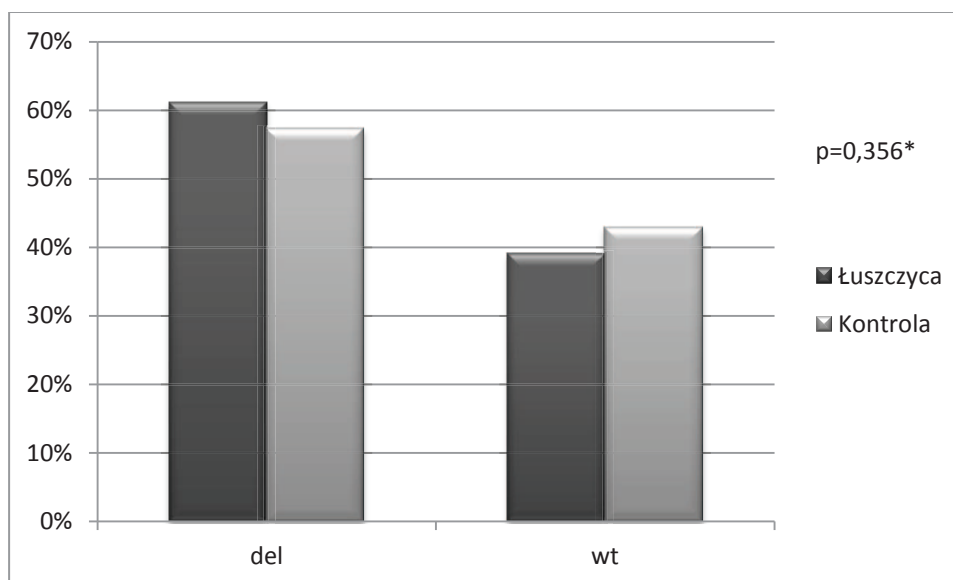
#### 4.2 Częstość występowania *LCE3C\_LCE3B-del* u chorych na łuszczycę

W grupie osób chorych oznaczono 296 alleli po kątem obecności *LCE3C\_LCE3B-del*. Stwierdzono 181 wariantów z delecją (61,1%) oraz 115 wariantów bez delecji (38,9%). Natomiast w grupie kontrolnej oznaczono 292 allele, co pozwoliło zaobserwować 167 wariantów posiadających *LCE3C\_LCE3B-del* (57,2%) oraz 125 nie

posiadających *LCE3C\_LCE3B-del* (42,8%).

Nie wykazano statystycznie istotnej różnicy między chorymi na łuszczycę a osobami z grupy kontrolnej w częstościach alleli z *LCE3C\_LCE3B-del* ( $p=0,356$ ).

Porównanie częstości występowania (%) alleli z delecją oraz bez delecji w obu grupach przedstawia rycina 20.



\* $p=0,356$ , dokładny test Fishera

**del** - wariant z delecją *LCE3B* i *LCE3C*

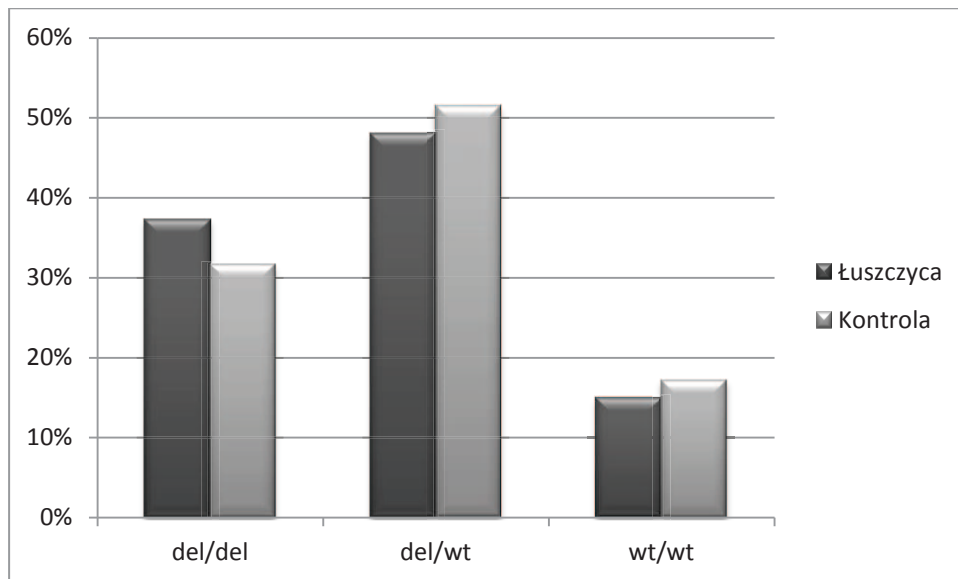
**wt** - wariant bez delecji *LCE3B* i *LCE3C*

**Rycina 20.** Porównanie częstości występowania (%) alleli z *LCE3C\_LCE3B-del* oraz alleli bez *LCE3C\_LCE3B-del* w populacji badanej ( $n=148$ ) oraz kontrolnej ( $n=146$ )

**Figure 20.** Comparison of frequencies (%) of alleles with *LCE3C\_LCE3B-del* and without *LCE3C\_LCE3B-del* in the study population ( $n=148$ ) and controls ( $n=146$ )

W populacji osób chorych 55 osób badanych (37,2%) było homozygotami del/del, 71 badanych (48%) było heterozygotami z genotypem del/wt, natomiast 22 chorych (14,9%) posiadało genotyp homozygotyczny bez delecji (wt/wt). W przypadku grupy kontrolnej 46 osób (31,51%) posiadało genotyp del/del, 75 osób (51,4%) było heterozygotami z genotypem del/wt, natomiast pozostałe 25 osób (17,12%) stanowiły homozygoty nie posiadające wariantu z delecją (wt/wt).

Rycina 21 przedstawia częstości występowania (%) trzech różnych genotypów *LCE3C\_LCE3B* w populacji chorych na łuszczycę oraz w grupie kontrolnej.



**wt** - wariant bez delecji *LCE3B* i *LCE3C*

**del** - wariant z delecją *LCE3B* i *LCE3C*

**Rycina 21.** Częstości występowania (%) trzech różnych genotypów *LCE3C\_LCE3B* w populacji chorych na łuszczycę (n=148) i w grupie kontrolnej (n=146)

**Figure 21.** Frequencies (%) of three different *LCE3C\_LCE3B* genotypes in the population of patients with psoriasis (n=148) and controls (n=146)

Nie wykazano statystycznie istotnych różnic między chorymi a osobami z grupy kontrolnej w częstościach genotypów *LCE3C\_LCE3B* (Tabela XVII).

W grupie chorych na łuszczycę oraz w populacji kontrolnej porównano częstość występowania delecji genów *LCE3B* i *LCE3C* w układzie homo-, jak i heterozygotycznym. W grupie badanej 126 chorych (85,2%) posiadało genotyp z *LCE3C\_LCE3B-del*, natomiast 22 chorych (14,9%) posiadało dwie kopie genów *LCE3B* i *LCE3C*. W grupie kontrolnej 121 osób (82,9%) posiadało genotyp z delecją w układzie homo- i heterozygotycznym, natomiast u 25 osób (17,1%) nie stwierdzono delecji w genotypach.

Gen	Genotyp	Częstość – łuszczyca	Częstość – kontrola	Test statystyczny	Wartość p
<b>LCE3C_LCE3B</b>	del/del	0,372	0,315	test chi- kwadrat	0,580
	del/wt	0,480	0,514		
	wt/wt	0,149	0,171		
	heterozygoty	0,480	0,514	dokładny	0,641
	homozygoty	0,521	0,486	test Fishera	
	del (+)	0,852	0,829	dokładny	0,635
	del (-)	0,149	0,171	test Fishera	
	wt (+)	0,629	0,685	dokładny	0,328
wt (-)	0,372	0,315	test Fishera		

**Tabela XVII.** Porównanie częstości genotypów *LCE3C\_LCE3B* w populacji chorych na łuszczycę (n=148) i w grupie kontrolnej (n=146)

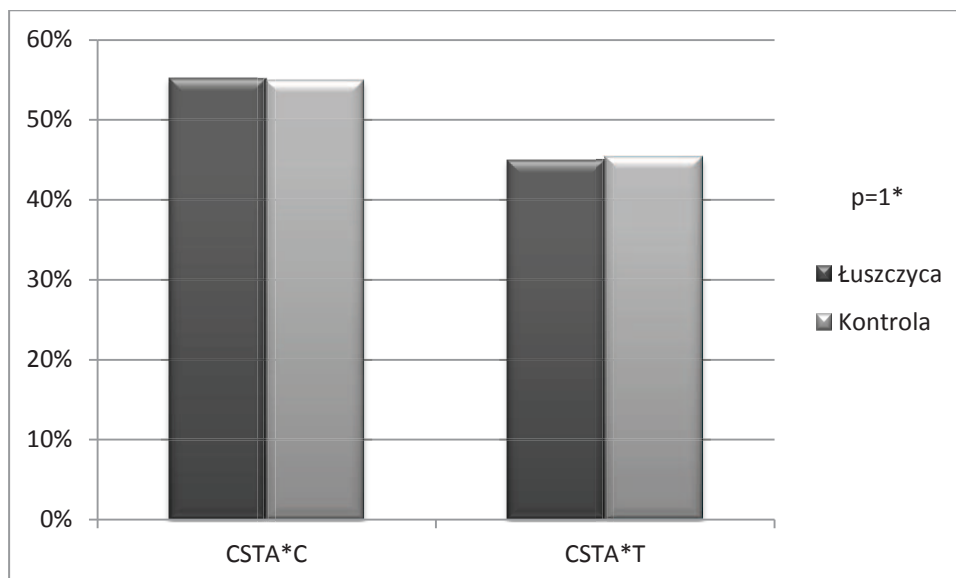
**Table XVII.** Comparison of *LCE3C\_LCE3B* genotypes frequencies in the population of patients with psoriasis (n=148) and controls (n=146)

#### 4.3 Częstość występowania alleli genu *CSTA* u chorych na łuszczycę

W grupie osób chorych oznaczono 292 allele po kątem obecności *CSTA\*C* i *CSTA\*T*. Stwierdzono 161 wariantów z *CSTA\*C* (55,1%) oraz 131 wariantów z *CSTA\*T* (44,9%). Z kolei w grupie kontrolnej oznaczono 292 allele, co pozwoliło zaobserwować 160 wariantów posiadających *CSTA\*C* (54,8%) oraz 132 warianty z *CSTA\*T* (45,2%).

Nie wykazano statystycznie istotnej różnicy między chorymi na łuszczycę a osobami z grupy kontrolnej w częstościach alleli genu *CSTA* (p=1).

Porównanie częstości występowania (%) alleli *CSTA\*C* i *CSTA\*T* w obu grupach przedstawia rycina 22.



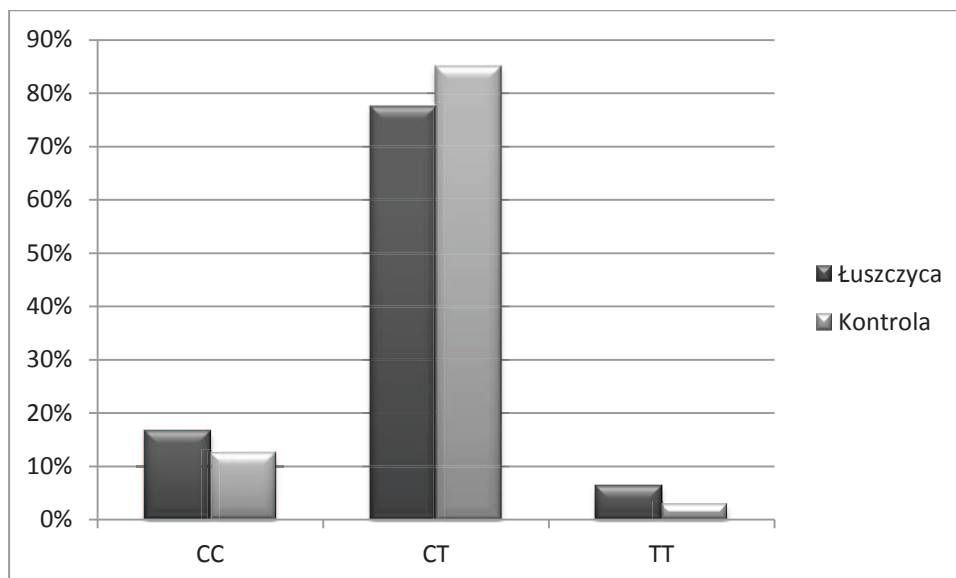
\*p=1, dokładny test Fishera

**Rycina 22.** Porównanie częstości występowania (%) alleli *CSTA*\*C i *CSTA*\*T w populacji chorych na łuszczycę (n=146) oraz w grupie kontrolnej (n=146)

**Figure 22.** Comparison of frequencies (%) of *CSTA*\*C and *CSTA*\*T alleles in the psoriatic population (n=146) and controls (n=146)

W populacji chorych na łuszczycę 24 osoby badane (16,4%) były homozygotami CC, 113 badanych (77,4%) było heterozygotami z genotypem CT, natomiast 9 chorych (6,2%) posiadało genotyp homozygotyczny TT. W przypadku grupy kontrolnej 18 osób (12,3%) posiadało genotyp CC, 124 osoby (84,9%) były heterozygotami z genotypem CT, natomiast pozostałe 4 osoby (2,7%) stanowiły homozygoty TT.

Rycina 23 przedstawia częstości występowania (%) trzech różnych genotypów *CSTA* w populacji chorych na łuszczycę oraz w grupie kontrolnej.



CC – homozygota posiadająca obie kopie *CSTA*\*C

CT – heterozygota posiadająca *CSTA*\*C i *CSTA*\*T

TT - homozygota posiadająca obie kopie *CSTA*\*T

**Rycina 23.** Częstości występowania (%) trzech różnych genotypów *CSTA* w populacji chorych na łuszczycę (n=146) i w grupie kontrolnej (n=146)

**Figure 23.** Frequencies (%) of three different *CSTA* genotypes in the population of patients with psoriasis (n=146) and controls (n=146)

Nie wykazano statystycznie istotnych różnic między chorymi na łuszczycę a osobami z grupy kontrolnej w częstościach genotypów *CSTA* (Tabela XVIII).

W grupie chorych na łuszczycę oraz w populacji kontrolnej porównano częstości występowania alleli *CSTA*\*C i *CSTA*\*T w układzie homo-, jak i heterozygotycznym. W grupie badanej 137 chorych (93,8%) posiadało allel C genu *CSTA*, a 9 chorych (6,2%) nie posiadało żadnej kopii *CSTA*\*C. 122 chorych na łuszczycę (83,6%) posiadało przynajmniej jedną kopię *CSTA*\*T, a u 24 chorych (16,4%) nie stwierdzono obecności allelu T genu *CSTA*. W grupie kontrolnej 142 osoby (97,2%) posiadały genotyp z *CSTA*\*C w układzie homo- i heterozygotycznym, 4 osoby (2,7%) nie posiadały allelu C, natomiast u 128 osób (87,6%) stwierdzono allel T, a u pozostałych 18 osób (12,3%) *CSTA*\*T nie zostało wykryte.

Gen	Genotyp	Częstość – łuszczyca	Częstość – kontrola	Test statystyczny	Wartość p
<b>CSTA</b>	CC	0,164	0,123	test chi- kwadrat	0,193
	CT	0,774	0,849		
	TT	0,062	0,027		
	heterozygoty	0,774	0,849	dokładny test Fishera	0,134
	homozygoty	0,226	0,150		
	C (+)	0,938	0,972	dokładny test Fishera	0,256
	C (-)	0,062	0,027		
	T (+)	0,836	0,876	dokładny test Fishera	0,405
T (-)	0,164	0,123			

**Tabela XVIII.** Porównanie częstości genotypów *CSTA* w populacji chorych na łuszczycę (n=146) i w grupie kontrolnej (n=146)

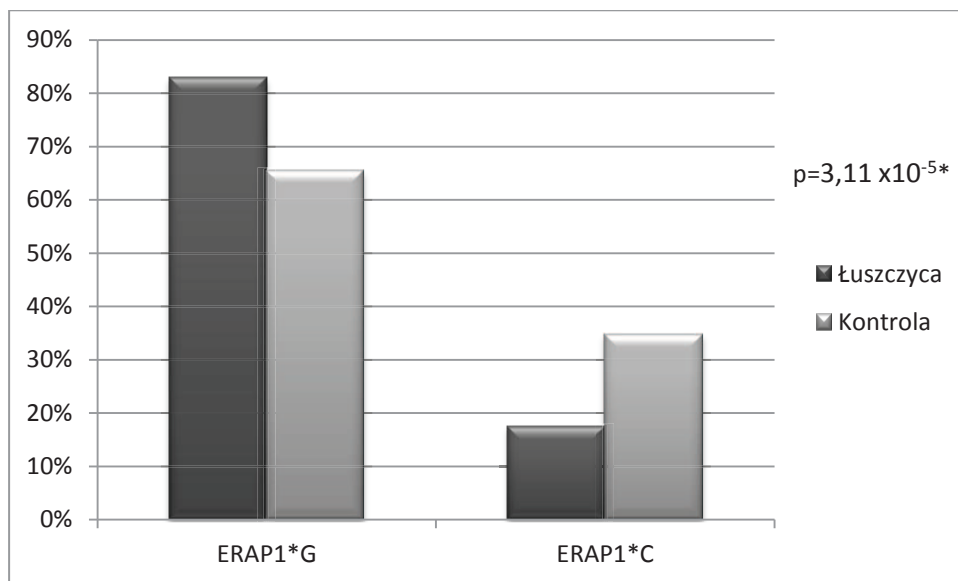
*Table XVIII. Comparison of CSTA genotypes frequencies in the population of patients with psoriasis (n=146) and controls (n=146)*

#### 4.4 Częstość występowania alleli genu *ERAPI* u chorych na łuszczycę

W grupie osób chorych oznaczono 254 allele po kątem obecności *ERAPI\*G* i *ERAPI\*C*. Stwierdzono 210 wariantów z *ERAPI\*G* (82,7%) oraz 44 warianty z *ERAPI\*C* (17,3%). W grupie kontrolnej oznaczono 202 allele, co pozwoliło zaobserwować 132 warianty posiadające *ERAPI\*G* (65,3%) oraz 70 wariantów z *ERAPI\*C* (34,7%).

Wykazano statystycznie istotną różnicę między chorymi na łuszczycę a osobami z grupy kontrolnej w częstościach alleli genu *ERAPI*. W populacji chorych na łuszczycę stwierdzono znamienne częstsze występowanie allelu *ERAPI\*G* w porównaniu z grupą kontrolną, natomiast w grupie kontrolnej istotnie częściej obserwowano allel *ERAPI\*C* w stosunku do populacji chorych na łuszczycę ( $p=3,11 \times 10^{-5}$ ).

Porównanie częstości występowania (%) alleli *ERAPI\*G* i *ERAPI\*C* w obu grupach przedstawiono na rycinie 24.



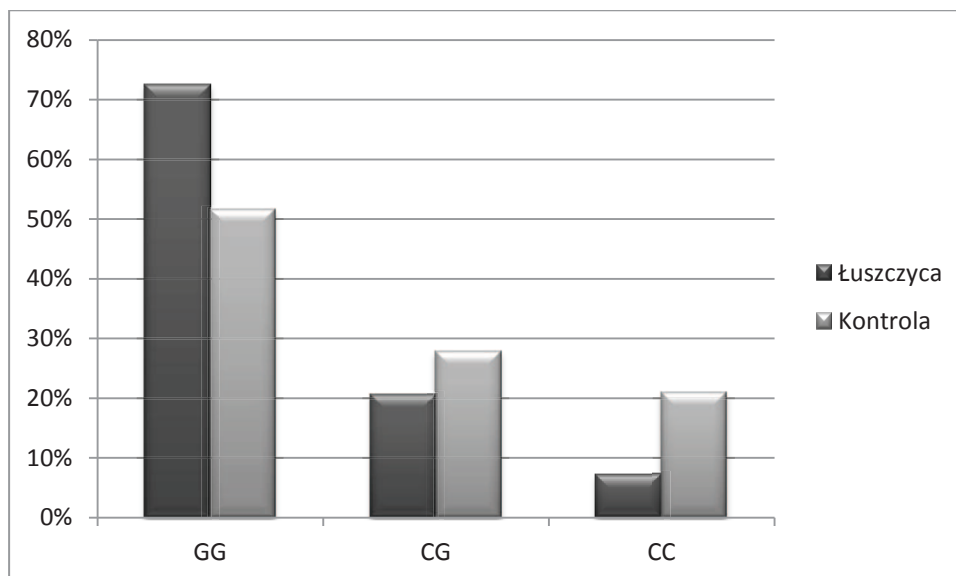
\* $p=3,11 \times 10^{-5}$ , dokładny test Fishera

**Rycina 24.** Porównanie częstości występowania (%) alleli *ERAP1\*G* i *ERAP1\*C* w populacji chorych na łuszczycę (n=127) oraz w grupie kontrolnej (n=101)  
**Figure 24.** Comparison of frequencies (%) of *ERAP1\*G* and *ERAP1\*C* alleles in the psoriatic population (n=127) and controls (n=101)

W populacji chorych na łuszczycę 92 osoby badane (72,4%) były homozygotami GG, 26 badanych (20,5%) było heterozygotami z genotypem CG, natomiast 9 chorych (7,1%) posiadało genotyp homozygotyczny CC. W przypadku grupy kontrolnej 52 osoby (51,5%) posiadały genotyp homozygotyczny GG, 28 osób (27,7%) stanowiły heterozygoty z genotypem CG, natomiast pozostałe 21osób (20,8%) były homozygotami CC.

