

Edyta Prokop-Przybył, Włodzimierz Samborski

Katedra i Klinika Reumatologii, Rehabilitacji i Chorób Wewnętrznych, Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

# Rola polimorfizmów pojedynczego nukleotydu w patogenezie toczenia rumieniowatego układowego

## Role of single nucleotide polymorphisms in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus

### STRESZCZENIE

Toczeń rumieniowaty układowy (SLE) to układowa choroba tkanki łącznej o podłożu autoimmunologicznym. Charakteryzuje się szeregiem objawów klinicznych — od łagodnych zmian skórnych do masywnych uszkodzeń wielonarządowych. Do tej pory rozpoznano 180 autoprzeciwciał związanych z nasileniem objawów klinicznych, początkiem i częstotliwością zaostrzeń w przebiegu choroby. Każda z powiązanych z nimi cząsteczek

może być modelem do badań genetycznych. W niniejszej pracy podsumowano doniesienia dotyczące polimorfizmu pojedynczego nukleotydu (SNP) w odniesieniu do SLE jako najczęstszej formy zmienności genetycznej w dużych kohortowych badaniach identyfikujących warianty zwiększonego ryzyka SLE.

Forum Reumatol. 2020, tom 6, nr 3: 139–142

**Słowa kluczowe:** toczeń rumieniowaty układowy; polimorfizm pojedynczego nukleotydu; badania genetyczne

### WSTĘP

Toczeń rumieniowaty układowy (SLE, *systemic lupus erythematosus*) to przewlekła, postępująca układowa choroba tkanki łącznej. Posiada szereg manifestacji klinicznych, od łagodnych zmian skórnych do uszkodzeń wielonarządowych. Kryteria kliniczne i immunologiczne zostały utworzone przez grupę *Systemic Lupus International Collaborative Clinics* (SLICC) (tab. 1).

Do postawienia diagnozy można również zastosować kryteria *American College of Rheumatology* (ACR) (tab. 2), częściowo obejmujące kryteria SLICC — należy jednak pamiętać, że kluczowe jest miano ANA większe niż 1:80, by móc rozpatrywać pozostałe kryteria, a same kryteria bez miana do rozpoznania SLE nie wystarczą.

Wiele aspektów patogenyzy SLE pozostaje niejasnych, stąd istotne pozostaje pozna-

nie przyczyny genetycznej SLE. W 1/2000 przypadków diagnoza jest niepełna lub powiązana z innymi chorobami reumatologicznymi o podłożu zapalnym — utrudnia to diagnostykę genetyczną. Prześledzenie rodowodów nastęrcza trudności z uwagi na różnice w manifestacji choroby lub często pojedyncze przypadki SLE w danej rodzinie. Pacjenci z SLE to w 85% kobiety, a występujące objawy zwykle opisuje się u pacjentów w wieku 20–40 lat, choć opisywano przypadki pediatryczne i geriatryczne [1].

Toczeń rumieniowaty układowy aktualnie stał się chorobą układową o podłożu autoimmunologicznym z największą określoną liczbą autoprzeciwciał — aż 180, związanych z nasileniem objawów klinicznych, początkiem i częstotliwością zaostrzeń w przebiegu choroby. Każda z powiązanych z nimi cząsteczek (np. białek, enzymów, ich receptorów etc.) może być mo-

### Adres do korespondencji:

Lek. Edyta Prokop-Przybył  
Katedra i Klinika  
Reumatologii, Rehabilitacji  
i Chorób Wewnętrznych,  
Uniwersytet Medyczny  
im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu  
e-mail: edyta.k.prokop@gmail.com

**Tabela 1.** Kryteria *Systemic