Rycina 25 przedstawia częstości występowania (%) trzech różnych genotypów *ERAP1* w populacji chorych na łuszczycę oraz w grupie kontrolnej.





**GG** – homozygota posiadająca obie kopie *ERAP1\*G*

**CG** – heterozygota posiadająca *ERAP1\*C* i *ERAP1\*G*

**CC** - homozygota posiadająca obie kopie *ERAP1\*C*

**Rycina 25.** Częstości występowania (%) trzech różnych genotypów *ERAP1* w populacji chorych na łuszczycę (n=127) i w grupie kontrolnej (n=101)

**Figure 25.** Frequencies (%) of three different *ERAP1* genotypes in the population of patients with psoriasis (n=127) and controls (n=101)

Wykazano statystycznie istotne różnice pomiędzy chorymi na łuszczycę a osobami z grupy kontrolnej w częstościach genotypów *ERAP1*. W populacji chorych na łuszczycę statystycznie częściej obserwowano homozygoty GG (Tabela XIX).

W grupie chorych na łuszczycę oraz w populacji kontrolnej porównano częstości występowania alleli *ERAP1\*G* i *ERAP1\*C* w układzie homo-, jak i heterozygotycznym. W populacji badanej 118 chorych (92,9%) posiadało allel *G* genu *ERAP1*, a 9 chorych (7,1%) nie posiadało żadnej kopii *ERAP1\*G*. 35 chorych na łuszczycę (27,6%) posiadało przynajmniej jedną kopię *ERAP1\*C*, a 92 chorych (72,4%) nie posiadało allelu *C* genu *ERAP1*. W grupie kontrolnej 80 osób (79,2%) posiadało genotyp z *ERAP1\*G* w układzie homo- i heterozygotycznym, 21 osób (20,8%) nie posiadało allelu *G*, natomiast u 49 osób (48,5%) stwierdzono allel *C*, a u pozostałych 52 osób (51,5%) *ERAP1\*C* nie występowało.

Gen	Genotyp	Częstość – łuszczyca	Częstość – kontrola	Test statystyczny	Wartość p
<b>ERAP1</b>	GG	0,724	0,515	test chi- kwadrat	0,001366
	CG	0,205	0,277		
	CC	0,071	0,208		
	heterozygoty	0,205	0,277	dokładny	0,213
	homozygoty	0,795	0,723	test Fishera	
	G (+)	0,929	0,792	dokładny	0,002910
	G (-)	0,071	0,208	test Fishera	
	C (+)	0,276	0,485	dokładny	0,001445
C (-)	0,724	0,515	test Fishera		

**Tabela XIX.** Porównanie częstości genotypów *ERAP1* w populacji chorych na łuszczycę (n=127) i w grupie kontrolnej (n=101)

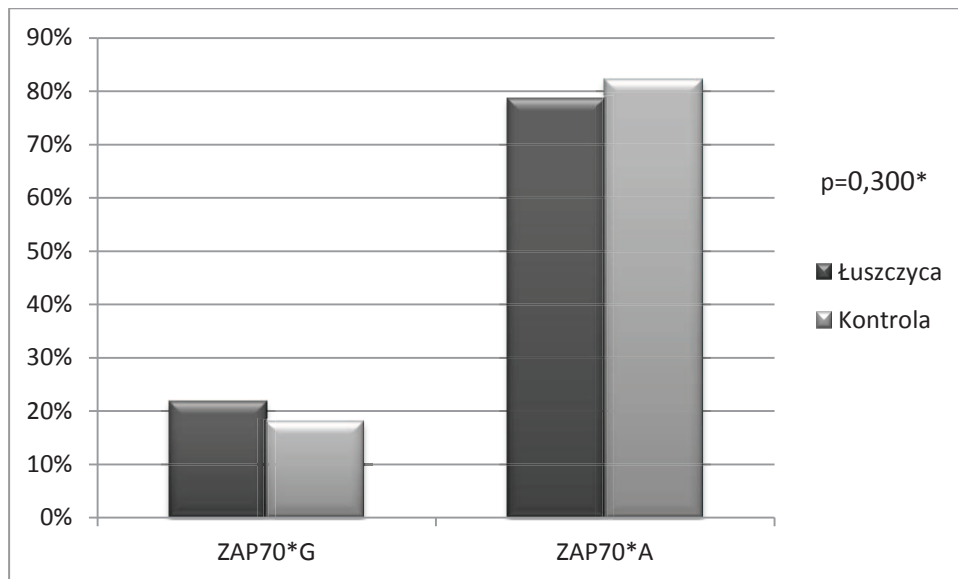
*Table XIX.* Comparison of *ERAP1* genotypes frequencies in the population of patients with psoriasis (n=127) and controls (n=101)

#### 4.5 Częstość występowania alleli genu *ZAP70* u chorych na łuszczycę

W grupie osób chorych oznaczono 296 alleli po kątem obecności *ZAP70\*G* i *ZAP70\*A*. Stwierdzono 64 warianty z *ZAP70\*G* (21,6%) oraz 232 warianty z *ZAP70\*A* (78,4%). W grupie kontrolnej oznaczono 290 alleli, co pozwoliło zaobserwować 52 warianty posiadające *ZAP70\*G* (17,9%) oraz 238 wariantów z *ZAP70\*A* (82,1%).

Nie wykazano statystycznie istotnej różnicy między chorymi na łuszczycę a osobami z grupy kontrolnej w częstościach alleli genu *ZAP70* (p=0,300).

Porównanie częstości występowania (%) alleli *ZAP70\*G* i *ZAP70\*A* w obu grupach przedstawia rycina 26.

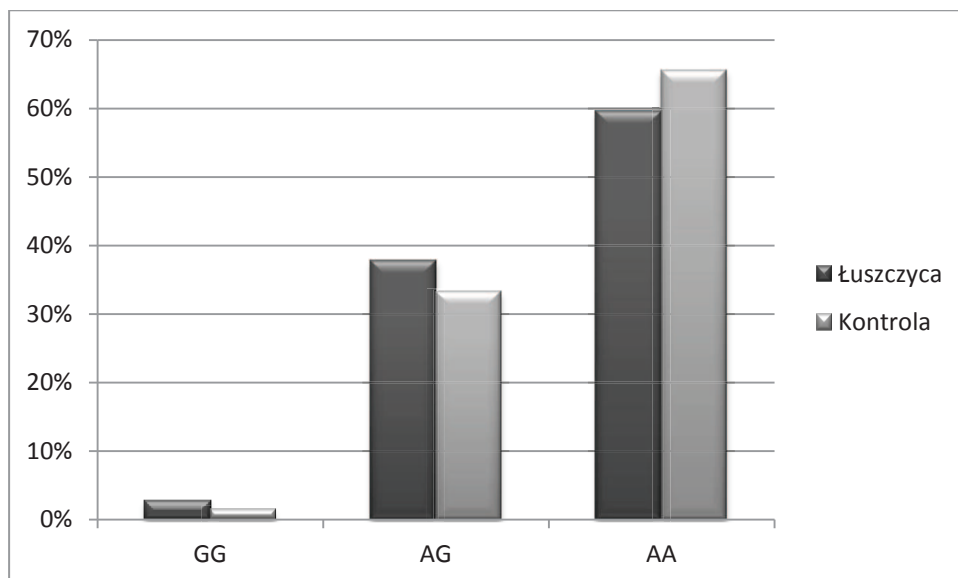


\*p=0,300, dokładny test Fishera

**Rycina 26.** Porównanie częstości występowania (%) alleli *ZAP70\*G* i *ZAP70\*A* w populacji chorych na łuszczycę (n=148) oraz w grupie kontrolnej (n=145)  
**Figure 26.** Comparison of frequencies (%) of *ZAP70\*G* and *ZAP70\*A* alleles in the psoriatic population (n=148) and controls (n=145)

W populacji chorych na łuszczycę 4 osoby badane (2,7%) były homozygotami GG, 56 badanych (37,8%) było heterozygotami z genotypem AG, natomiast 88 pacjentów (59,5%) posiadało genotyp homozygotyczny AA. W grupie kontrolnej 2 osoby (1,4%) posiadały genotyp GG, 48 osób (33,1%) stanowiły heterozygoty z genotypem AG, natomiast pozostałe 95 osób (65,5%) stanowiły homozygoty AA.

Na rycinie 27 przedstawiono częstości występowania (%) trzech różnych genotypów *ZAP70* w populacji chorych na łuszczycę oraz w grupie kontrolnej.



**GG** – homozygota posiadająca obie kopie *ZAP70\*G*

**AG** – heterozygota posiadająca *ZAP70\*A* i *ZAP70\*G*

**AA** - homozygota posiadająca obie kopie *ZAP70\*A*

**Rycina 27.** Częstości występowania (%) trzech różnych genotypów *ZAP70* w populacji chorych na łuszczycę (n=148) i w grupie kontrolnej (n=145)

**Figure 27.** Frequencies (%) of three different *ZAP70* genotypes in the population of patients with psoriasis (n=148) and controls (n=145)

Nie wykazano statystycznie istotnych różnic pomiędzy chorymi na łuszczycę a osobami z grupy kontrolnej w częstościach genotypów *ZAP70* (Tabela XX).

W grupie chorych na łuszczycę oraz w populacji kontrolnej porównano częstości występowania alleli *ZAP70\*G* i *ZAP70\*A* w układzie homo-, jak i heterozygotycznym. W grupie badanej, 60 chorych (40,5%) posiadało allel *G* genu *ZAP70*, a 88 chorych (59,5%) nie posiadało żadnej kopii *ZAP70\*G*. 144 chorych na łuszczycę (97,3%) posiadało przynajmniej jedną kopię *ZAP70\*A*, a u 4 chorych (2,7%) nie stwierdzono obecności allelu *A* genu *ZAP70*. W grupie kontrolnej, 50 osób (34,5%) posiadało genotyp z *ZAP70\*G* w układzie homo- i heterozygotycznym, 95 osób (65,5%) nie posiadało allelu *G*, natomiast u 143 osób (98,6%) stwierdzono allel *A*, a u pozostałych 2 osób (1,4%) *ZAP70\*A* nie zostało wykryte.

Gen	Genotyp	Częstość – łuszczyca	Częstość – kontrola	Test statystyczny	Wartość p
<b>ZAP70</b>	GG	0,027	0,014	test chi- kwadrat	0,468
	AG	0,378	0,331		
	AA	0,595	0,655		
	heterozygoty	0,378	0,331	dokładny	0,464
	homozygoty	0,622	0,669	test Fishera	
	G (+)	0,405	0,345	dokładny	0,335
	G (-)	0,595	0,655	test Fishera	
	A (+)	0,973	0,986	dokładny	0,684
A (-)	0,027	0,014	test Fishera		

**Tabela XX.** Porównanie częstości genotypów *ZAP70* w populacji chorych na łuszczycę (n=148) i w grupie kontrolnej (n=145)

*Table XX. Comparison of ZAP70 genotypes frequencies in the population of patients with psoriasis (n=148) and controls (n=145)*

#### **4.6 Korelacja wartości wskaźnika PASI z *HLA-C*, *LCE3C\_LCE3B*, *CSTA*, *ERAP1*, *ZAP70***

W tabeli XXI przedstawiono korelację wartości wskaźnika PASI z poszczególnymi genotypami *HLA-C*, *LCE3C\_LCE3B*, *CSTA*, *ERAP1* i *ZAP70*.

Gen	Porównywane genotypy		Średnie wartości PASI		U*	Z*	P*	Liczebność grupy 1	Liczebność grupy 2
	Grupa 1	Grupa 2	Grupa 1	Grupa 2					
<b>HLA-C</b>	Cw*06 (+)	Cw*06 (-)	17,7	14,6	2102,000	1,499223	0,133817	97	51
	bez Cw*06 (+)	bez Cw*06 (-)	16,2	31,4	116,5000	-2,02830	0,042531	144	4
	Cw*06/Cw*06	heterozygoty	31,4	17,1	80,50000	1,914501	0,055557	4	93
	bez Cw*06/ibez Cw*06	heterozygoty	14,6	17,1	2066,000	-1,27638	0,201824	51	93
<b>LCE3C_LCE3B</b>	del(+)	del(-)	17,2	13,8	1048,500	1,819514	0,068834	126	22
	wt(+)	wt(-)	17,2	15,8	2373,000	0,732237	0,464024	93	55
	del/del	heterozygoty	15,8	18,2	1663,000	-1,42432	0,154354	55	71
	wt/wt	heterozygoty	13,8	18,2	548,5000	-2,10229	0,035529	22	71
<b>CSTA</b>	C(+)	C(-)	16,6	18,0	553,0000	-0,516780	0,613784	137	9
	T(+)	T(-)	17,0	15,3	1376,500	0,462100	0,644010	122	24
	CC	heterozygoty	15,3	16,9	1286,500	-0,393620	0,693862	24	113
	TT	heterozygoty	18,0	16,9	463,0000	0,445733	0,664469	9	113
<b>ERAP1</b>	G(+)	G(-)	16,7	15,2	503,5000	0,258421	0,799415	118	9
	C(+)	C(-)	15,8	16,9	1556,000	-0,136150	0,891703	34	93
	GG	heterozygoty	16,7	16,6	1144,500	-0,334443	0,738046	92	26
	CC	heterozygoty	15,2	16,6	113,0000	-0,151023	0,896815	9	26
<b>ZAP70</b>	G(+)	G(-)	18,5	15,4	2085,500	2,166022	0,030310	60	88
	A(+)	A(-)	16,6	18,7	285,5000	-0,029567	0,977247	144	4
	GG	heterozygoty	18,7	18,5	100,5000	-0,340895	0,742408	4	56
	AA	heterozygoty	15,4	18,5	1923,500	-2,21540	0,026733	88	56

\*test U Manna i Whitneya

**Tabela XXI.** Korelacja wartości wskaźnika PASI z poszczególnymi genotypami HLA-C, LCE3C, LCE3B, CSTA, ERAP1 i ZAP70  
**Table XXI.** Correlation of PASI score with different genotypes of HLA-C, LCE3C, LCE3B, CSTA, ERAP1 and ZAP70 genes

W przypadku genu *HLA-C* wykazano w sposób statystycznie istotny wyższe średnie wartości wskaźnika PASI w grupie chorych nieposiadających allelu bez *HLA-Cw\*06* (homozygoty *Cw\*06/Cw\*06*) w porównaniu z chorymi posiadającymi allel bez *HLA-Cw\*06*.

W przypadku delecji genów *LCE3B* i *LCE3C* wykazano znamienne wyższe wartości wskaźnika PASI wśród chorych posiadających genotyp heterozygotyczny w stosunku do chorych nieposiadających delecji (homozygot posiadających obie kopie tych genów).

W przypadku genu *ZAP70* wykazano w sposób statystycznie istotny wyższe średnie wartości wskaźnika PASI w populacji chorych na łuszczycę posiadających allel *G* genu *ZAP70* (homozygoty lub heterozygoty) w stosunku do chorych nieposiadających allelu *G* (homozygoty *AA*). Wykazano również znamienne niższe wartości wskaźnika PASI w grupie chorych nieposiadających allelu *G* genu *ZAP70* (homozygoty *AA*) w porównaniu z heterozygotami.

Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w wartościach wskaźnika PASI pomiędzy chorymi z poszczególnymi genotypami *CSTA* i *ERAP1*.

#### **4.7 Porównanie częstości *LCE3C\_LCE3B*, *CSTA*, *ERAP1*, *ZAP70* u osób z allelem *HLA-Cw\*06* między populacją chorych na łuszczycę a grupą kontrolną**

Tabela XXII przedstawia porównanie częstości alleli genów *LCE3C\_LCE3B*, *CSTA*, *ERAP1*, *ZAP70* u osób *HLA-Cw\*06*-dodatnich między populacją chorych na łuszczycę a grupą kontrolną.

	Liczba osób	<i>LCE3C_LCE3B-del</i>	allel bez delecji	Wartość p*
<b>HLA-Cw*06(+)</b>				
Łuszczyca	97	0,603	0,397	0,770
Kontrola	32	0,578	0,422	
	Liczba osób	<i>CSTA*C</i>	<i>CSTA*T</i>	Wartość p*
<b>HLA-Cw*06(+)</b>				
Łuszczyca	96	0,547	0,453	0,885
Kontrola	32	0,531	0,469	
	Liczba osób	<i>ERAP1*G</i>	<i>ERAP1*C</i>	Wartość p*
<b>HLA-Cw*06(+)</b>				
Łuszczyca	85	0,800	0,200	0,019855
Kontrola	23	0,630	0,370	
	Liczba osób	<i>ZAP70*G</i>	<i>ZAP70*A</i>	Wartość p*
<b>HLA-Cw*06(+)</b>				
Łuszczyca	97	0,242	0,758	0,301
Kontrola	32	0,172	0,828	

Wartość p\*, dokładny test Fishera

**Tabela XXII.** Porównanie częstości występowania alleli genów *LCE3C\_LCE3B*, *CSTA*, *ERAP1* i *ZAP70* u osób z allelem *HLA-Cw\*06* w populacji chorych na łuszczycę i w grupie kontrolnej

**Table XXII.** Comparison of *LCE3C\_LCE3B*, *CSTA*, *ERAP1* and *ZAP70* alleles frequencies in *HLA-Cw\*06*-positive group in the population of psoriatic patients and controls

W grupie osób z *HLA-Cw\*06* wykazano statystycznie istotnie częstsze występowanie allelu *ERAP1\*G* w populacji chorych na łuszczycę w porównaniu do grupy kontrolnej. W grupie osób z *HLA-Cw\*06* wykazano również znamienne częstsze występowanie allelu *ERAP1\*C* w grupie kontrolnej w porównaniu do populacji chorych na łuszczycę (p=0,019855).

W grupie osób posiadających allel *HLA-Cw\*06* nie wykazano statystycznie istotnych różnic między chorymi na łuszczycę a osobami z grupy kontrolnej w częstościach alleli genów *LCE3C\_LCE3B*, *CSTA* oraz *ZAP70*.



#### 4.8 Ryzyko względne oraz iloraz szans

Przy użyciu parametrów ryzyka względnego (ang. *relative risk*, RR) oraz ilorazu szans (ang. *odds ratio*, OR) sprawdzono związek analizowanych alleli z ryzykiem wystąpienia łuszczycy. W tabeli XXIII przedstawiono wyniki RR z odpowiadającymi przedziałami ufności (ang. *confidence intervals*, CI).

Allel	RR	95% CI
<i>HLA-Cw*06</i>	2,4327	1,8970–3,1197
allel inny niż <i>HLA-Cw*06</i>	0,4966	0,4422–0,5576
<i>LCE3C_LCE3B-del</i>	1,0898	0,7848–1,5134
allel bez delecji	0,8849	0,7026–1,1145
<i>CSTA*C</i>	0,7093	0,4843–1,0388
<i>CSTA*T</i>	0,8540	0,6383–1,1425
<i>ERAP1*G</i>	1,9865	1,1364–3,4726
<i>ERAP1*C</i>	0,6522	0,4923–0,8640
<i>ZAP70*G</i>	1,1343	0,9035–1,4241
<i>ZAP70*A</i>	0,7526	0,4225–1,3407

**Tabela XXIII.** Ryzyko względne rozwoju łuszczycy dla poszczególnych alleli genów *HLA-C*, *LCE3C\_LCE3B*, *CSTA*, *ERAP1* i *ZAP70* w populacji badanej

**Table XXIII.** Relative risk score for psoriasis in different alleles of *HLA-C*, *LCE3C\_LCE3B*, *CSTA*, *ERAP1* and *ZAP70* genes in the study population

W badanej populacji posiadanie allelu *HLA-Cw\*06* statystycznie istotnie zwiększało ryzyko rozwoju łuszczycy 2,4 razy. Posiadanie allelu innego niż *HLA-Cw\*06* statystycznie istotnie zmniejszało ryzyko rozwoju łuszczycy 2,0 razy.

W analizowanej populacji posiadanie allelu *ERAP1\*G* statystycznie istotnie zwiększało ryzyko rozwoju łuszczycy 2,0 razy. Posiadanie allelu *ERAP1\*C* statystycznie istotnie zmniejszało ryzyko rozwoju łuszczycy 1,5 razy.

Allele *CSTA*\*C, *CSTA*\*T, *ZAP70*\*G, *ZAP70*\*A, *LCE3C\_LCE3B-del* oraz allele bez *LCE3C\_LCE3B-del* nie wykazały statystycznie istotnego wpływu na ryzyko rozwoju łuszczyca w badanej populacji.

W tabeli XXIV zaprezentowano wyniki OR wraz z odpowiadającymi przedziałami ufności dla badanej populacji.

Allel	OR	95% CI
<i>HLA-Cw*06</i>	6,7757	4,0350–11,3781
<i>allel inny niż HLA-Cw*06</i>	0,1096	0,0058–2,0541
<i>LCE3C_LCE3B-del</i>	1,1833	0,6334–2,2105
<i>allel bez delecji</i>	0,7778	0,4800–1,2605
<i>CSTA</i> *C	0,4288	0,1290–1,4250
<i>CSTA</i> *T	0,7148	0,3696–1,3824
<i>ERAP1</i> *G	3,4417	1,4994–7,8998
<i>ERAP1</i> *C	0,4037	0,2327–0,7006
<i>ZAP70</i> *G	1,2955	0,8062–2,0816
<i>ZAP70</i> *A	0,5035	0,0908–2,7925

**Tabela XXIV.** Zestawienie wartości ilorazu szans dla poszczególnych alleli genów *HLA-C*, *LCE3C\_LCE3B*, *CSTA*, *ERAP1* i *ZAP70* w populacji badanej

**Table XXIV.** Odds ratio score in different alleles of *HLA-C*, *LCE3C\_LCE3B*, *CSTA*, *ERAP1* and *ZAP70* genes in the study population

W analizowanej populacji allele *HLA-Cw\*06* i *ERAP1*\*G wykazały statystycznie istotną asocjację z łuszczycą.

Nie wykazano statystycznie istotnego związku alleli genów *LCE3C\_LCE3B*, *CSTA* oraz *ZAP70* z rozwojem łuszczyca w badanej populacji.

#### 4.9 Genetyczny wskaźnik ryzyka rozwoju łuszczycy

Do obliczenia wartości genetycznego wskaźnika ryzyka (ang. *genetic risk score*, GRS) rozwoju łuszczycy w grupie badanej oraz kontrolnej wykorzystano allele wykazujące asocjację z łuszczycą, niezależnie od tego, czy zaobserwowany związek był statystycznie istotny. Były to allele *HLA-Cw\*06*, *ERAP1\*G*, *ZAP70\*G* oraz *LCE3C\_LCE3B-del*. Do obliczeń nie włączono żadnego z alleli genu *CSTA*, ponieważ nie wykazywały one wpływu na predyspozycję do rozwoju schorzenia.

Wartości GRS dla analizowanych osób określono na dwa sposoby według metody opisanej przez zespół Chen [102]. Ryzyko zsumowane (ang. *count genetic risk score*, cGRS) obliczono jako suma liczby alleli predysponujących do rozwoju łuszczycy, natomiast ryzyko ważone (ang. *weighted genetic risk score*, wGRS), oceniono jako suma liczby alleli predysponujących do rozwoju łuszczycy, pomnożoną przez logarytm naturalny z ilorazu szans ( $\ln(\text{OR})$ ) dla każdego z 4 genów.

Tabela XXV przedstawia porównanie średnich wartości cGRS i wGRS w populacji osób chorych na łuszczycę oraz w grupie kontrolnej.

		Liczba osób	Średnia	Odchylenie standardowe	Mediana	Rozstęp ćwiartkowy
<b>cGRS</b>	Łuszczycyca	127	3,99	1,10	4	2
	Kontrola	100	3,10	1,29	3	2
<b>wGRS</b>	Łuszczycyca	127	3,70	1,20	3,58	2,08
	Kontrola	100	2,35	1,28	2,64	1,41
<b>U*</b>	<b>Z*</b>	<b>P*</b>	<b>Łuszczycyca</b>	<b>Kontrola</b>		
3984	4,9670	6,8044x10 <sup>7</sup>	127	100		
2942	6,9517	3,61513x10 <sup>12</sup>	127	100		

\* test U Manna i Whitneya

**Tabela XXV.** Porównanie średnich wartości cGRS i wGRS dla zestawu *HLA-Cw\*06*, *ERAPI\*G*, *ZAP70\*G* i *LCE3C\_LCE3B-del* w populacji chorych na łuszczycę i w grupie kontrolnej

**Table XXV.** Comparison of mean cGRS and wGRS scores for *HLA-Cw\*06*, *ERAPI\*G*, *ZAP70\*G* and *LCE3C\_LCE3B-del* in the population of psoriatic patients and controls

W grupie chorych na łuszczycę wykazano istotnie wyższe wartości cGRS i wGRS w stosunku do osób z grupy kontrolnej.

## 5. Dyskusja

Podłoże genetyczne odgrywa kluczową rolę w patogenezie łuszczycy. Badania obejmujące duże rodziny, w których wykorzystywano genetyczną analizę sprzężeń, doprowadziły do ujawnienia kilkunastu *loci* podatności na łuszczycę rozmieszczonych na różnych chromosomach autosomalnych, jednak allel *HLA-Cw\*06* zlokalizowany w obrębie *locus* PSORS1 na krótkim ramieniu chromosomu 6 stanowi główny marker podatności na łuszczycę [54,69,73-77]. Spośród zidentyfikowanych dotychczas polimorfizmów wariant ten wykazuje najsilniejszą korelację z łuszczycą wczesną w populacjach kaukazyjskich [54,75,76,78,83,84]. Asocjację *HLA-Cw\*06* z łuszczycą potwierdzono również w badaniach obejmujących populacje Polski północnej i południowej [76,86,87]. Szacuje się jednak, że geny podatności na łuszczycę zlokalizowane w obrębie PSORS1 odpowiadają za 35-50% przypadków wczesnej postaci schorzenia, co wskazuje na obecność innych markerów spoza regionu MHC, które mogą predysponować do rozwoju łuszczycy [62-64].

W odniesieniu do chorób o wielogenowym modelu dziedziczenia, w których pojedyncze geny mają niewielki, aczkolwiek rzeczywisty wpływ na fenotyp, badania asocjacyjne całego genomu stanowią niezwykle przydatne narzędzie wykorzystywane w analizach molekularnych. Dzięki genotypowaniu setek tysięcy polimorfizmów doszło w ciągu ostatniej dekady do odkrycia nowych wariantów genetycznych mających związek z sygnalizowaniem zależnym od *IL-23*, *IL-12*, *IL-17* i *NF-κB*, co dowodzi istotnemu zaangażowaniu różnorodnych mechanizmów immunologicznych w proces chorobowy prowadzący do powstania blaszki łuszczycowej.

Na szczególną uwagę zasługują wyniki nowatorskich badań, w których wykazano istnienie asocjacji nowo zidentyfikowanych markerów genetycznych zaangażowanych w procesy naprawcze naskórki i funkcjonowanie bariery naskórkowej z łuszczycą. Liczne obserwacje przeprowadzone w etnicznie zróżnicowanych populacjach wykazały związek wspólnej delecji w obrębie genów *LCE3B* i *LCE3C* (*LCE3C\_LCE3B-del*) ze zwiększonym ryzykiem rozwoju schorzenia [96,102,143-146]. Kodowane przez region *LCE* białka tworzą kopertę rogową, odgrywającą istotną rolę w końcowym etapie różnicowania keratynocytów. Utrata części funkcji genów kodujących te białka może prowadzić zatem do zaburzeń w funkcjonowaniu bariery naskórkowej, co daje nowe spojrzenie na patogenezę łuszczycy. *CSTA* stanowi kolejny gen, którego ekspresja może wpływać na procesy keratynizacji.

Polimorfizmy w obrębie *CSTA* wykazują związek ze zwiększonym ryzykiem rozwoju łuszczycy, co zostało udowodnione w badaniach przeprowadzonych w populacji pochodzącej z Wielkiej Brytanii [156,157]. Kodowane przez *CSTA* białko o nazwie cystatyna A, należy do białek prekursorowych koperty rogowej, a jego zwiększoną ekspresję zaobserwowano także w obrębie blaszek łuszczycowych [186].

Doniesienia z 2011 r. wskazują na związek łuszczycy z wariantami genów *ERAPI* oraz *ZAP70* zlokalizowanymi odpowiednio na chromosomach 5q15 oraz 2q11 [55]. Białka przez nie kodowane biorą istotny udział w obróbce i prezentacji antygenów w kontekście MHC klasy I, a przez to aktywacji limfocytów CD8+. Badanie przeprowadzone przez Strange i wsp. wykazało znamienne sprzężenie *ERAPI* i *ZAP70* z łuszczycą wyłącznie u nosicieli allelu *HLA-Cw\*06*, co stanowi dowód na istnienie interakcji między tymi genami [55].

Obserwacje badaczy stanowią dowód na istnienie asocjacji *LCE3C\_LCE3B-del*, *CSTA*, *ERAPI* i *ZAP70* z łuszczycą, jednak wyniki te nie są spójne w obrębie zróżnicowanych etnicznie populacji. Jak dotąd nie analizowano związku powyższych markerów genetycznych z łuszczycą w grupie chorych pochodzących nie tylko z Polski, lecz z całego regionu Europy Środkowo-Wschodniej, co stanowiło przesłankę do podjęcia niniejszych badań.

Przeprowadzona analiza oceny częstości występowania polimorfizmów oraz genotypów *HLA-C*, *LCE3C\_LCE3B-del*, *CSTA*, *ERAPI* i *ZAP70* w populacjach chorych na łuszczycę ma zatem w pełni nowatorski charakter, biorąc pod uwagę zróżnicowanie populacyjne występowania alleli podatności na łuszczycę.

Badanie interakcji pomiędzy poszczególnymi polimorfizmami predysponującymi do rozwoju schorzenia stanowi najnowszy kierunek analiz molekularnych w kontekście definicji łuszczycy jako choroby kompleksowej. W piśmiennictwie dostępne są doniesienia świadczące o interakcji nowo zidentyfikowanych markerów genetycznych z *HLA-Cw\*06* [100,157]. Dane przedstawione w niniejszej pracy zawierają wyniki badań nad związkiem poszczególnych wariantów genów *LCE3C\_LCE3B*, *CSTA*, *ERAPI* i *ZAP70* z *HLA-Cw\*06*, co do tej pory nie było analizowane w populacji chorych na łuszczycę pochodzących z Europy Środkowo-Wschodniej.

Autorka objęła badaniami dorosłe, niespokrewnione osoby pochodzące z terenu Polski północnej - 148 chorych z przewlekłą łuszczycą plackowatą, stanowiącą najczęstszą postać kliniczną schorzenia oraz 146 osób stanowiących populację kontrolną. Chcąc zapewnić dużą jednorodność badanej grupy do badań nie zakwalifikowano osób z odmianą kropelkowatą i krostkową łuszczycy jak i erytrodemią łuszczycową. Postaci te stanowią rzadkie odmiany kliniczne charakteryzujące się ostrym przebiegiem, często prowokowane czynnikami

infekcyjnymi bądź lekami. Za wykluczeniem chorych z krostkowicą dłoni i stóp (*pustulosis palmoplantaris*, PPP), klasyfikowanej w podziałach akademickich jako odmiana łuszczycy krostkowej ograniczonej do dłoni i stóp, przemawiały ponadto wyniki analiz genetycznych, w których nie wykazano asocjacji PPP z udowodnionymi w odmianie plackowatej schorzenia wariantami genowymi [189-192]. Dodatkowo, zaplanowane w pracy określenie w grupie chorych wskaźnika PASI stosowane jest jedynie u osób ze zmianami skórnymi odpowiadającymi odmianie plackowatej schorzenia.

Obliczenie wskaźnika PASI opiera się na subiektywnej ocenie cech klinicznych schorzenia, jakimi są złuszczenie, rumień i grubość ognisk łuszczycowych oraz obszar skóry zajętej przez proces chorobowy. Z powodu braku bardziej zobiektywizowanych i wystandaryzowanych schematów, PASI wciąż należy do najczęściej spotkanych w praktyce klinicznej sposobów oceny stopnia ciężkości łuszczycy [193-197].

Podczas interpretacji wyników, należy jednak zwrócić uwagę na pewne ograniczenia jakie niesie za sobą ta metoda [87,193,198]. Korelacja wskaźnika z ciężkością łuszczycy nie ma linearnego przebiegu. Przykładowo, wartość PASI u chorego, u którego proces chorobowy zajmuje jedynie skórę rąk i stóp, ale punktacja przydzielana poszczególnym cechom klinicznym jest maksymalna, może być nadal wyższa od wskaźnika określonego dla osoby chorej z uogólnionymi zmianami skórnymi, wykazującymi jednak minimalny stan zapalny czy złuszczenie [87]. Kolejnym ograniczeniem wskaźnika PASI jest subiektywność metody i wynikająca z niej znaczna rozbieżność wartości uzyskiwanych przez różne osoby oceniające tego samego chorego [87,199-201]. Powtarzalność wyników jest wyższa jeśli oceny PASI dokonuje ta sama osoba, jak w niniejszym badaniu.

Rozpoznanie łuszczycy ciężkiej opiera się na podstawie następujących kryteriów: wskaźnika PASI przekraczającego 10, powierzchni ciała zajętej przez ogniska chorobowe powyżej 10% oraz wyniku kwestionariusza DLQI (ang. *Dermatology Life Quality Index*) powyżej 10 punktów [202]. W niektórych doniesieniach za ciężką postać schorzenia uznaje się chorobę, w której wartość PASI przekracza 15 lub 12, przy spełnieniu warunku zajęcia przez zmiany łuszczycowe przynajmniej 10% powierzchni ciała [194,198,203,204]. Średnia wartość wskaźnika PASI w analizowanej populacji chorych wyniosła 16,65, co świadczy o tym, że u większości osób z grupy badanej, stwierdzono łuszczycę ciężką. Obserwacje autorki różnią się od wyników badań epidemiologicznych, w których najczęściej rozpoznawanym typem schorzenia była łuszczycy łagodna [87,205-207]. Analizowana populacja pacjentów, może zatem nie być w pełni reprezentatywna, z uwagi na sposób rekrutacji chorych. Podczas kwalifikacji do grupy badanej, zdecydowana większość pacjentów (n=105) była

hospitalizowana w Oddziale Kliniki Dermatologii, zatem najczęściej byli to chorzy z cięższymi postaciami schorzenia.

Przeprowadzone badania wykazały, że allel *HLA-Cw\*06* statystycznie częściej występuje w grupie chorych na łuszczycę w porównaniu do osób z grupy kontrolnej. Analiza częstości występowania genotypów *HLA-C* wykazała w sposób istotny częstsze występowanie osób *Cw\*06*-dodatnich, czyli osób posiadających allel *Cw\*06* oraz heterozygot z genotypem *Cw\*06*/allel bez *HLA-Cw\*06* w populacji badanej w stosunku do osób z grupy kontrolnej. Uzyskane przez autorkę obserwacje świadczące o asocjacji *HLA-Cw\*06* z łuszczycą są zgodne z licznymi danymi z piśmiennictwa oraz wynikami najnowszych meta analiz przeprowadzonych w zróżnicowanych etnicznie populacjach [54,69,73-77,86]. Wykazany w niniejszym badaniu związek *HLA-Cw\*06* z łuszczycą potwierdza analogiczne wyniki uzyskane na podstawie badań przeprowadzonych w populacjach osób chorych na łuszczycę pochodzących z terenu Polski północnej jak i południowej [76,86].

W objętej badaniami genetycznymi populacji chorych na łuszczycę *HLA-Cw\*06* występował u 65,5% osób. Wynik ten nie odbiega od częstości tego allelu w objętych niezależnymi analizami populacjach osób z łuszczycą rasy kaukazoidalnej, wynoszącej od 36,3% do 87% [12,51,79]. Wykazane w szeregu doniesień odmienne częstości *HLA-Cw\*06* mogą wynikać z różnic genetycznych występujących w objętych badaniami populacjach jak i niejednorodności obrazu klinicznego wśród chorych kwalifikowanych do badań.

W populacji chorych na łuszczycę cztery osoby były homozygotami *HLA-Cw\*06*, co w porównaniu do wyników badania Gudjonsonna i wsp. przeprowadzonego na dużej populacji chorych pochodzących z Islandii stanowi niższy odsetek w stosunku do obserwowanych przez autorów genotypów homozygotycznych *Cw\*06/Cw\*06*. Różnice te mogą wynikać ze stosunkowo niskiej liczebności osób *Cw\*06*-dodatnich w populacji objętej niniejszym opracowaniem. Podobny do autorki wynik został uzyskany przez Szczerkowską-Dobosz, jednak grupa badana obejmowała osoby z łuszczycą o późnym początku [87].

W badaniu przeprowadzonym przez Gudjonsonn i wsp. wykazano, że zygocyność *Cw\*06* nie determinuje wariantu fenotypowego łuszczycy [78]. Zależności tej nie potwierdzono w niniejszej analizie. W populacji chorych wykazano bowiem statystycznie istotne różnice w średnich wartościach PASI między pacjentami posiadającymi allel bez *Cw\*06* a homozygotami *Cw\*06/Cw\*06*. Powyższa obserwacja może stanowić przesłankę do wysunięcia hipotezy, iż stopień nasilenia łuszczycy u osób będących homozygotami *HLA-Cw\*06* jest wyższy w stosunku do osób nie posiadających żadnej kopii tego allelu, a zatem zygocyność genotypu *HLA-C* może wpływać na ciężkość przebiegu schorzenia. W celu



pewnego potwierdzenia tej hipotezy konieczne jest przeprowadzenie dalszych analiz obejmujących większą populację osób chorych, z wyższym odsetkiem homozygot *HLA-Cw\*06*.

Przeprowadzone w ostatniej dekadzie analizy molekularne z udziałem genów wchodzących w skład kompleksu różnicowania naskórka doprowadziły do uzyskania niezwykle interesujących wyników dotyczących roli zaburzeń bariery naskórkowej w patogenezie łuszczycy. Szczególną uwagę badaczy zwróciła rodzina genów kodujących białka późnej koperty rogowej. Pionierskie badanie de Cid i wsp. z 2009 r. zapoczątkowało erę badań nad związkiem wspólnej delecji w obrębie *LCE3C* i *LCE3B* z łuszczycą. Autor ten wykazał bowiem występowanie znamiennej asocjacji *LCE3C\_LCE3B-del* z łuszczycą w populacjach: holenderskiej, włoskiej i hiszpańskiej [96]. Powtarzalne wyniki udało się uzyskać w zróżnicowanych etnicznie populacjach: chińskiej, mongolskiej i niemieckiej [102,143,144]. W szeroko zakrojonym badaniu przeprowadzonym przez zespół Riveira-Munoz obejmującym 13. populacji pochodzących z Europy, Azji i Stanów Zjednoczonych Ameryki, potwierdzono istnienie związku *LCE3C\_LCE3B-del* ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na łuszczycę dla 7 populacji pochodzących z Europy oraz dla Chin i Mongolii. Asocjacji tej nie zaobserwowano jednak w przypadku chorych pochodzących z Francji, Irlandii, Japonii oraz u Amerykanów pochodzenia europejskiego z Michigan, przy czym warto podkreślić, że w ostatnich dwóch przypadkach wynik był na granicy istotności statystycznej [145].

Pomimo że rola *LCE3C\_LCE3B-del* w patogenezie łuszczycy nie jest w pełni poznana, przypuszcza się, że utrata funkcji części genów *LCE* prowadzi do zaburzeń naprawczych w naskórku, jak i samego funkcjonowania koperty rogowej. Wykazano bowiem, że białka z rodziny *LCE3* nie są wykrywane w skórze, jednak na skutek mechanicznych uszkodzeń naskórka dochodzi do indukcji ekspresji kodujących je genów [96,155].

Niniejsza praca stanowi pierwsze badanie analizujące częstość występowania *LCE3C\_LCE3B-del* w populacji chorych na łuszczycę pochodzących z Europy Środkowo-Wschodniej. W grupie tej wykazano częstsze występowanie wariantów z delecją w stosunku do grupy kontrolnej, jednak różnica ta była nieistotna statystycznie. W populacji kontrolnej stwierdzono wysoką częstość występowania genotypów z *LCE3C\_LCE3B-del*, sięgający ponad 57%. Obserwacje te są zgodne z wynikami innych badań, w których stwierdzono częstość występowania delecji w populacji ogólnej na poziomie 60-70% [147,154]. W kontekście patogenezy łuszczycy, zjawisko to może świadczyć o niewystarczającym wpływie występowania wyłącznie tego wariantu genetycznego na fenotypowe ujawnienie się

łuszczycy, gdyż inne geny mogą przejmować utraconą funkcję *LCE3C* i *LCE3B*. Brak znamiennych różnic w występowaniu *LCE3C\_LCE3B-del* pomiędzy chorymi na łuszczycę, a osobami z grupy kontrolnej autorka tłumaczy stosunkowo niską w porównaniu z innymi badaniami liczebnością analizowanych grup. Porównując populację brytyjską włączoną do metaanalizy Riveira-Munoz i wsp. różnica w występowaniu genotypu z *LCE3C\_LCE3B-del* pomiędzy chorymi na łuszczycę a osobami z grupy kontrolnej także była niewielka i sięgała 3,2%, jednak wynik ten był istotny statystycznie ( $p=0,028$ ). W powyższym badaniu analizowana populacja liczyła jednak 1962 osoby, w tym 941 chorych na łuszczycę [145]. Kolejnym argumentem przemawiającym za uzyskaniem przez autorkę odmiennych wyników może być występowanie różnic genetycznych w populacji polskiej. W grupie chorych pochodzących z innych rejonów geograficznych mogą istnieć dodatkowe czynniki genetyczne, sprzyjające rozwojowi łuszczycy, które nie są obecne w populacji polskiej.

W niniejszym opracowaniu wśród osób chorych na łuszczycę częściej obserwowano homozygoty *del/del*, natomiast w grupie kontrolnej przeważały heterozygoty *del/wt* oraz homozygoty bez *LCE3C\_LCE3B-del*. Porównując częstość występowania poszczególnych genotypów *LCE3C\_LCE3B* pomiędzy grupami nie wykazano jednak znamiennych różnic. Pomimo nieistotnego statystycznie wyniku, dokonane obserwacje pokrywają się z danymi z piśmiennictwa. Niezależne analizy przeprowadzone przez zespoły Riveira Munoz i Coto wykazały częstsze występowanie osób homozygotycznych pod kątem obecności *LCE3C\_LCE3B-del* w grupie chorych na przewlekłą łuszczycę plackowatą [145,146]. Uzyskany przez autorkę niezamienny wynik może wiązać się z niższą w stosunku do porównywanych populacji liczebnością analizowanych grup.

Przeprowadzone badania wykazały istotnie wyższe średnie wartości PASI w populacji chorych na łuszczycę będących nosicielami jednej kopii *LCE3C\_LCE3B-del* (heterozygotami) a homozygotami posiadającymi obie kopie genów *LCE3B* i *LCE3C*. Wynik ten może świadczyć o istnieniu wpływu *LCE3C\_LCE3B-del* na obraz kliniczny łuszczycy u chorych z przynajmniej jedną kopią allelu z delecją. W danych z piśmiennictwa dostępne są pojedyncze doniesienia dotyczące częstszego występowania *LCE3C\_LCE3B-del* wśród osób chorych z wczesną postacią schorzenia [102,149]. Do tej pory nie analizowano korelacji tego polimorfizmu ze stopniem nasilenia łuszczycy, wyrażonym wskaźnikiem PASI.

W 1999 r. ukazały się wyniki badania przeprowadzonego przez zespół Capon, na podstawie którego wykazano interakcję pomiędzy *locus* PSORS4 a *HLA-Cw\*06* [60]. Intensywny rozwój analiz molekularnych w kolejnych latach oraz sekwencjonowanie PSORS4, doprowadziły do uzyskania interesujących wyników świadczących o istnieniu

interakcji pomiędzy *HLA-Cw\*06* oraz *LCE3C\_LCE3B-del* u osób chorych na łuszczycę [55,96,146,147,155]. Powyższe dane nie znalazły potwierdzenia w niniejszym opracowaniu, gdyż nie udowodniono statystycznie istotnej różnicy pomiędzy chorymi na łuszczycę a grupą kontrolną w częstościach alleli z *LCE3C\_LCE3B-del* wśród osób, u których jednocześnie występował *HLA-Cw\*06*. Wynik ten może wynikać ze zbyt małej liczby osób *Cw\*06*-dodatnich w obrębie grupy kontrolnej, a zatem uzasadniona byłaby kontynuacja analiz w oparciu o większe liczebnie populacje.

Cystatyna A, nazywana również stefiną A, jest białkiem o masie cząsteczkowej 11 kDa, zlokalizowanym głównie w obrębie ziarnistości keratohialinowych warstwy ziarnistej, jak i w warstwie rogowej naskórka [208]. U ludzi białko to wyizolowano także z komórek macierzy włosów i paznokci, granulocytów wielojądrzastych oraz z komórek wątroby i śledziony [209,210]. Do głównych funkcji cystatyny A, będącej inhibitorem proteazy cysteinowej, należy ochrona komórek i tkanek przed czynnikami proteolitycznymi [211]. Białko to należy również do białek prekursorowych koperty rogowej tworzonej w końcowym etapie różnicowania keratynocytów [212]. Zaobserwowana zwiększona ekspresja cystatyny A w obrębie blaszek łuszczycowych w porównaniu ze skórą zdrową doprowadziła do wysunięcia hipotezy dotyczącej związku tego białka z zaburzeniami funkcjonowania bariery naskórkowej w kontekście patogenezy łuszczycy [186]. Przypuszcza się, że ekspresja *CSTA* może mieć wpływ na proliferację keratynocytów oraz procesy keratynizacji, których nieprawidłowości prowadzą do powstania blaszek łuszczycowych na skórze.

Powyższa hipoteza skłoniła autorkę do poszukiwania związku *CSTA* z łuszczycą, a niniejsza praca jest pierwszym takim badaniem przeprowadzonym w populacji osób chorych pochodzących z Europy Środkowo-Wschodniej. W toku prowadzonych analiz nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w częstościach występowania alleli *CSTA\*C* i *CSTA\*T*, jak i w częstościach występowania poszczególnych genotypów *CSTA* pomiędzy grupą badaną a kontrolną. Żaden z wariantów genu *CSTA* nie wykazał wpływu na ryzyko rozwoju łuszczycy, jak i związku z *HLA-Cw\*06* w predyspozycji do schorzenia w badanej populacji chorych na łuszczycę. Brak wpływu *CSTA* na predyspozycję do rozwoju łuszczycy został, poza niniejszą pracą, udowodniony również przez Samuelsson i wsp. Projekt tej analizy różnił się od założeń pracy autorki, gdyż polegał na asocjacji zidentyfikowanych w pierwszym etapie badania polimorfizmów *CSTA* z łuszczycą w populacji skupiającej 44 rodziny pochodzenia szwedzkiego. Wyniki uzyskane przez badaczy stanowią jednak wiarygodne potwierdzenie braku związku *CSTA* z łuszczycą w tej populacji [213]. Do odmiennych wniosków doprowadziły analizy przeprowadzone przez Vasilopoluou i wsp. W

badaniu obejmującym 107 chorych na łuszczycę oraz 216 osób zdrowych pochodzących z Wielkiej Brytanii, udowodniono statystycznie istotny wpływ haplotypu *CSTA TCC* na ryzyko rozwoju schorzenia, jednakże tylko w grupie chorych na łuszczycę będących jednocześnie nosicielami przynajmniej jednej kopii *HLA-Cw\*06* [156]. W kolejnej analizie stanowiącej kontynuację badania z 2008 r., Vasilopoluou i wsp. wykazali istnienie interakcji pomiędzy *loci* podatności na łuszczycę - PSORS1, PSORS4 i PSORS5 wśród 130 rodzin z licznymi zachorowaniami na łuszczycę pochodzących z Wielkiej Brytanii. W badanej populacji wykazano 105-krotnie większe ryzyko rozwoju schorzenia w stosunku do grupy kontrolnej, u osób *HLA-Cw\*06*-dodatnich posiadających dodatkowo dwie kopie alleli genów *CSTA* i *D1S2346* [157]. W pracy Vasilopoluou i wsp. liczebności grupy badanej jak i kontrolnej były zbliżone do populacji analizowanych w niniejszej pracy [156]. Odmienne wyniki uzyskane przez brytyjskich badaczy mogą wynikać z faktu, iż badany polimorfizm w obrębie *CSTA* wykazywał istotny wpływ na ryzyko rozwoju łuszczycy jedynie w grupie osób *HLA-Cw\*06*-dodatnich. Można zatem przypuszczać, że efekt ekspresji *CSTA* jest uzależniony od obecności głównego allelu podatności na łuszczycę, jakim jest *HLA-Cw\*06*. Kolejny argument przemawiający za odmiennymi w stosunku do zespołu Vasilopoluou obserwacjami autorki może wynikać z różnic genetycznych występujących pomiędzy populacją polską a brytyjską. W grupie chorych pochodzących z Wielkiej Brytanii mogą istnieć dodatkowe czynniki genetyczne, w tym odmiennie *loci* sprzężone z *CSTA*, sprzyjające fenotypowemu ujawnieniu się łuszczycy, które nie są obecne w populacji polskiej.

Szczególnie interesującym wynikiem jest stwierdzenie przez autorkę istotnie częstszego występowania allelu *ERAPI\*G* w populacji chorych na łuszczycę w porównaniu z grupą kontrolną. Z kolei *ERAPI\*C* znamiennej częściej stwierdzano wśród osób z populacji kontrolnej, co może świadczyć o jego działaniu protekcyjnym, chroniącym przed rozwojem łuszczycy. Niniejsza praca stanowi pierwsze badanie nad częstością występowania wariantów genetycznych *ERAPI* w populacji osób z łuszczycą pochodzącej z Europy Środkowo-Wschodniej. Powyższe obserwacje potwierdzają wyniki szeroko zakrojonego badania Strange i wsp., w którym udowodniono asocjację *ERAPI* z łuszczycą w populacji zamieszkującej obszary Wielkiej Brytanii i Irlandii [55]. Do analogicznych wniosków doszli badacze chińscy w analizach obejmujących chorych na łuszczycę pochodzenia azjatyckiego [108,170].

Ocena częstości poszczególnych genotypów *ERAPI* ujawniła istotnie częstsze występowanie homozygot GG wśród osób z łuszczycą w stosunku do grupy kontrolnej. Zgodnie z aktualnym stanem wiedzy, jest to pierwsze takie doniesienie. Autorka nie może zatem odnieść się do wyników innych badaczy, jednak uzyskane przez nią dane mogą

stanować dowód na istnienie istotnego wpływu allelu *G* genu *ERAPI* na ryzyko rozwoju łuszczycy. Wpływ zygotywności *ERAPI* na fenotyp łuszczycy nie został w niniejszej analizie udowodniony, gdyż nie wykazano statystycznie istotnych różnic w średnich wartościach PASI pomiędzy jego poszczególnymi genotypami. Wynik ten różni się od obserwacji Oostven i wsp., w której wykazano cięższy przebieg schorzenia u osób będących nosicielami polimorfizmu w obrębie *ERAPI* [172]. Analiza ta została jednak przeprowadzona w populacji dziecięcej, co może być przyczyną odmiennych wyników.

Wyniki pojedynczych doniesień świadczących o istnieniu interakcji pomiędzy *ERAPI* a głównym allelem podatności na łuszczycę - *HLA-Cw\*06* nie zostały potwierdzone w niniejszym badaniu [55,149]. Pomimo, że u osób *Cw\*06*-dodatnich wykazano statystycznie istotną różnicę pomiędzy chorymi a grupą kontrolną w częstościach alleli genu *ERAPI*, różnica ta była obecna również dla całej grupy badanych osób bez ograniczenia do nosicieli allelu *HLA-Cw\*06*. Świadczy to o braku interakcji pomiędzy *ERAPI* a *HLA-Cw\*06*, co może wynikać z niewielkiej liczebności grupy kontrolnej z allelem *Cw\*06*. Dla porównania, do analizy przeprowadzonej przez zespół Strange, w której stwierdzono istotną obecność takiej interakcji, zakwalifikowano 2622 chorych na łuszczycę i 5667 osób zdrowych [55].

Polimorfizmy w obrębie *ZAP70* stanowiły kolejne warianty analizowane w niniejszym opracowaniu. Autorka wykazała nieznacznie częstsze występowanie allelu *ZAP70\*G* w populacji chorych na łuszczycę w stosunku do osób z grupy kontrolnej, jednak wynik ten nie był statystycznie istotny. W populacji chorych na łuszczycę częściej obserwowano również genotyp homozygotyczny GG bądź heterozygotyczny AG, jednak różnica ta w porównaniu z grupą kontrolną nie była znamieną. Powyższe dane mogą świadczyć o istnieniu asocjacji *ZAP70\*G* z łuszczycą, jednak hipoteza ta wymaga weryfikacji w oparciu o szersze zakrojone analizy. Przyczyną uzyskania wyników nieistotnych statystycznie może być zbyt niska liczebność populacji badanej i kontrolnej. Do tej pory w piśmiennictwie ukazało się jedno doniesienie świadczące o wpływie *ZAP70* na ryzyko rozwoju łuszczycy [55].

Interesujące wyniki meta analizy przeprowadzonej przez zespół Strange dowodzą nie tylko istotnej roli *ZAP70* w predyspozycji do schorzenia, lecz również wskazują na istnienie związku polimorfizmów w obrębie omawianego genu z *HLA-Cw\*06*. Takiej asocjacji nie wykazano natomiast w niniejszym badaniu, gdyż nie stwierdzono statystycznie istotnej różnicy pomiędzy chorymi na łuszczycę a osobami z grupy kontrolnej w częstościach alleli *ZAP70* w grupie osób z allelem *HLA-Cw\*06*. Może to wynikać ze zbyt małej liczby osób *Cw\*06*-dodatnich w obrębie grupy kontrolnej, a zatem analizy te powinny być kontynuowane w oparciu o większe liczebnie populacje.



W odniesieniu do wpływu badanych polimorfizmów w obrębie *ZAP70* na stopień nasilenia łuszczycy, wykazano istotnie wyższe średnie wartości wskaźnika PASI u chorych będących nosicielami przynajmniej jednej kopii *ZAP70\*G* w stosunku do chorych będących homozygotami AA. Z kolei w grupie chorych, u których stwierdzono dwie kopie *ZAP70\*A*, średnie wartości PASI były znamienne niższe w porównaniu z osobami z jedną kopią *ZAP70\*G*. Wyniki te mogą świadczyć o istnieniu protekcyjnego charakteru *ZAP70\*A*, jednak jedynie u osób posiadających obie kopie tego allelu. Z drugiej strony, obecność *ZAP70\*G* może stanowić czynnik niekorzystny rokowniczo, wiążący się z cięższym przebiegiem schorzenia. Hipoteza ta wymaga weryfikacji w zróżnicowanych etnicznie populacjach, gdyż zgodnie z aktualnym stanem wiedzy dane dotyczące tego zjawiska, do których autorka mogłaby się odnieść, nie są dostępne.

Wśród chorych na łuszczycę posiadanie *HLA-Cw\*06* statystycznie istotnie zwiększało ryzyko rozwoju tej dermatozy 2,4 razy. Brak allelu *HLA-Cw\*06* w sposób znamieny dwukrotnie zmniejszało to ryzyko. Spośród analizowanych w pracy alleli genów *HLA-C*, *LCE3C\_LCE3B-del*, *CSTA*, *ERAPI* i *ZAP70*, *HLA-Cw\*06* wykazał zatem najsilniejszy wpływ na predyspozycję do rozwoju łuszczycy w badanej populacji. Wyniki te są zbieżne z obserwacjami innych autorów i potwierdzają hipotezę, iż *HLA-Cw\*06* zlokalizowany w obrębie PSORS1 na chromosomie 6 stanowi główny, aczkolwiek nie jedyny, marker podatności na łuszczycę [54,69,73-77,86]. Wykazano bowiem, iż geny należące do *locus* PSORS1 odpowiadają za mniej niż 50% predyspozycji do rozwoju wczesnych postaci schorzenia w populacjach kaukazoidalnych, a fakt ten świadczy o istnieniu innych *loci*/genów spoza regionu MHC, które mogą wiązać się ze zwiększonym ryzykiem rozwoju łuszczycy, co zostało udowodnione również w niniejszym badaniu [75]. W toku przeprowadzonych przez autorkę analiz genetycznych wykazano, że w badanej populacji osób chorych posiadanie allelu *ERAPI\*G* statystycznie istotnie zwiększało ryzyko rozwoju łuszczycy dwukrotnie, natomiast obecność przynajmniej jednej kopii *ERAPI\*C* w sposób znamieny to ryzyko zmniejszała 1,5 razy. W odniesieniu do *ZAP70\*G* oraz *LCE3C\_LCE3B-del* wykazano istnienie niewielkiego wpływu na predyspozycję do schorzenia, jednak wynik ten nie był statystycznie istotny. Nie udowodniono natomiast żadnego związku analizowanych wariantów genetycznych w obrębie *CSTA* ze zwiększonym ryzykiem rozwoju łuszczycy w populacji badanej.

W kontekście *HLA-Cw\*06* powszechnie uznawanego za główny marker podatności na łuszczycę, uzyskane przez autorkę wyniki dotyczące asocjacji *ERAPI\*G* z ryzykiem rozwoju schorzenia są interesujące. W badanej populacji chorych na łuszczycę, allel *G* genu *ERAPI*

okazał się niemal równie silnym markerem genetycznym podatności na łuszczycę co *HLA-Cw\*06*. Pomimo że w niniejszej pracy nie wykazano statystycznie istotnej interakcji genetycznej pomiędzy wspomnianymi allelami, powyższe wyniki wydają się mieć swoje odzwierciedlenie w biologicznych funkcjach pełnionych przez białka kodowane przez *HLA-Cw\*06* i *ERAP1*. Na podstawie powyższych informacji autorka skłania się do wysunięcia hipotezy, iż uwarunkowana genetycznie zmiana funkcji białek ERAP1 i Cw6 w grupie chorych na łuszczycę ma ze sobą związek i może odgrywać istotną rolę w patogenezie schorzenia. Jedną z dotychczasowych teorii dotyczących indukcji procesu łuszczycowego, opiera się na zjawisku prezentacji nieznanymi jak dotąd antygenów limfocytom CD8<sup>+</sup> za pośrednictwem cząsteczki Cw6. Autorka przypuszcza, że do nadmiernej aktywacji limfocytów CD8<sup>+</sup> może dochodzić w wyniku prezentacji w kontekście cząsteczek MHC klasy I białek, których N-końcowe fragmenty są uprzednio poddawane nieprawidłowej proteolitycznej obróbce katalizowanej przez ERAP1. Hipoteza ta z pewnością wymaga weryfikacji w oparciu o większe liczebnie populacje.

W pionierskim badaniu z 2011 r. przeprowadzonym przez zespół Chen, podjęto się oceny ryzyka zachorowania na łuszczycę u osób będących nosicielami 10 markerów typu SNP, które wykazują sprzężenie ze schorzeniem. W analizowanym zestawie wartość prognostyczna wystąpienia łuszczycy dla allelu *HLA-Cw\*06* była porównywalna do łącznej wartości prognostycznej wszystkich pozostałych 9 wariantów genowych, jednak spośród owych 9 markerów tylko jeden wykazywał we wcześniejszych doniesieniach interakcję z głównym allelem podatności na to schorzenie [100]. Dla porównania, opracowany również w 2011 r. zestaw 3 markerów genetycznych łuszczycy, które wykazują interakcję, zwiększało ryzyko wystąpienia choroby ponad 100-krotnie w porównaniu do allelu *HLA-Cw\*06* analizowanego samodzielnie [157]. Utworzenie w niniejszej pracy panelu składającego się z 4 wariantów genowych oraz ocena genetycznego wskaźnika ryzyka wpisują się zatem w najnowszy trend łączenia zidentyfikowanych markerów genetycznych łuszczycy w celu kompleksowej oceny ryzyka rozwoju tej dermatozy.

Na podstawie przeprowadzonych analiz statystycznych wykazano istotnie wyższe wartości wskaźników cGRS i wGRS obliczonych dla czterech markerów: *HLA-Cw\*06*, *ERAP1\*G*, *ZAP70\*G* oraz *LCE3C\_LCE3B-del* w grupie chorych na łuszczycę w porównaniu do grupy kontrolnej. Uzyskane wyniki można zinterpretować w następujący sposób. Porównanie wartości cGRS w analizowanych grupach, dowodzi, iż osoby chore na łuszczycę mają statystycznie więcej alleli predysponujących do rozwoju schorzenia w stosunku do osób zdrowych (średnio 4,0 alleli w grupie pacjentów i średnio 3,1 alleli w grupie kontrolnej;

$P=0,0000007$ ). Ponieważ porównanie to nie uwzględniało różnic w predyspozycji do rozwoju łuszczycy między poszczególnymi allelami, dodatkowo obliczono ważone łączne ryzyko genetyczne (wGRS), w którym liczba alleli predysponujących do rozwoju schorzenia przed zsumowaniem została pomnożona przez logarytm naturalny z ilorazu szans dla każdego allelu. Dzięki temu największy udział w wartościach wGRS miał *HLA-Cw\*06*, w przypadku którego stwierdzono najwyższą wartość ilorazu szans, a najmniejszy *LCE3C\_LCE3B-del*. Przy porównaniu liczby alleli mających wpływ na rozwój łuszczycy z uwzględnieniem nierówności w predyspozycji do schorzenia pomiędzy poszczególnymi markerami genetycznymi, co zostało uwzględnione przy obliczeniach wGRS, różnica ta była jeszcze bardziej istotna statystycznie (średnia wartość wGRS wśród osób chorych wyniosła 3,7, natomiast w grupie kontrolnej 2,3;  $P=0,000000000004$ ). Wazony genetyczny wskaźnik ryzyka obliczony dla czterech badanych markerów: *HLA-Cw\*06*, *ERAP1\*G*, *ZAP70\*G* oraz *LCE3C\_LCE3B-del* wykazuje silniejszy związek z rozwojem łuszczycy niż każdy z tych markerów analizowany osobno w populacji pochodzącej z Polski północnej, a jego wartość jest średnio o 58% wyższa u osób chorujących na łuszczycę w porównaniu do grupy kontrolnej.

Podsumowując, spośród analizowanych w badaniu wariantów genów *HLA-C*, *LCE3C\_LCE3B*, *CSTA*, *ERAP1*, *ZAP70* potwierdzono silny wpływ alleli *HLA-Cw\*06* i *ERAP1\*G* na ryzyko rozwoju łuszczycy wśród osób chorych pochodzących z Polski północnej. W badanej populacji polimorfizmy w obrębie *CSTA* nie wiązały się ze zwiększoną predyspozycją do rozwoju schorzenia. Wykazano, że genotyp *HLA-C* ma wpływ na stopień nasilenia łuszczycy, co wcześniej nie zostało odnotowane. Ponadto udowodniono protekcyjny charakter allelu *ERAP1\*C* w analizowanej populacji.

Uzyskane przez autorkę statystycznie nieistotne wyniki w zakresie interakcji poszczególnych polimorfizmów z *HLA-Cw\*06* wynikają ze stosunkowo małej w porównaniu z dostępnymi danymi z piśmiennictwa liczebności analizowanych populacji, w tym osób *Cw\*-06-dodatnich*. W celu bliższego poznania związków pomiędzy poszczególnymi ścieżkami patogenetycznymi warunkowanymi przez określone markery genetyczne, konieczne są dalsze, przeprowadzone na dużą skalę analizy genetyczne.

Łączenie zidentyfikowanych na podstawie badań GWAS polimorfizmów genetycznych wykazujących asocjację z łuszczycą w celu oceny ryzyka rozwoju schorzenia, stanowi najnowszy kierunek analiz molekularnych. W kontekście łuszczycy jako choroby kompleksowej, w której fenotypowe ujawnienie się procesu chorobowego zależy od



oddziaływań pomiędzy czynnikami genetycznymi i środowiskowymi oraz wzajemnej interakcji pomiędzy licznymi genami podatności na łuszczycę, oszacowanie ryzyka rozwoju schorzenia na podstawie pojedynczych markerów genetycznych nie jest możliwe. Ocena indywidualnej predyspozycji do rozwoju łuszczycy na podstawie kilku/kilkunastu wariantów genowych łączonych w panele może w przyszłości stanowić cenne narzędzie diagnostyczne i prognostyczne, jednak konieczny jest dalszy rozwój badań nad rolą zmienności genetycznej, epigenetycznej oraz wpływu czynników środowiskowych na dziedziczenie chorób kompleksowych.

## 6. Wnioski

1. *HLA-Cw\*06* i *ERAPI\*G* istotnie wpływają na predyspozycję do rozwoju łuszczycy w populacji Polski północnej. Związek łuszczycy z *LCE3C\_LCE3B-del*, *ZAP70* i *CSTA* wymaga dalszych analiz w oparciu o badania większych populacji.
2. Warianty genów *LCE3C\_LCE3B*, *CSTA*, *ERAPI* i *ZAP70* nie wykazują bardziej znamiennej zależności z rozwojem łuszczycy u chorych posiadających allel *HLA-Cw\*06* w porównaniu do osób bez allelu *HLA-Cw\*06*, co może świadczyć o braku interakcji między tymi polimorfizmami w populacji Polski północnej.
3. Ciężkość łuszczycy wyrażona wskaźnikiem PASI w populacji chorych pochodzących z Polski północnej zależy od obecności polimorfizmów *LCE3C\_LCE3B-del*, *ZAP70\*G* oraz *HLA-Cw\*06*. Korelacja ta ze względu na liczebność badanej populacji wymaga jednak potwierdzenia w oparciu o szersze zakrojone badania.
4. Ważony genetyczny wskaźnik ryzyka obliczony dla czterech badanych markerów: *HLA-Cw\*06*, *ERAPI\*G*, *ZAP70\*G* oraz *LCE3C\_LCE3B-del* wykazuje bardzo silny związek z rozwojem łuszczycy w populacji pochodzącej z Polski północnej, a jego szacowanie może mieć praktyczne znaczenie.

## 7. Streszczenie

Łuszczyca jest chorobą kompleksową o wielogenowym i wieloczynnikowym modelu dziedziczenia. Liczne badania dowodzą, iż allel *HLA-Cw\*06* stanowi główny, aczkolwiek nie jedyny, marker podatności na łuszcycę. W kontekście patogenezy schorzenia, uwaga badaczy skupia się w ostatnich latach nad rolą innych, zlokalizowanych poza MHC, genów m.in. zaangażowanych w funkcjonowanie bariery naskórkowej. Analizy przeprowadzone w etnicznie zróżnicowanych populacjach wykazały asocjację *LCE3C\_LCE3B-del* i *CSTA* z łuszcycą. Najnowsze doniesienia wskazują również na związek łuszczyca z wariantami genów *ERAP1* i *ZAP70*. Białka przez nie kodowane biorą udział w obróbce i prezentacji antygenów w kontekście MHC klasy I. Podobnie jak w przypadku innych schorzeń kompleksowych, takich jak cukrzyca, nadciśnienie tętnicze, astma oskrzelowa, w których podłoże genetyczne uwarunkowane jest oddziaływaniami pomiędzy czynnikami genetycznymi i środowiskowymi oraz wzajemną interakcją pomiędzy licznymi genami, oszacowanie ryzyka rozwoju łuszczyca na podstawie pojedynczych polimorfizmów genetycznych nie jest możliwe. Z tego powodu, w ostatnich latach obserwuje się trend łączenia w panele poznanych dotąd markerów genetycznych wykazujących związek z łuszcycą, których łączna ocena pozwala na oszacowanie predyspozycji do zachorowania na to schorzenie, co może mieć w przyszłości praktyczne zastosowanie.

Celem pracy było porównanie częstości występowania polimorfizmów genetycznych *HLA-C*, *LCE3B\_LCE3C-del*, *CSTA*, *ERAP1*, *ZAP70* oraz analiza współwystępowania *LCE3B\_LCE3C-del*, *CSTA*, *ERAP1*, *ZAP70* z *HLA-Cw\*06* w populacji chorych na łuszcycę i w populacji kontrolnej pochodzących z Polski północnej. Ponadto dokonano oceny korelacji występowania badanych markerów genetycznych z ciężkością łuszczyca, wyrażoną wskaźnikiem PASI oraz oszacowano genetyczny wskaźnik ryzyka wystąpienia łuszczyca dla pięciu badanych polimorfizmów genetycznych.

Badaniem objęto 148 dorosłych, niespokrewnionych chorych na łuszcycę oraz 149 osób stanowiących grupę kontrolną. Obie grupy pochodziły z tego samego regionu Polski północnej. U wszystkich chorych na łuszcycę określono wskaźnik PASI. Do typowania obecności i zgotyczności poszczególnych polimorfizmów genetycznych wykorzystano metody PCR-AFLP, PCR-SSP i PCR-RFLP. Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej. Wartości GRS dla grupy badanej i kontrolnej obliczono na dwa sposoby - jako

cGRS oraz wGRS.

Wykazano statystycznie częstsze występowanie alleli *HLA-Cw\*06* oraz *ERAPI\*G* w grupie chorych na łuszczycę w porównaniu do grupy kontrolnej. W badanej populacji posiadanie *HLA-Cw\*06* lub *ERAPI\*G* istotnie zwiększało ryzyko rozwoju łuszczycy, odpowiednio: 2,4 i 2 razy. Nie wykazano statystycznie istotnych różnic pomiędzy chorymi na łuszczycę a osobami z grupy kontrolnej w częstościach alleli z *LCE3C\_LCE3B-del* oraz analizowanych alleli genów *CSTA* i *ZAP70*. Stwierdzono znamienne wyższe wartości PASI w grupach chorych będących homozygotami *Cw\*06/Cw\*06*, posiadających allele *ZAP70\*G* lub *LCE3C\_LCE3B-del*. Wartości cGRS i wGRS dla czterech badanych polimorfizmów *HLA-Cw\*06*, *ERAPI\*G*, *ZAP70\*G* oraz *LCE3C\_LCE3B-del* były istotnie wyższe w populacji chorych na łuszczycę w porównaniu do grupy kontrolnej.

Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, że *HLA-Cw\*06* i *ERAPI\*G* istotnie wpływają na predyspozycję do rozwoju łuszczycy w populacji Polski północnej. Warianty genów *LCE3C\_LCE3B*, *CSTA*, *ERAPI* i *ZAP70* nie wykazują interakcji z allelem *HLA-Cw\*06* w badanej populacji. Ciężkość łuszczycy wyrażona wskaźnikiem PASI w populacji chorych pochodzących z Polski północnej zależy od obecności polimorfizmów *LCE3C\_LCE3B-del*, *ZAP70\*G* oraz *HLA-Cw\*06*. Ważny genetyczny wskaźnik ryzyka obliczony dla czterech badanych markerów: *HLA-Cw\*06*, *ERAPI\*G*, *ZAP70\*G* oraz *LCE3C\_LCE3B-del* wykazuje bardzo silny związek z rozwojem łuszczycy w populacji pochodzącej z Polski północnej.

Przeprowadzone badania potwierdzają zasadność łączenia poznanych dotąd markerów genetycznych wykazujących asocjację z łuszczycą w celu kompleksowej oceny ryzyka rozwoju schorzenia, co może dostarczyć cennego narzędzia diagnostycznego i prognostycznego w praktyce dermatologicznej.

## 8. Summary

Psoriasis is a complex disease with polygenic and multifactorial mode of inheritance. Numerous studies have shown that *HLA-Cw\*06* allele is a major, although not the only susceptibility marker of psoriasis. In the context of the pathogenesis of the disease, recent studies have been focused on the role of genes localized outside MHC region, inter alia, involved in the epidermal barrier function. Genetic analyses performed in ethnically diverse populations have shown an association of *LCE3C\_LCE3B-del* and *CSTA* with psoriasis. Recent reports also indicate a link between genetic variants of *ERAPI* and *ZAP70* and psoriasis. The proteins encoded by these genes are involved in antigen processing and its presentation in the context of MHC class I. As in other complex disorders, such as diabetes, hypertension, bronchial asthma, where genetic background is determined by gene-environment and gene-gene interactions, the estimation of the risk of psoriasis development based on the individual genetic polymorphisms is impossible. For this reason, recent genetic analyses have been focused on combination of known psoriasis susceptibility markers into panels in order to improve psoriasis risk evaluation, which can become a useful diagnostic tool.

The aim of the study was to compare the incidence of genetic polymorphisms of *HLA-C*, *LCE3B\_LCE3C-del*, *CSTA*, *ERAPI*, *ZAP70* and analysis of coexistence of *LCE3B\_LCE3C-del*, *CSTA*, *ERAPI*, *ZAP70* with *HLA-Cw\*06* in a group of patients with psoriasis and control population from northern Poland. Moreover the correlation of analyzed genetic markers with the severity of psoriasis, provided by PASI score as well as estimation of genetic risk score involving five genetic polymorphisms have been assessed.

The study included 148 adult, unrelated patients with psoriasis and 149 controls. Both groups were recruited from the same region of northern Polish. In psoriatic patients PASI score has been estimated. Genotyping and zygosity of specific genetic polymorphisms have been performed by means of PCR-AFLP, PCR-SSP and PCR-RFLP methods. The results were statistically analyzed. GRS values in the study and control groups was calculated by two methods - as cGRS and wGRS.

A statistically higher incidence of *HLA-Cw\*06* and *ERAPI\*G* alleles in patients with psoriasis compared to the control group has been revealed. The presence of *HLA-Cw\*06* or *ERAPI\*G* allele significantly increased the risk of psoriasis development by 2,4 times or twice respectively. There were no statistically significant differences between psoriatic

patients and controls in the frequencies of *LCE3C\_LCE3B-del*, *CSTA* and *ZAP70* alleles. Psoriatic patients with homozygous genotype of *HLA-Cw\*06* or carrying at least one copy of *ZAP70\*G* or *LCE3C\_LCE3B-del* presented statistically higher PASI scores. cGRS and wGRS scores evaluated for four studied polymorphisms - *HLA-Cw\*06*, *ERAP1\*G*, *ZAP70\*G* and *LCE3C\_LCE3B-del* were significantly higher in the population of patients with psoriasis compared to the control group.

The study results show that *HLA-Cw\*06* and *ERAP1\*G* alleles demonstrate a strong influence on the genetic predisposition to the psoriasis development in the population of the northern Poland. Genetic variants of *LCE3C\_LCE3B*, *CSTA*, *ERAP1* and *ZAP70* do not interact with *HLA-Cw\*06* allele in the study population. The severity of psoriasis expressed by PASI score in the population of patients from northern Poland depends on the presence of genetic polymorphisms of *LCE3C\_LCE3B-del*, *ZAP70\*G* and *HLA-Cw\*06*. Weighted genetic risk score calculated for four analyzed markers: *HLA-Cw\*06*, *ERAP1\*G*, *ZAP70\*G* and *LCE3C\_LCE3B-del* demonstrates a very strong correlation with the psoriasis development in the population from the northern Poland.

The study confirms the validity of combining known genetic markers associated with psoriasis in order to assess the risk of the disease development, what can become a valuable diagnostic and prognostic tool in dermatological practice.

## 9. Piśmiennictwo

1. Jukić Z, Rucević I, Barisić-Drusko V, Dujomir M. Historical development of local therapy of psoriasis vulgaris. *Acta Dermatovenerol Croat* 2004; 12(3): 191-195.
2. Willan R. *On Cutaneous Diseases*. Johnson, London; 1808: str. 52-64.
3. Łuczowska M, Żaba R. Psoriasis. *Przew Lek* 2005; 7: 38-49.
4. Szramka-Pawlak B. Historia badań nad łuszczycą. *Nowiny Lekarskie* 2008; 77(6): 480-482.
5. Griffiths CE, Barker JN. Pathogenesis and clinical features of psoriasis. *Lancet* 2007; 370: 263-271.
6. Kurd SK, Troxel AB, Crits-Christoph P, Gelfand JM. The risk of depression, anxiety, and suicidality in patients with psoriasis: a population-based co-hort study. *Arch Dermatol* 2010; 146: 891-895.
7. Kurd SK, Gelfand JM. The prevalence of previously diagnosed and undiagnosed psoriasis in US adults: results from NHANES 2003-2004. *J Am Acad Dermatol* 2009; 60: 218-224.
8. Gelfand JM, Weinstein R, Porter SB, Neimann AL, Berlin JA, Margolis DJ. Prevalence and treatment of psoriasis in the United Kingdom - a population-based study. *Arch Dermatol* 2005; 141: 1537-1541.
9. Camp RDR. Psoriasis. W: Champion RH, Burton JL, Eblin JL. *Textbook of Dermatology*. Blackwell, Oxford, 1992: str. 1391-1458.
10. Farber EM, Nall ML. Epidemiology: natural history and genetics. W: Roenigk HH, Maibach HI. *Psoriasis*. Marcel Dekker, New York, 1998: str. 107-158.
11. Kenney JA. Psoriasis in the American black. W: Farber EM, Cox AJ. *Psoriasis: Proceedings of the International Symposium, Stanford University*; 1971. Stanford University Press, Stanford, CA, 1971: str. 49-52.
12. Christophers E. Psoriasis – epidemiology and clinical spectrum. *Clin Exp Dermatol* 2001; 26(4): 314-320.
13. Gelfand JM, Stern RS, Nijsten T, Feldman SR, Thomas J, Kist J, Rolstad T, Margolis DJ. The prevalence of psoriasis in African Americans: results from a population-based study. *J Am Acad Dermatol* 2005; 52(1): 23-26.
14. Farber E, Nall L. Epidemiology: Natural History and Genetics. Roenigk HH Jr, Maibach H, editors. *Psoriasis*. Marcel Dekker Inc.; New York: 1998. str. 107-157.

15. Huerta C, Rivero E, Garcia Rodriguez LA. Incidence and risk factors for psoriasis in the general population. *Arch Dermatol* 2007; 143: 1559–1565.
16. Icen M, Crowson CS, McEvoy MT, Dann FJ, Gabriel SE, Maradit Kremers H. Trends in incidence of adult-onset psoriasis over three decades: a population-based study. *J Am Acad Dermatol* 2009; 60(3): 394–401.
17. Henseler T, Christophers E. Psoriasis of early and late onset: characterization of two types of psoriasis vulgaris. *J Am Acad Dermatol* 1985; 13: 450–456.
18. Nograles KE, Davidovici B, Krueger JG. New insights in the immunologic basis of psoriasis. *Semin Cutan Med Surg* 2010; 29: 3-9.
19. Mrowietz U. Cyclosporine as maintenance therapy in patients with severe psoriasis. *J Am Acad Dermatol* 2013; 69(2): 308-309.
20. Swimberghe S, Ghislain PD, Daci E, Allewaert K, Denhaerynck K, Hermans C, Pacheco C, Vancayzeele S, Macdonald K, Abraham I. Clinical, Quality of Life, Patient Adherence, and Safety Outcomes of Short- Course (12 Weeks) Treatment with Cyclosporine in Patients with Severe Psoriasis (the Practice Study). *Ann Dermatol* 2013; 25(1): 28-35.
21. Christophers E, Mrowietz U. The inflammatory infiltrate in psoriasis. *Clin Dermatol* 1995; 13(2): 131-135.
22. Doger FK, Dikicioglu E, Ergin F, Unal E, Sendur N, Uslu M. Nature of cell kinetics in psoriatic epidermis. *J Cutan Pathol* 2007; 34(3): 257-263.
23. Fallen RS, Mitra A, Morrissey L, Lima H. Psoriasis as a chess board – an update of psoriasis pathophysiology. *Psoriasis – types, causes and medication*. H. Lima, InTech, Rijeka, 2013, str. 57-90.
24. Aggarwal S, Ghilardi N, Xie MH, de Sauvage FJ, Gurney AL. Interleukin-23 promotes a distinct CD4 T cell activation state characterized by the production of interleukin-17. *J Biol Chem* 2003; 278(3): 1910 - 1914.
25. Ouyang W, Kolls JK, Zheng Y. The biological functions of T helper 17 cell effector cytokines in inflammation. *Immunity* 2008; 28(4): 454-467.
26. Teunissen MB, Koomen CW, de Waal Malefyt R, Wierenga EA, Bos JD. Interleukin-17 and interferon-gamma synergize in the enhancement of proinflammatory cytokine production by human keratinocytes. *J Invest Dermatol* 1998; 111(4): 645-649.
27. Kagami S. IL-23 and Th17 cells in infections and psoriasis. *Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi* 2011; 34(1): 13-19.



28. Nograles KE, Zaba LC, Guttman-Yassky E, Fuentes-Duculan J, Suárez-Fariñas M, Cardinale I, Khatcherian A, Gonzalez J, Pierson KC, White TR, Pensabene C, Coats I, Novitskaya I, Lowes MA, Krueger JG. Th17 cytokines interleukin (IL)-17 and IL-22 modulate distinct inflammatory and keratinocyte-response pathways. *Br J Dermatol* 2008; 159(5): 1092-1102.
29. Zhu S, Qian Y. IL-17/IL-17 receptor system in autoimmune disease: mechanisms and therapeutic potential. *Clin Sci (Lond.)* 2012; 122(11): 487-511.
30. Sabat R, Wolk K. Research in practice: IL-22 and IL-20: significance for epithelial homeostasis and psoriasis pathogenesis. *J Dtsch Dermatol Ges* 2011; 9(7): 518-523.
31. Nedoszytko B. Znaczenie subpopulacji limfocytów T w patogenezie łuszczycy. *Post Dermat Alergol* 2008; 25(1): 20-33.
32. Basavaraj KH, Ashok NM, Rashmi R, Praveen TK. The role of drugs in the induction and/or exacerbation of psoriasis. *Int J Dermatol* 2010; 49(12): 1351-1361.
33. Wolters M. Diet and psoriasis: experimental data and clinical evidence. *Br J Dermatol* 2005; 153(4): 706-714.
34. Farkas A, Kemény L, Széll M, Dobozy A, Bata-Csörgo Z. Ethanol and acetone stimulate the proliferation of HaCaT keratinocytes: The possible role of alcohol in exacerbating psoriasis. *Arch Dermatol Res* 2003; 295(2): 56-62.
35. Cheng SE, Luo SF, Jou MJ, Lin CC, Kou YR, Lee IT, Hsieh HL, Yang CM. Cigarette smoke extract induces cytosolic phospholipase A2 expression via NADPH oxidase, MAPKs, AP-1, and NF-kappaB in human tracheal smooth muscle cells. *Free Radic Biol Med* 2009; 46(7): 948-960.
36. Thappa DM. The isomorphic phenomenon of Koebner. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2004; 70: 187-189.
37. Evers AW, Verhoeven EW, Kraaimaat FW, de Jong EM, de Brouwer SJ, Schalkwijk J, Sweep FC, van de Kerkhof PC. How stress gets under the skin: cortisol and stress reactivity in psoriasis. *Br J Dermatol* 2010; 163(5): 986-991.
38. Blok S, Vissers WH, van Duijnhoven M, van de Kerkhof PC. Aggravation of psoriasis by infections: a constitutional trait or a variable expression? *Eur J Dermatol* 2004; 14(4): 259-261.
39. Köbner H. Zur Aetiologie der Psoriasis. *Vjschr Dermatol* 1876; 3: 559.
40. Boyd AS, Nelder KH. The isomorphic response of Koebner. *Int J Dermatol* 1990; 29(6): 401-410.

41. Shelley WB, Arthur RB. Biochemical and physiological clues to the nature of psoriasis. *Arch Dermatol* 1958; 78(1): 14–29.
42. Sagi L, Trau H. The Koebner phenomenon. *Clin Dermatol* 2011; 29(2): 231-236.
43. Mahajan R, Handa S. Pathophysiology of psoriasis. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2013; 79(7): 1-9.
44. Bergboer JG, Oostveen AM, de Jager ME, Zeeuwen PL, Joosten I, Seyger MM, Schalkwijk J. Koebner phenomenon in psoriasis is not associated with deletion of late cornified envelope genes LCE3B and LCE3C. *J Invest Dermatol* 2012; 132(2): 475-476.
45. Watson W, Cann HM, Farber EM, Nall ML. The genetics of psoriasis. *Arch Dermatol* 1972; 105(2): 197–207.
46. Morris A, Rogers M, Fischer G, Williams K. Childhood psoriasis: a clinical review of 1262 cases. *Pediatr Dermatol* 2001; 18(3): 188–198.
47. Farber EM, Nall ML, Watson W. Natural history of psoriasis in 61 twin pairs. *Arch Dermatol* 1974; 109(2): 207-211.
48. Duffy DL, Spelman LS, Martin NG. Psoriasis in Australian twins. *J Am Acad Dermatol* 1993; 29(3): 428–434.
49. Russel TJ, Schultes LM, Kuban DJ. Histocompatibility (HL-A) antigens associated with psoriasis. *N Eng J Med* 1972; 284(15): 738-743.
50. White HS, Newcomber VD, Mickey MR, Terasaki PI. Disturbance of HLA antigen frequency in psoriasis. *N Eng J Med* 1972; 287: 740-743.
51. Svejgaard A, Platz P, Ryder LP, Nielsen LS, Thomssen B. HLA and disease associations – a survey. *Transplant Rev* 1975; 22: 3–43.
52. Economidou J, Papasteriades C, Varla-Leftherioti M, Vareltzidis A, Stratigos J. Human leukocyte antigens A, B, and C in Greek patients with psoriasis: relation to age and clinical expression of the disease. *J Am Acad Dermatol* 1985; 13: 578–582.
53. Enerback CH, Martisson T, Inerot A, Wahlstrom J, Enlund F, Yhr M, Samuelsson L, Swanbeck G. Significantly earlier age at onset for the HLA–Cw6-positive than for the Cw6-negative psoriatic sibling. *J Invest Dermatol* 1997; 109(5): 695-696.
54. Ikaheimo I, Silvennoinen-Kassinen S, Karvonen J, Tiilikainen A. Alanine at position 73 of HLA–C is associated with psoriasis vulgaris in Finland. *Br J Dermatol* 1994; 131(2): 257-259.
55. Strange A, Capon F, Spencer CC, Knight J, Weale ME, Allen MH, Barton A, Band G, Bellenguez C, Bergboer JG, Blackwell JM, Bramon E, Bumpstead SJ, Casas JP, Cork

- MJ, Corvin A, Deloukas P, Dilthey A, Duncanson A, Edkins S, Estivill X, Fitzgerald O, Freeman C, Giardina E, Gray E, Hofer A, Hüffmeier U, Hunt SE, Irvine AD, Jankowski J, Kirby B, Langford C, Lascorz J, Leman J, Leslie S, Mallbris L, Markus HS, Mathew CG, McLean WH, McManus R, Mössner R, Moutsianas L, Naluai AT, Nestle FO, Novelli G, Onoufriadis A, Palmer CN, Perricone C, Pirinen M, Plomin R, Potter SC, Pujol RM, Rautanen A, Riveira-Munoz E, Ryan AW, Salmhofer W, Samuelsson L, Sawcer SJ, Schalkwijk J, Smith CH, Stähle M, Su Z, Tazi-Ahnini R, Traupe H, Viswanathan AC, Warren RB, Weger W, Wolk K, Wood N, Worthington J, Young HS, Zeeuwen PL, Hayday A, Burden AD, Griffiths CE, Kere J, Reis A, McVean G, Evans DM, Brown MA, Barker JN, Peltonen L, Donnelly P, Trembath RC. A genome-wide association study identifies new psoriasis susceptibility loci and an interaction between HLA-C and ERAP1. *Nat Genet* 2010; 42(11): 985–990.
56. Tsoi LC, Spain SL, Knight J, Ellinghaus E, Stuart PE, Capon F, Ding J, Li Y, Tejasvi T, Gudjonsson JE, Kang HM, Allen MH, McManus R, Novelli G, Samuelsson L, Schalkwijk J, Stähle M, Burden AD, Smith CH, Cork MJ, Estivill X, Bowcock AM, Krueger GG, Weger W, Worthington J, Tazi-Ahnini R, Nestle FO, Hayday A, Hoffmann P, Winkelmann J, Wijmenga C, Langford C, Edkins S, Andrews R, Blackburn H, Strange A, Band G, Pearson RD, Vukcevic D, Spencer CC, Deloukas P, Mrowietz U, Schreiber S, Weidinger S, Koks S, Kingo K, Esko T, Metspalu A, Lim HW, Voorhees JJ, Weichenthal M, Wichmann HE, Chandran V, Rosen CF, Rahman P, Gladman DD, Griffiths CE, Reis A, Kere J, Nair RP, Franke A, Barker JN, Abecasis GR, Elder JT, Trembath RC. Identification of 15 new psoriasis susceptibility loci highlights the role of innate immunity. *Nat Genet* 2012; 44(12): 1341-1348.
57. Nair RP, Henseler T, Jenisch S, Stuart P, Bichakjian CK, Lenk W, Westphal E, Guo SW, Christophers E, Voorhees JJ, Elder JT. Evidence for two psoriasis susceptibility loci (HLA and 17q) and two novel candidate regions (16q and 20p) by genome wide scan. *Hum Mol Genet* 1997; 6(8): 1349-1356.
58. Burden AD, Javed S, Bailey M, Hodgins M, Connor M, Tillman D. Genetics of psoriasis: paternal inheritance and a locus on chromosome 6p. *J Invest Dermatol* 1998; 110(6): 958-960.
59. Zhang XJ, He PP, Wang ZX, Zhang J, Li YB, Wang HY, Wei SC, Chen SY, Xu SJ, Jin L, Yang S, Huang W. Evidence for a major psoriasis susceptibility locus at 6p21 (PSORS1) and a novel candidate region at 4q31 by genome-wide scan in Chinese hans. *J Invest Dermatol* 2002; 119(6): 1361-1366.

60. Capon F, Semprini S, Dallapicola B, Novelli G. Evidence for interaction between psoriasis-susceptibility loci on chromosomes 6p21 and 6q21. *Am J Hum Genet* 1999; 65(6): 1798-1800.
61. Elder JT. Fine mapping of the psoriasis susceptibility gene PSORS1: a reassessment of risk associated with a putative risk haplotype lacking HLA-Cw6. *J Invest Dermatol* 2005; 124(5): 921–930.
62. Allen MH, Veal C, Faassen A, Powis SH, Vaughan RW, Trembath RC, Barker JN. A non-HLA gene within the MHC in psoriasis. *Lancet* 1999; 353: 1589–1590.
63. Asumalahti K, Veal C, Laitinen T, Suomela S, Allen M, Elomaa O, Moser M, de Cid R, Ripatti S, Vorechovsky I, Marcusson JA, Nakagawa H, Lazaro C, Estivill X, Capon F, Novelli G, Saarialho-Kere U, Barker J, Trembath R, Kere J. Coding haplotype analysis supports HCR as the putative susceptibility gene for psoriasis at the MHC PSORS1 locus. *Hum Mol Genet* 2002; 11(5): 589–597.
64. Trembath RC, Clough RL, Rosbotham JL, Jones AB, Camp RD, Frodsham A, Browne J, Barber R, Terwilliger J, Lathrop GM, Barker JN. Identification of a major susceptibility locus on chromosome 6p and evidence for further disease loci revealed by a two stage genome-wide search in psoriasis. *Hum Mol Genet* 1997; 6(5): 813-820.
65. Bowcock AM. The genetics of psoriasis and autoimmunity. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2005; 6: 93–122.
66. Helms C, Saccone NL, Cao L, Daw JA, Cao K, Hsu TM, Taillon-Miller P, Duan S, Gordon D, Pierce B, Ott J, Rice J, Fernandez-Vina MA, Kwok PY, Menter A, Bowcock AM. Localization of PSORS1 to a haplotype block harboring HLA-C and distinct from corneodesmosin and HCR. *Hum Genet* 2005; 118: 466-476.
67. Capon F, Allen MH, Ameen M, Burden AD, Tillman D, Barker JN, Trembath RC. A synonymous SNP of the corneodesmosin gene leads to increased mRNA stability and demonstrates association with psoriasis across diverse ethnic groups. *Hum Mol Genet* 2004; 13(20): 2361-2368.
68. Tervaniemi MH, Siitonen HA, Söderhäll C, Minhas G, Vuola J, Tiala I, Sormunen R, Samuelsson L, Suomela S, Kere J, Elomaa O. Centrosomal localization of the psoriasis candidate gene product, CCHCR1, supports a role in cytoskeletal organization. *PLoS One* 2012; 7(11): e49920.
69. Nair RP, Stuart PE, Nistor I, Hiremagalore R, Chia NV, Jenisch S, Weichenthal M, Abecasis GR, Lim HW, Christophers E, Voorhees JJ, Elder JT. Sequence and

- haplotype analysis supports HLA-C as the psoriasis susceptibility 1 gene. *Am J Hum Genet* 2006; 78(5): 827–851.
70. O'Brien KP, Holm SJ, Nilsson S, Carlén L, Rosenmüller T, Enerbäck C, Inerot A, Ståhle-Bäckdahl M. The HCR gene on 6p21 is unlikely to be a psoriasis susceptibility gene. *J Invest Derm* 2001; 116(5): 750-754.
71. Orrù S, Giuressi E, Carcassi C, Casula M, Contu L. Mapping of the major psoriasis-susceptibility locus (PSORS1) in a 70-Kb interval around the corneodesmosin gene (CDSN). *Am J Hum Genet* 2005; 76(1): 164-171.
72. Capon F, Trembath RC, Barker JN. An update on the genetics of psoriasis. *Dermatol Clin* 2004; 22: 339–347.
73. Fan X, Yang S, Huang W, Wang ZM, Sun LD, Liang YH, Gao M, Ren YQ, Zhang KY, Du WH, Shen YJ, Liu JJ, Zhang XJ. Fine Mapping of the Psoriasis Susceptibility Locus *PSORS1* Supports HLA-C as the Susceptibility Gene in the Han Chinese Population. *PLoS Genet* 2008; 4(3): e1000038.
74. Enerback C, Nilsson S, Enlund F, Inerot A, Samuelsson L, Wahlstrom J, Swanbeck G, Martinsson T. Stronger association with HLA–Cw6 than corneodesmosin (S-gene) polymorphisms in Swedish psoriasis patients. *Arc Dermatol Res* 2000; 292: 525-530.
75. Gudjonsson JE, Karason A, Runarsdottir EH, Antonsdottir AA, Hauksson VB, Jónsson HH, Gulcher J, Stefansson K, Valdimarsson H. Distinct clinical differences between HLA–Cw\*0602 positive and negative psoriasis patients--an analysis of 1019 HLA–C- and HLA–B-typed patients. *J Invest Dermatol* 2006; 126(4): 740-745.
76. Szczerkowska Dobosz A, Rębała K, Szczerkowska Z, Witkowska T, Toboła A. Correlation of HLA–Cw\*06 allele frequency with some clinical features of psoriasis vulgaris in the population of northern Poland. *J Appl Genet* 2004; 45(4): 473-476.
77. Wu D, Wu Y, Liu JL, Wang B, Zhang XD. Association between HLA-Cw\*0602 polymorphism and psoriasis risk: a meta-analysis. *Genet Mol Res* 2011; 10(4): 3109-3120.
78. Gudjonsson JE, Karason A, Antonsdottir A, Runarsdottir EH, Hauksson VB, Upmanyu R, Gulcher J, Stefansson K, Valdimarsson H. Psoriasis patients who are homozygous for the HLA–Cw\*0602 allele have a 2.5-fold increased risk of developing psoriasis compared with Cw6 heterozygotes. *Br J Dermatol* 2003; 148(2): 233-235.
79. Gudjonsson JE, Johnston A, Sigmundsdottir H and Valdimarsson H. Immunopathogenic mechanisms in psoriasis. *Clin Exp Immunol* 2004; 135(1): 1-8.

80. Szczerkowska Dobosz A, Placek W, Szczerkowska Z, Roszkiewicz J. Psoriasis vulgaris with the early and late onset-HLA phenotype correlations. *Arch Immunol Ther Exp* 1996; 44: 265–269.
81. Nakagawa H, Asahina A, Akazaki S, Tokunaga K, Matsuki K, Kuwata S, Ishibashi Y, Juji T. Study of HLA class I, class II and complement genes (C2, C4A, C4B and BF) in Japanese psoriatics and analysis of a newly found high-risk haplotype by pulsed field gel electrophoresis. *Arch Dermatol Res* 1991; 283: 281–284.
82. Tsai TF, Hu CY, Tsai WL, Chu CY, Lin SJ, Liaw SH, Chiang BL, Lin PJ, Jee S. HLA-Cw6 specificity and polymorphic residues are associated with susceptibility among Chinese psoriatics in Taiwan. *Arch Dermatol Res* 2002; 294: 214–220.
83. Ikaheimo I, Tiilikainen A, Karvonen J, Silvennoinen-Kassinen S. HLA-Cw6 with reference to the clinical picture of psoriasis. *Arch Dermatol Res* 1996; 288: 363-365.
84. Mallon E, Newson R, Bunker CB. HLA-Cw6 and the genetic predisposition to psoriasis: a meta-analysis of published serologic studies. *J Invest Dermatol* 1999; 113(4): 693-695.
85. Fan X, Yang S, Sun LD, Liang YH, Gao M, Zhang KY, Huang W, Zhang X. Comparison of clinical features of HLA-Cw\*0602-positive and -negative psoriasis patients in a Han Chinese population. *Acta Derm Venereol* 2007; 87(4): 335-340.
86. Łuszczek W, Kubicka W, Cisło M, Nockowski P, Woszczek G, Baran E, Kuśmierczyk P. Strong association of HLA-Cw6 allele with juvenile psoriasis in Polish patients. *Immunol Lett* 2003; 85: 59-64.
87. Szczerkowska-Dobosz A. Analiza kliniczna łuszczycy z początkiem po trzydziestym roku życia oraz znaczenie zmodyfikowanej metody PCR do oznaczania allelu HLA-Cw\*06 : wskaźnika genetycznego zróżnicowania tej choroby: rozprawa habilitacyjna. *Ann Acad Med Gedan*, t. 39, supl. 1.
88. Mallon E, Bunce M, Savoie H, Rowe A, Newson R, Gotch F, Bunker CB. HLA-C and guttate psoriasis. *Br J Dermatol* 2000; 146: 1177–1182.
89. A. Maciejewska-Radomska. Łuszczycyca kropelkowata w aspekcie klinicznym i genetycznym. Rozprawa doktorska. Gdańsk, 2011.
90. Johnston A, Gudjonsson JE, Sigmundsdottir H, Love TJ, Valdimarsson H. Peripheral blood T cell responses to keratin peptides that share sequences with streptococcal M proteins are largely restricted to skin-homing CD8(+) T cells. *Clin Exp Immunol* 2004; 138: 83–93.



91. Baker BS, Laman JD, Powles A, van der Fits L, Voerman JS, Melief MJ, Fry L. Peptidoglycan and peptidoglycan-specific Th1 cells in psoriatic skin lesions. *J Pathol* 2006; 209(2): 174–181.
92. Williams F, Meenagh A, Sleator C, Cook D, Fernandez-Vina M, Bowcock AM, Middleton D. Activating killer cell immunoglobulin-like receptor gene KIR2DS1 is associated with psoriatic arthritis. *Hum Immunol* 2005; 66(7): 836–841.
93. Łuszczek W, Mańczak M, Cisko M, Nockowski P, Wiśniewski A, Jasek M, Kuśnierczyk P. Gene for the activating natural killer cell receptor, KIR2DS1, is associated with susceptibility to psoriasis vulgaris. *Hum Immunol* 2004; 65(7): 758–66.
94. Chandran V. The genetics of psoriasis and psoriatic arthritis. *Clin Rev Allergy Immunol* 2013; 44: 149–56.
95. Elder JT. Genome-wide association scan yields new insights into the immunopathogenesis of psoriasis. *Genes Immun* 2009; 10(3): 201-209.
96. de Cid R, Riveira-Munoz E, Zeeuwen PL, Robarge J, Liao W, Dannhauser EN, Giardina E, Stuart PE, Nair R, Helms C, Escaramís G, Ballana E, Martín-Ezquerria G, den Heijer M, Kamsteeg M, Joosten I, Eichler EE, Lázaro C, Pujol RM, Armengol L, Abecasis G, Elder JT, Novelli G, Armour JA, Kwok PY, Bowcock A, Schalkwijk J, Estivill X. Deletion of the late cornified envelope LCE3B and LCE3C genes as a susceptibility factor for psoriasis. *Nat Genet* 2009; 41(2): 211–215.
97. Nair RP, Duffin KC, Helms C, Ding J, Stuart PE, Goldgar D, Gudjonsson JE, Li Y, Tejasvi T, Feng BJ, Ruether A, Schreiber S, Weichenthal M, Gladman D, Rahman P, Schrodi SJ, Prahallad S, Guthery SL, Fischer J, Liao W, Kwok PY, Menter A, Lathrop GM, Wise CA, Begovich AB, Voorhees JJ, Elder JT, Krueger GG, Bowcock AM, Abecasis GR. Genome-wide scan reveals association of psoriasis with IL-23 and NF-kappaB pathways. *Nat Genet* 2009; 41(2): 199–204.
98. Zhang XJ, Huang W, Yang S, Sun LD, Zhang FY, Zhu QX, Zhang FR, Zhang C, Du WH, Pu XM, Li H, Xiao FL, Wang ZX, Cui Y, Hao F, Zheng J, Yang XQ, Cheng H, He CD, Liu XM, Xu LM, Zheng HF, Zhang SM, Zhang JZ, Wang HY, Cheng YL, Ji BH, Fang QY, Li YZ, Zhou FS, Han JW, Quan C, Chen B, Liu JL, Lin D, Fan L, Zhang AP, Liu SX, Yang CJ, Wang PG, Zhou WM, Lin GS, Wu WD, Fan X, Gao M, Yang BQ, Lu WS, Zhang Z, Zhu KJ, Shen SK, Li M, Zhang XY, Cao TT, Ren W, Zhang X, He J, Tang XF, Lu S, Yang JQ, Zhang L, Wang DN, Yuan F, Yin XY, Huang HJ, Wang HF, Lin XY, Liu JJ. Psoriasis genome-wide association study

- identifies susceptibility variants within LCE gene cluster at 1q21. *Nat Genet* 2009; 41(2): 205–210.
99. Hüffmeier U, Bergboer JG, Becker T, Armour JA, Traupe H, Estivill X, Riveira-Munoz E, Mössner R, Reich K, Kurrat W, Wienker TF, Schalkwijk J, Zeeuwen PL, Reis A. Replication of LCE3CLCE3B CNV as a risk factor for psoriasis and analysis of interaction with other genetic risk factors. *J Invest Dermatol* 2010; 130(4): 979–984.
100. Chen H, Poon A, Yeung C, Helms C, Pons J, Bowcock AM, Kwok PY, Liao W. A genetic risk score combining ten psoriasis risk loci improves disease prediction. *PLoS One* 2011; 6(4): e19454.
101. Li M, Wu Y, Chen G, Yang Y, Zhou D, Zhang Z, Zhang D, Chen Y, Lu Z, He L, Zheng J, Liu Y. Deletion of the late cornified envelope genes LCE3C and LCE3B is associated with psoriasis in a Chinese population. *J Invest Dermatol* 2011; 131(81): 1639–1643.
102. Xu L, Li Y, Zhang X, Sun H, Sun D, Jia X, Shen C, Zhou J, Ji G, Liu P, Guan R, Yu Y, Jin Y, Bai J, Sun D, Yu J, Fu S. Deletion of LCE3C and LCE3B genes is associated with psoriasis in a northern Chinese population. *Br J Dermatol* 2011; 165(4): 882–887.
103. Cargill M, Schrodi SJ, Chang M, Garcia VE, Brandon R, Callis KP, Matsunami N, Ardlie KG, Civello D, Catanese JJ, Leong DU, Panko JM, McAllister LB, Hansen CB, Papenfuss J, Prescott SM, White TJ, Leppert MF, Krueger GG, Begovich AB. A large-scale genetic association study confirms IL12B and leads to the identification of IL23R as psoriasis-risk genes. *Am J Hum Genet* 2007; 80(2): 273-390.
104. Tsunemi Y, Saeki H, Nakamura K, Sekiya T, Hirai K, Fujita H, Asano N, Kishimoto M, Tanida Y, Kakinuma T, Mitsui H, Tada Y, Wakugawa M, Torii H, Komine M, Asahina A, Tamaki K. Interleukin-12 p40 gene (IL12B) 3'-untranslated region polymorphism is associated with susceptibility to atopic dermatitis and psoriasis vulgaris. *J Dermatol Sci* 2002; 30(2): 161–166.
105. Ellinghaus E, Ellinghaus D, Stuart PE, Nair RP, Debrus S, Raelson JV, Belouchi M, Fournier H, Reinhard C, Ding J, Li Y, Tejasvi T, Gudjonsson J, Stoll SW, Voorhees JJ, Lambert S, Weidinger S, Eberlein B, Kunz M, Rahman P, Gladman DD, Gieger C, Wichmann HE, Karlsen TH, Mayr G, Albrecht M, Kabelitz D, Mrowietz U, Abecasis GR, Elder JT, Schreiber S, Weichenthal M, Franke A. Genome-wide association study identifies a psoriasis susceptibility locus at TRAF3IP2. *Nature Genet* 2010; 42(11): 991-995.



106. Hüffmeier U, Uebe S, Ekici AB, Bowes J, Giardina E, Korendowych E, Juneblad K, Apel M, McManus R, Ho P, Bruce IN, Ryan AW, Behrens F, Lascorz J, Böhm B, Traupe H, Lohmann J, Gieger C, Wichmann HE, Herold C, Steffens M, Klareskog L, Wienker TF, Fitzgerald O, Alenius GM, McHugh NJ, Novelli G, Burkhardt H, Barton A, Reis A. Common variants at TRAF3IP2 are associated with susceptibility to psoriatic arthritis and psoriasis. *Nat Genet* 2010; 42(11): 996–999.
107. Li Y, Liao W, Cargill M, Chang M, Matsunami N, Feng BJ, Poon A, Callis-Duffin KP, Catanese JJ, Bowcock AM, Leppert MF, Kwok PY, Krueger GG, Begovich AB. Carriers of rare missense variants in IFIH1 are protected from psoriasis. *J Invest Dermatol* 2010; 130(12): 2768–2772.
108. Sun LD, Cheng H, Wang ZX, Zhang AP, Wang PG, Xu JH, Zhu QX, Zhou HS, Ellinghaus E, Zhang FR, Pu XM, Yang XQ, Zhang JZ, Xu AE, Wu RN, Xu LM, Peng L, Helms CA, Ren YQ, Zhang C, Zhang SM, Nair RP, Wang HY, Lin GS, Stuart PE, Fan X, Chen G, Tejasvi T, Li P, Zhu J, Li ZM, Ge HM, Weichenthal M, Ye WZ, Zhang C, Shen SK, Yang BQ, Sun YY, Li SS, Lin Y, Jiang JH, Li CT, Chen RX, Cheng J, Jiang X, Zhang P, Song WM, Tang J, Zhang HQ, Sun L, Cui J, Zhang LJ, Tang B, Huang F, Qin Q, Pei XP, Zhou AM, Shao LM, Liu JL, Zhang FY, Du WD, Franke A, Bowcock AM, Elder JT, Liu JJ, Yang S, Zhang XJ. Association analyses identify six new psoriasis susceptibility loci in the Chinese population. *Nat Genet* 2010; 42(11): 1005–1009.
109. Stuart PE, Nair RP, Ellinghaus E, Ding J, Tejasvi T, Gudjonsson JE, Li Y, Weidinger S, Eberlein B, Gieger C, Wichmann HE, Kunz M, Ike R, Krueger GG, Bowcock AM, Mrowietz U, Lim HW, Voorhees JJ, Abecasis GR, Weichenthal M, Franke A, Rahman P, Gladman DD, Elder JT. Genome-wide association analysis identifies three psoriasis susceptibility loci. *Nat Genet* 2010; 42(11): 1000–1004.
110. Chang M, Li Y, Yan C, Callis-Duffin KP, Matsunami N, Garcia VE, Cargill M, Civello D, Bui N, Catanese JJ, Leppert MF, Krueger GG, Begovich AB, Schrodi SJ. Variants in the 5q31 cytokine gene cluster are associated with psoriasis. *Genes Immun* 2008; 9(2): 176–181.
111. Candi E, Schmidt R, Melino G. The cornified envelope: a model of cell death in the skin. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005; 6: 328–340.
112. Nemes Z, Steinert PM. Bricks and mortar of the epidermal barrier. *Exp Mol Med* 1999; 31: 5–19.

113. Broome AM, Ryan D, Eckert RL. S100 protein subcellular localization during epidermal differentiation and psoriasis. *J Histochem Cytochem* 2003; 51: 675-685.
114. Marshall D, Hardman MJ, Nield KM, Byrne C. Differentially expressed late constituents of the epidermal cornified envelope. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 13031-13036.
115. Nicotera P, Melino G. Caspase-14 and epidermis maturation. *Nat Cell Biol* 2007; 9(6): 621-622.
116. Gerritsen MJ, van Erp PE, van Vlijmen-Willems IM, Lenders LT, van de Kerkhof PC. Repeated tape stripping of normal skin: a histological assessment and comparison with events seen in psoriasis. *Arch Dermatol Res* 1994; 286(8): 455-461.
117. Torma H, Lindberg M, Berne B. Skin barrier disruption by sodium lauryl sulfate-exposure alters the expressions of involucrin, transglutaminase 1, profilaggrin, and kallikreins during the repair phase in human skin in vivo. *J Invest Dermatol* 2008; 128: 1212-1219.
118. Torma H, Berne B. Sodium lauryl sulphate alters the mRNA expression of lipid-metabolizing enzymes and PPAR signalling in normal human skin in vivo. *Exp Dermatol* 2009; 18: 1010-1015.
119. de Koning HD, van den Bogaard EH, Bergboer JG, Kamsteeg M, van Vlijmen-Willems IM, Hitomi K, Henry J, Simon M, Takashita N, Ishida-Yamamoto A, Schalkwijk J, Zeeuwen PL. Expression profile of cornified envelope structural proteins and keratinocyte differentiation-regulating proteins during skin barrier repair. *Br J Dermatol* 2012; 166(6): 1245-1254.
120. Zhao XP, Elder JT. Positional cloning of novel skin-specific genes from the human epidermal differentiation complex. *Genomics* 1997; 45: 250-258.
121. Jackson B, Tilli CM, Hardman MJ, Avilion AA, MacLeod MC, Ashcroft GS, Byrne C. Late cornified envelope family in differentiating epithelia – response to calcium and ultraviolet irradiation. *J Invest Dermatol* 2005; 124(5): 1062-1070.
122. Chen H, Toh TK, Szeverenyi I, Ong RT, Theng CT, McLean WH, Seielstad M, Lane EB. Association of skin barrier genes within the PSORS4 locus is enriched in Singaporean Chinese with early-onset psoriasis. *J Invest Dermatol* 2009; 129(3): 606-614.
123. Palmer CN, Irvine AD, Terron-Kwiatkowski A, Zhao Y, Liao H, Lee SP, Goudie DR, Sandilands A, Campbell LE, Smith FJ, O'Regan GM, Watson RM, Cecil JE, Bale SJ, Compton JG, DiGiovanna JJ, Fleckman P, Lewis-Jones S, Arseculeratne G, Sergeant

- A, Munro CS, El Houate B, McElreavey K, Halkjaer LB, Bisgaard H, Mukhopadhyay S, McLean WH. Common loss-of-function variants of the epidermal barrier protein filaggrin are a major predisposing factor for atopis dermatitis. *Nat Genet* 2006; 38(4): 441-446.
124. Hüffmeier U, Traupe H, Oji V, Lascorz J, Ständer M, Lohmann J, Wendler J, Burkhardt H, Reis A. Loss-of-function variants of the filaggrin gene are not major susceptibility factors for psoriasis vulgaris or psoriatic arthritis in German patients. *J Invest Dermatol* 2007; 127(6): 1367-1370.
125. Thyssen JP, Johansen JD, Carlsen BC, Linneberg A, Meldgaard M, Szecsi PB, Stender S, Menné T. The filaggrin null genotypes R501X and 2282del4 seem not to be associated with psoriasis: results from general population study and meta-analysis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2012; 26(6): 782-784.
126. Kim BE, Howell MD, Guttman-Yassky E, Gilleaudeau PM, Cardinale IR, Boguniewicz M, Krueger JG, Leung DY. TNF- $\alpha$  downregulates filaggrin and loricrin through c-Jun N-terminal kinase: role for TNF- $\alpha$  antagonists to improve skin barrier. *J Invest Dermatol* 2011; 131(6): 1272-1279.
127. Giardina E, Capon F, De Rosa MC, Mango R, Zambruno G, Orecchia A, Chimenti S, Giardina B, Novelli G. Characterization of the loricrin (LOR) gene as a positional candidate for the PSORS4 psoriasis susceptibility locus. *Ann Hum Genet* 2004; 68: 639–645.
128. Howell MD, Kim BE, Gao P, Grant AV, Boguniewicz M, DeBenedetto A, Schneider L, Beck LA, Barnes KC, Leung DY. Cytokine modulation of atopic dermatitis filaggrin skin expression. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 120: 150–155.
129. Kim BE, Leung DY, Boguniewicz M, Howell MD. Loricrin and involucrin expression is down-regulated by Th2 cytokines through STAT-6. *Clin Immunol* 2008; 126(3): 332–337.
130. R. Donato. Intracellular and extracellular roles of S100 proteins. *Microsc Res Tech* 2003; 60(6): 540-551.
131. Heizmann CW, Fritz G, Schäfer BW. S100 proteins: structure, functions and pathology. *Front Biosci* 2002; 7: d1356-68.
132. Pietzsch J. S100 proteins in health and disease *Amino Acids* 2011; 41(4): 755-760.
133. Wolf R, Ruzicka T, Yuspa SH. Novel S100A7 (psoriasin)/ S100A15 (koebnerisin) subfamily: highly homologous but distinct in regulation and function. *Amino Acids* 2011; 41(4): 789–796.

134. Batycka-Baran A, Maj J, Wolf R, Szepietowski JC. The new insight into the role of antimicrobial proteins-alarmins in the immunopathogenesis of psoriasis. *J Immunol Res* 2014; 2014: 628289.
135. Büchau AS, Hassan M, Kukova G, Lewerenz V, Kellermann S, Würthner JU, Wolf R, Walz M, Gallo RL, Ruzicka T. S100A15, an antimicrobial protein of the skin: regulation by *E. coli* through toll-like receptor 4. *J Invest Dermatol* 2007; 127(11): 2596-604.
136. Zheng Y, Niyonsaba F, Ushio H, Ikeda S, Nagaoka I, Okumura K, Ogawa H. Microbicidal protein psoriasin is a multifunctional modulator of neutrophil activation. *Immunology* 2008; 124(3): 357–367.
137. Lee Y, Jang S, Min JK, Lee K, Sohn KC, Lim JS, Im M, Lee HE, Seo YJ, Kim CD, Lee JH. S100A8 and S100A9 are messengers in the crosstalk between epidermis and dermis modulating a psoriatic milieu in human skin. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 423(4): 647-653.
138. Mirmohammadsadegh A, Tschakarjan E, Ljoljic A, Bohner K, Michel G, Ruzicka T, Goos M, Hengge UR. Calgranulin C is overexpressed in lesional psoriasis. *J Invest Dermatol*. 2000; 114(6): 1207-1208.
139. Wolf R, Mascia F, Dharamsi A, Howard OM, Cataisson C, Bliskovski V, Winston J, Feigenbaum L, Lichti U, Ruzicka T, Chavakis T, Yuspa SH. Gene from a psoriasis susceptibility locus primes the skin for inflammation. *Sci Transl Med* 2010; 2(61): 61ra90.
140. Hegyi Z, Zwicker S, Bureik D, Peric M, Koglin S, Batycka-Baran A, Prinz JC, Ruzicka T, Schaubert J, Wolf R. Vitamin D analog calcipotriol suppresses the Th17 cytokine-induced proinflammatory S100 alarmins psoriasin (S100A7) and koebnerisin (S100A15) in psoriasis. *J Invest Dermatol* 2012; 132(5): 1416-1424.
141. Kerkhoff C, Voss A, Scholzen TE, Averill MM, Zanker KS, Bornfeldt KE. Novel insights into the role of S100A8/A9 in skin biology. *Exp Dermatol* 2012; 21(11): 822–826.
142. Mischke D, Korge BP, Marenholz I, Volz A, Ziegler A. Genes encoding structural proteins of epidermal cornification and S100 calcium-binding proteins form a gene complex ("epidermal differentiation complex") on human chromosome 1q21. *J Invest Dermatol* 1996; 106(5): 989-992.
143. Hüffmeier U, Bergboer JG, Becker T, Armour JA, Traupe H, Estivill X, Riveira-Munoz E, Mössner R, Reich K, Kurrat W, Wienker TF, Schalkwijk J, Zeeuwen PL,

- Reis A. Replication of LCE3C-LCE3B CNV as a risk factor for psoriasis and analysis of interaction with other genetic risk factors. *J Invest Dermatol* 2010; 130(4): 979-984.
144. Li M, Wu Y, Chen G, Yang Y, Zhou D, Zhang Z, Zhang D, Chen Y, Lu Z, He L, Zheng J, Liu Y. Deletion of the late cornified envelope genes LCE3C and LCE3B is associated with psoriasis in a Chinese population. *J Invest Dermatol* 2011; 131(8): 1639-1643.
145. Riveira-Munoz E, He SM, Escaramís G, Stuart PE, Hüffmeier U, Lee C, Kirby B, Oka A, Giardina E, Liao W, Bergboer J, Kainu K, de Cid R, Munkhbat B, Zeeuwen PL, Armour JA, Poon A, Mabuchi T, Ozawa A, Zawirska A, Burden AD, Barker JN, Capon F, Traupe H, Sun LD, Cui Y, Yin XY, Chen G, Lim HW, Nair RP, Voorhees JJ, Tejasvi T, Pujol R, Munkhtuvshin N, Fischer J, Kere J, Schalkwijk J, Bowcock A, Kwok PY, Novelli G, Inoko H, Ryan AW, Trembath RC, Reis A, Zhang XJ, Elder JT, Estivill X. Meta-analysis confirms the LCE3C\_LCE3B deletion as a risk factor for psoriasis in several ethnic groups and finds interaction with HLA-Cw6. *J Invest Dermatol* 2011; 131(5): 1105-1109.
146. Coto E, Santos-Juanes J, Coto-Segura P, Díaz M, Soto J, Queiro R, Alvarez V. Mutation analysis of the LCE3B/LCE3C genes in psoriasis. *BMC Med Genet* 2010; 11: 45.
147. Hüffmeier U, Estivill X, Riveira-Munoz E, Traupe H, Wendler J, Lohmann J, Böhm B, Burkhardt H, Reis A. Deletion of LCE3C and LCE3B genes at PSORS4 does not contribute to Susceptibility to Psoriatic Arthritis in German patients. *Ann Rheum Dis* 2010; 69(5): 876-878.
148. Docampo E, Giardina E, Riveira-Muñoz E, de Cid R, Escaramís G, Perricone C, Fernández-Sueiro JL, Maymó J, González-Gay MA, Blanco FJ, Hüffmeier U, Lisbona MP, Martín J, Carracedo A, Reis A, Rabionet R, Novelli G, Estivill X. Deletion of LCE3C and LCE3B is a susceptibility factor for psoriatic arthritis: a study in Spanish and Italian populations and meta-analysis. *Arthritis Rheum* 2011; 63(7): 1860–1865.
149. Bergboer JG, Oostveen AM, de Jager ME, den Heijer M, Joosten I, van de Kerkhof PC, Zeeuwen PL, de Jong EM, Schalkwijk J, Seyger MM. Paediatric-onset psoriasis is associated with ERAP1 and IL23R loci, LCE3C\_LCE3B deletion and HLA-C\*06. *Br J Dermatol* 2012; 167(4): 922-925.
150. Talamonti M, Botti E, Galluzzo M, Teoli M, Spallone G, Bavetta M, Chimenti S, Costanzo A. Pharmacogenetics of psoriasis: HLA-Cw6 but not LCE3B/3C deletion nor

- TNFAIP3 polymorphism predisposes to clinical response to interleukin 12/23 blocker ustekinumab. *Br J Dermatol* 2013; 169(2): 458-63.
151. Docampo E, Rabionet R, Riveira-Muñoz E, Escaramís G, Julià A, Marsal S, Martín JE, González-Gay MA, Balsa A, Raya E, Martín J, Estivill X. Deletion of the late cornified envelope genes, LCE3C and LCE3B, is associated with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2010; 62(5): 1246–1251.
152. Lu X, Guo J, Zhou X, Li R, Liu X, Zhao Y, Zhu B, Liu X, Xu J, Zhu P, Wu X, He J, Liu X, Zhang H, Li Z. Deletion of LCE3C\_LCE3B is associated with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus in the Chinese Han population. *Ann Rheum Dis* 2011; 70(9): 1648–1651.
153. Bergboer JG, Zeeuwen PL, Irvine AD, Weidinger S, Giardina E, Novelli G, Den Heijer M, Rodriguez E, Illig T, Riveira-Munoz E, Campbell LE, Tyson J, Dannhauser EN, O'Regan GM, Galli E, Klopp N, Koppelman GH, Novak N, Estivill X, McLean WH, Postma DS, Armour JA, Schalkwijk J. Deletion of Late Cornified Envelope 3B and 3C genes is not associated with atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 2010; 130(8): 2057-2061.
154. Bassaganyas L, Riveira-Muñoz E, García-Aragónés M, González JR, Cáceres M, Armengol L, Estivill X. Worldwide population distribution of the common LCE3C-LCE3B deletion associated with psoriasis and other autoimmune disorders. *BMC Genomics*. 2013; 14: 261.
155. Bergboer JG, Tjabringa GS, Kamsteeg M, van Vlijmen-Willems IM, Rodijk-Olthuis D, Jansen PA, Thuret JY, Narita M, Ishida-Yamamoto A, Zeeuwen PL, Schalkwijk J. Psoriasis risk genes of the late cornified envelope-3 group are distinctly expressed compared with genes of other LCE groups. *Am J Pathol* 2011; 178(4): 1470–1477.
156. Vasilopoulos Y, Walters K, Cork MJ, Duff GW, Sagoo GS, Tazi-Ahnini R. Association analysis of the skin barrier gene cystatin A at the PSORS5 locus in psoriatic patients: evidence for interaction between PSORS1 and PSORS5. *Eur J Hum Genet* 2008; 16(8): 1002–1009.
157. Vasilopoulos Y, Sagoo GS, Cork MJ, Walters K, Tazi-Ahnini R. HLA-C, CSTA and DS12346 susceptibility alleles confer over 100-fold increased risk of developing psoriasis: evidence of gene interaction. *J Hum Genet* 2011; 56(6): 423-427.
158. Zeeuwen PL, Van Vlijmen-Willems IM, Jansen BJ, Sotiropoulou G, Curfs JH, Meis JF, Janssen JJ, Van Ruissen F, Schalkwijk J. Cystatin M/E expression is restricted to differentiated epidermal keratinocytes and sweat glands: a new skin-specific proteinase



- inhibitor that is a target for cross-linking by transglutaminase. *J Invest Dermatol* 2001; 116(5): 693-701.
159. Cheng T, Tjabringa GS, van Vlijmen-Willems IM, Hitomi K, van Erp PE, Schalkwijk J, Zeeuwen PL. The cystatin M/E-controlled pathway of skin barrier formation: expression of its key components in psoriasis and atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 2009; 161(2): 252-264.
160. Hattori A, Matsumoto K, Mizutani S, Tsujimoto M. Genomic organization of the human adipocyte-derived leucine aminopeptidase gene and its relationship to the placental leucine aminopeptidase/oxytocinase gene. *J Biochem* 2001; 130: 235-241.
161. Saric T, Chang SC, Hattori A, York IA, Markant S, Rock KL, Tsujimoto M, Goldberg AL. An IFN-gamma-induced aminopeptidase in the ER, ERAP1, trims precursors to MHC class I-presented peptides. *Nat Immunol* 2002; 3: 1169-1176.
162. Tsujimoto M, Hattori A. The oxytocinase subfamily of M1 aminopeptidases. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1751: 9-18.
163. Serwold T, Gaw S, Shastri N. ER aminopeptidases generate a unique pool of peptides for MHC class I molecules. *Nat Immunol* 2001; 2: 644-651.
164. Brouwenstijn N, Serwold T, Shastri N. MHC class I molecules can direct proteolytic cleavage of antigenic precursors in the endoplasmic reticulum. *Immunity* 2001; 15: 95-104.
165. Cui X, Hawari F, Alsaaty S, Lawrence M, Combs CA, Geng W, Rouhani FN, Miskinis D, Levine SJ. Identification of ARTS-1 as a novel TNFR1-binding protein that promotes TNFR1 ectodomain shedding. *J Clin Invest* 2002; 110: 515-526.
166. Cui X, Rouhani FN, Hawari F, Levine SJ. Shedding of the type II IL-1 decoy receptor requires a multifunctional aminopeptidase, aminopeptidase regulator of TNF receptor type 1 shedding. *J Immunol* 2003; 171: 6814-6819.
167. Cui X, Rouhani FN, Hawari F, Levine SJ. An aminopeptidase, ARTS-1, is required for interleukin-6 receptor shedding. *J Biol Chem* 2003; 278: 28677-28685.
168. Goto Y, Ogawa K, Hattori A, Tsujimoto M. Secretion of endoplasmic reticulum aminopeptidase 1 is involved in the activation of macrophages induced by lipopolysaccharide and interferon-gamma. *J Biol Chem* 2011; 286: 21906-21914.
169. Hattori A, Tsujimoto M. Endoplasmic reticulum aminopeptidases: biochemistry, physiology and pathology. *J Biochem* 2013; 154(3): 219-228.
170. Yin XY, Zhang R, Cheng H, Pan Q, Shen CB, Fan X, Wang ZX, Sun LD, Yang S, Zhang XJ. Gene-gene interactions between HLA-C, ERAP1, TNFAIP3 and TRAF3IP2

- and the risk of psoriasis in the Chinese Han population. *Br J Dermatol* 2013; 169(4): 941-943.
171. Lysell J, Padyukov L, Kockum I, Nikamo P, Ståhle M. Genetic association with ERAP1 in psoriasis is confined to disease onset after puberty and not dependent on HLA-C\*06. *J Invest Dermatol* 2013; 133(2): 411-417.
172. Oostveen AM, Bergboer JG, van de Kerkhof PC, Zeeuwen PL, de Jong EM, Schalkwijk J, Seyger MM. Genotype-phenotype correlations in a prospective cohort study of paediatric plaque psoriasis: lack of correlation between HLA-C\*06 and family history of psoriasis. *Acta Derm Venereol* 2014; 94(6): 667-671.
173. Tsui FW, Haroon N, Reveille JD, Rahman P, Chiu B, Tsui HW, Inman RD. Association of an ERAP1 ERAP2 haplotype with familial ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis* 2010; 69: 733-736.
174. Evans DM, Spencer CC, Pointon JJ, Su Z, Harvey D, Kochan G, Oppermann U, Dilthey A, Pirinen M, Stone MA, Appleton L, Moutsianas L, Leslie S, Wordsworth T, Kenna TJ, Karaderi T, Thomas GP, Ward MM, Weisman MH, Farrar C, Bradbury LA, Danoy P, Inman RD, Maksymowych W, Gladman D, Rahman P, Morgan A, Marzo-Ortega H, Bowness P, Gaffney K, Gaston JS, Smith M, Bruges-Armas J, Couto AR, Sorrentino R, Paladini F, Ferreira MA, Xu H, Liu Y, Jiang L, Lopez-Larrea C, Díaz-Peña R, López-Vázquez A, Zayats T, Band G, Bellenguez C, Blackburn H, Blackwell JM, Bramon E, Bumpstead SJ, Casas JP, Corvin A, Craddock N, Deloukas P, Dronov S, Duncanson A, Edkins S, Freeman C, Gillman M, Gray E, Gwilliam R, Hammond N, Hunt SE, Jankowski J, Jayakumar A, Langford C, Liddle J, Markus HS, Mathew CG, McCann OT, McCarthy MI, Palmer CN, Peltonen L, Plomin R, Potter SC, Rautanen A, Ravindrarajah R, Ricketts M, Samani N, Sawcer SJ, Strange A, Trembath RC, Viswanathan AC, Waller M, Weston P, Whittaker P, Widaa S, Wood NW, McVean G, Reveille JD, Wordsworth BP, Brown MA, Donnelly P. Interaction between ERAP1 and HLA-B27 in ankylosing spondylitis implicates peptide handling in the mechanism for HLA-B27 in disease susceptibility. *Nat Genet* 2011; 43: 761-767.
175. Guerini FR, Cagliani R, Forni D, Agliardi C, Caputo D, Cassinotti A, Galimberti D, Fenoglio C, Biasin M, Asselta R, Scarpini E, Comi GP, Bresolin N, Clerici M, Sironi M. A functional variant in ERAP1 predisposes to multiple sclerosis. *PLoS One* 2012; 7(1): e29931.
176. Kirino Y, Bertsias G, Ishigatsubo Y, Mizuki N, Tugal-Tutkun I, Seyahi E, Ozyazgan Y, Sacli FS, Erer B, Inoko H, Emrence Z, Cakar A, Abaci N, Ustek D, Satorius C,



- Ueda A, Takeno M, Kim Y, Wood GM, Ombrello MJ, Meguro A, Gül A, Remmers EF, Kastner DL. Genomewide association analysis identifies new susceptibility loci for Behc, et's disease and epistasis between HLAB\*51 and ERAP1. *Nat Genet* 2013; 45(2): 202-207.
177. Atagunduz P, Appel H, Kuon W, Wu P, Thiel A, Kloetzel PM, Sieper J. HLA-B27-restricted CD8 $\uparrow$  T cell response to cartilage-derived self peptides in ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum* 2005; 52(3): 892-901.
178. Wang H, Kadlecsek TA, Au-Yeung BB, Goodfellow HE, Hsu LY, Freedman TS, Weiss A. ZAP-70: an essential kinase in T-cell signaling. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2010; 2(5): a002279.
179. Guo XJ, Li J, Ni PH, Ren LP, Xu WG. The transcription levels of linker for activation of T cell and its upstream regulatory factors in T cells of asthmatic patients *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi* 2008; 31(2): 125-128.
180. Arpaia E, Shahar M, Dadi H, Cohen A, Roifman CM. Defective T cell receptor signaling and CD8 thymic selection in humans lacking zap-70 kinase. *Cell* 1994; 76(5): 947-958.
181. Zanotti R, Frattini F, Ghia P, Visco C, Zamò A, Perbellini O, Stella S, Facco M, Giaretta I, Chilosi M, Pizzolo G, Ambrosetti A. ZAP-70 expression is associated with increased risk of autoimmune cytopenias in CLL patients. *Am J Hematol* 2010; 85(7): 494-498.
182. Park D, Jeong HO, Kim BC, Ha YM, Young Chung H. Computational approach to identify enzymes that are potential therapeutic candidates for psoriasis. *Enzyme Res* 2011: 826784.
183. Fredriksson T, Pettersson U. Severe psoriasis-oral therapy with a new retinoid. *Dermatologica* 1978; 157: 238-244.
184. Lahiri DK, Nurnberger JI. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Res* 1991; 19(19): 5444.
185. Rębała K, Szczerkowska-Dobosz A, Niespodziana K, Wysocka J.: Simple and rapid screening for HLA-Cw\*06 in Polish patients with psoriasis. *Clin Exp Dermatol* 2010; 35:431-436.
186. Reich K. The concept of psoriasis as a systemic inflammation: implications for disease management. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2012; 26: 3–11.

187. Gladman DD. Psoriatic arthritis. W: Harris ED, Sledge CB, Ruddy S, Firestein GS, Sargent JS. *Kelley's Textbook of Rheumatology*, siódme wydanie. Philadelphia: W.B. Saunders Co., 2005, str. 1155–1164.
188. Zachariae H. Prevalence of joint disease in patients with psoriasis: implications for therapy. *Am J Clin Dermatol* 2003; 4: 441–447.
189. Asumalahti K, Ameen M, Suomela S, Hagforsen E, Michaëlsson G, Evans J, Munro M, Veal C, Allen M, Leman J, David Burden A, Kirby B, Connolly M, Griffiths CE, Trembath RC, Kere J, Saarialho-Kere U, Barker JN. Genetic analysis of PSORS1 distinguishes guttate psoriasis and palmoplantar pustulosis. *J Invest Dermatol* 2003; 120: 627–632.
190. Mossner R, Kingo K, Kleensang A. Association of TNF-238 and -308 promoter polymorphisms with psoriasis vulgaris and psoriatic arthritis but not with pustulosis palmoplantaris. *J Invest Dermatol* 2005; 124: 282–284.
191. Reich K, Mossner R, König IR, Westphal G, Ziegler A, Neumann C. Promoter polymorphisms of the genes encoding tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1beta are associated with different subtypes of psoriasis characterized by early and late disease onset. *J Invest Dermatol* 2002; 118: 155–163.
192. Vasku V, Vasku A, Izakovicova Holla L, Tschoplova S, Kankova K, Benakova N, Semradova V. Polymorphisms in inflammation genes (angiotensinogen, TAP1 and TNF-beta) in psoriasis. *Arch Dermatol Res* 2000; 292: 531–534.
193. Ashcroft DM, Wan Po AL, Williams HC, Griffiths CE. Clinical measures of disease severity and outcome in psoriasis: a critical appraisal of their quality. *Br J Dermatol* 1999; 141(2): 185-191.
194. Feldman SR, Fleischer AB Jr, Reboussin DM, Rapp SR, Exum ML, Clark AR, Nurre L. The self-administered psoriasis area and severity index is valid and reliable. *J Invest Dermatol* 1996; 106(1): 183-186.
195. Feldman SR. A quantitative definition of severe psoriasis for use in clinical trials. *J Dermatol Treat* 2004; 15: 27-29.
196. Langley RG, Ellis CN. Evaluating psoriasis with Psoriasis Area and Severity Index, Psoriasis Global Assessment, and Lattice System Physician's Global Assessment. *J Am Acad Dermatol* 2004; 51(4): 563-569.
197. Schmitt J, Wozel G. The psoriasis area and severity index is the adequate criterion to define severity in chronic plaque-type psoriasis. *Dermatology* 2005; 210(3): 194-199.

198. Krueger GG, Feldman SR, Camisa C, Duvic M, Elder JT, Gottlieb AB, Koo J, Krueger JG, Lebwohl M, Lowe N, Menter A, Morison WL, Prystowsky JH, Shupack JL, Taylor JR, Weinstein GD, Barton TL, Rolstad T, Day RM. Two considerations for patients with psoriasis and their clinicians: what defines mild, moderate, and severe psoriasis? What constitutes a clinically significant improvement when treating psoriasis? *J Am Acad Dermatol* 2000; 43: 281-285.
199. Ramsay B, Lawrence CM. Measurement of involved surface area in patients with psoriasis. *Br J Dermatol* 1991; 124(6): 565-570.
200. Van der Kerkhof. The Psoriasis Area and Severity Index and alternative approaches or the assessment of severity: persisting areas of confusion. *Br J Dermatol* 1997; 137: 646-663.
201. Weiss SC, Kimball AB, Liewehr DJ, Blauvelt A, Turner ML, Emanuel EJ. Quantifying the harmful effect of psoriasis on health-related quality of life. *J Am Acad Dermatol* 2002; 47(4): 512-518.
202. Finlay AY. Current severe psoriasis, the rule of tens. *Br J Dermatol* 2005; 152: 861–867.
203. Ferrandiz C, Pujol R, Garcia-Patos V, Bordas X, Smandia JA. Psoriasis of early and late onset: a clinical and epidemiologic study from Spain. *J Am Acad Dermatol* 2002; 46: 867-873.
204. Mallbris L, Larsson P, Gergqvist S, Vingard E, Grenath F, Staleat M. Psoriasis phenotype at disease onset; clinical characterisation of 400 adult cases. *Inv J Dermatol* 2005; 124: 499-504.
205. Amatya B, Nordlind K. Focus groups in Swedish psoriatic patients with pruritus. *J Dermatol* 2008; 5(1): 1-5.
206. Farber EM, Nall ML. The natural history of psoriasis in 5600 patients. *Dermatologica* 1974; 148: 1-18.
207. Nevitt GJ, Hutchinson PE. Psoriasis in the community: prevalence, severity and patients beliefs and attitudes towards the disease. *Br J Dermatol* 1996; 135: 533-537.
208. Takahashi M, Tezuka T, Katunuma N. Phosphorylated cystatin a is a natural substrate of epidermal transglutaminase for formation of skin cornified envelope. *FEBS Lett* 1992; 308: 79–82.
209. Takeda A, Kaji H, Nakaya Y, Nakamura Y, Samejima T. Comparative studies on the primary structure of human cystatin As from epidermis, liver, spleen and leukocytes. *J Biochem* 1989; 105: 986– 991.

210. Tsushima H, Ueki A, Mine H, Nakajima M, Sumi H, Hpsu-Havu VK. Purification and characterization of a cystatin-type cysteine protease inhibitor in the human hair shaft. *Arch Dermatol Res* 1992; 284: 380– 38.
211. Barret AJ. The cystatins: a new class of peptide inhibitor. *Trends Biochem Sci* 1987; 12: 193– 196.
212. Zettergren JG, Peterson L, Wuepper KD. Keratolinin: the soluble substrate of epidermal transglutaminase for human and bovine tissue. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81: 238– 242.
213. Samuelsson L, Stiller C, Friberg C, Nilsson C, Inerot A, Wahlström J. Association analysis of cystatin A and zinc finger protein 148, two genes located at the psoriasis susceptibility locus PSORS5. *J Invest Dermatol* 2004; 122(6): 1399– 1400.

## 10. Spis tabel i rycin

**Tabela I.** Geny podatności na łuszczycę oraz ich biologiczna funkcja

**Tabela II.** Częstość występowania allelu *LCE3C\_LCE3B-del* (%) w wybranych populacjach pochodzących z różnych rejonów geograficznych

**Tabela III.** Dane demograficzne chorych z łuszczycą zakwalifikowanych do grupy badanej (n=148)

**Tabela IV.** Schemat obliczania wskaźnika PASI

**Tabela V.** Warunki amplifikacji alleli *locus* HLA-C

**Tabela VI.** Nazwy i sekwencje starterów wykorzystanych do typowania *LCE3C\_LCE3B-del*

**Tabela VII.** Warunki amplifikacji allelu *LCE3C\_LCE3B-del*

**Tabela VIII.** Nazwy i sekwencje starterów wykorzystanych do oznaczania *CSTA\*C* i *CSTA\*T*

**Tabela IX.** Warunki amplifikacji alleli *CSTA\*C* i *CSTA\*T*

**Tabela X.** Nazwy i sekwencje starterów wykorzystanych do typowania *ERAPI\*C* i *ERAPI\*G*

**Tabela XI.** Warunki amplifikacji allelu *ERAPI\*C*

**Tabela XII.** Warunki amplifikacji allelu *ERAPI\*G*

**Tabela XIII.** Nazwy i sekwencje starterów wykorzystanych do typowania *ZAP70\*A* i *ZAP70\*G*

**Tabela XIV.** Warunki amplifikacji allelu *ZAP70\*A*

**Tabela XV.** Warunki amplifikacji allelu *ZAP70\*G*

**Tabela XVI.** Porównanie częstości genotypów *HLA-C* w populacji chorych na łuszczycę (n=148) i w grupie kontrolnej (n=146)

**Tabela XVII.** Porównanie częstości genotypów *LCE3C\_LCE3B* w populacji chorych na łuszczycę (n=148) i w grupie kontrolnej (n=146)

**Tabela XVIII.** Porównanie częstości genotypów *CSTA* w populacji chorych na łuszczycę (n=146) i w grupie kontrolnej (n=146)

**Tabela XIX.** Porównanie częstości genotypów *ERAPI* w populacji chorych na łuszczycę (n=127) i w grupie kontrolnej (n=101)

**Tabela XX.** Porównanie częstości genotypów *ZAP70* w populacji chorych na łuszczycę (n=148) i w grupie kontrolnej (n=145)

**Tabela XXI.** Korelacja wartości wskaźnika PASI z poszczególnymi genotypami genów *HLA-C*, *LCE3C\_LCE3B*, *CSTA*, *ERAPI* i *ZAP70*

**Tabela XXII.** Porównanie częstości występowania alleli genów *LCE3C\_LCE3B*, *CSTA*, *ERAPI* i *ZAP70* u osób z allelem *HLA-Cw\*06* w populacji chorych na łuszczycę i w grupie kontrolnej

**Tabela XXIII.** Ryzyko względne rozwoju łuszczycy dla poszczególnych alleli genów *HLA-C*, *LCE3C\_LCE3B*, *CSTA*, *ERAPI* i *ZAP70* w populacji badanej

**Tabela XXIV.** Zestawienie wartości ilorazu szans dla poszczególnych alleli genów *HLA-C*, *LCE3C\_LCE3B*, *CSTA*, *ERAPI* i *ZAP70* w populacji badanej

**Tabela XXV.** Porównanie średnich wartości cGRS i wGRS dla zestawu *HLA-Cw\*06*, *ERAPI\*G*, *ZAP70\*G* i *LCE3C\_LCE3B-del* w populacji chorych na łuszczycę i w grupie kontrolnej

**Rycina 1.** Odpowiedź komórkowa w łuszczycy

**Rycina 2.** *Locus* podatności na łuszczycę 1 (PSORS1). Zaznaczona lokalizacja wybranych genów PSORS1

**Rycina 3.** Geny zaangażowane w ścieżki patogenetyczne w łuszczycy

**Rycina 4.** Uproszczony schemat tworzenia koperty rogowej

**Rycina 5.** Geny kompleksu różnicowania naskórka

**Rycina 6.** Mechanizmy działania ERAP1

**Rycina 7.** Rozkład wieku chorych z łuszczycą włączonych do badania (n=148)

**Rycina 8.** Wyniki typowania obecności i zygotywności allelu *HLA-Cw\*06* zmodyfikowaną metodą PCR-SSP i PCR-RFLP

**Rycina 9.** Schemat przyłączania starterów LCE3C\_F i LCE3C\_R w przypadku wariantu bez delecji. Amplifikacji ulega produkt wielkości 240 bp. Fragment LCE3C\_F-LCE3CR2D nie powstaje (32,2 kb)

**Rycina 10.** Schemat przyłączania starterów LCE3C\_F i LCE3CR2D w przypadku wariantu z delecją. Amplifikacji ulega produkt wielkości 199 bp

**Rycina 11.** Ocena obecności i zygotywności allelu *LCE3C\_LCE3B-del*

**Rycina 12.** Wyniki optymalizacji profilu temperaturowego dla reakcji hybrydyzacji starterów wykorzystanych do typowania polimorfizmów *CSTA*

**Rycina 13.** Przykładowy wynik typowania allelu *CSTA\*T*

**Rycina 14.** Wyniki optymalizacji programu temperaturowego dla reakcji hybrydyzacji starterów wykorzystanych do typowania polimorfizmów *ERAPI*

**Rycina 15.** Przykładowy wynik typowania allelu *ERAPI\*G*

**Rycina 16.** Wyniki optymalizacji temperatury dla reakcji hybrydyzacji starterów wykorzystanych do typowania polimorfizmów *ZAP70*

**Rycina 17.** Przykładowy wynik typowania polimorfizmów *ZAP70*

**Rycina 18.** Porównanie częstości występowania (%) alleli *HLA-Cw\*06* oraz alleli bez *HLA-Cw\*06* w populacji badanej (n=148) oraz kontrolnej (n=146)

**Rycina 19.** Częstości występowania (%) trzech różnych genotypów *HLA-C* w populacji chorych na łuszczycę (n=148) i w grupie kontrolnej (n=146)

**Rycina 20.** Porównanie częstości występowania (%) alleli z *LCE3C\_LCE3B-del* oraz alleli bez *LCE3C\_LCE3B-del* w populacji badanej (n=148) oraz kontrolnej (n=146)

**Rycina 21.** Częstości występowania (%) trzech różnych genotypów *LCE3C\_LCE3B* w populacji chorych na łuszczycę (n=148) i w grupie kontrolnej (n=146)

**Rycina 22.** Porównanie częstości występowania (%) alleli *CSTA\*C* i *CSTA\*T* w populacji osób chorych na łuszczycę (n=146) oraz w grupie kontrolnej (n=146)

**Rycina 23.** Częstości występowania (%) trzech różnych genotypów *CSTA* w populacji chorych na łuszczycę (n=146) i w grupie kontrolnej (n=146)

**Rycina 24.** Porównanie częstości występowania (%) alleli *ERAPI*\*G i *ERAPI*\*C w populacji osób chorych na łuszczycę (n=127) oraz w grupie kontrolnej (n=101)

**Rycina 25.** Częstości występowania (%) trzech różnych genotypów *ERAPI* w populacji chorych na łuszczycę (n=127) i w grupie kontrolnej (n=101)

**Rycina 26.** Porównanie częstości występowania (%) alleli *ZAP70*\*G i *ZAP70*\*A w populacji osób chorych na łuszczycę (n=148) oraz w grupie kontrolnej (n=145)

**Rycina 27.** Częstości występowania (%) trzech różnych genotypów *ZAP70* w populacji chorych na łuszczycę (n=148) i w grupie kontrolnej (n=145)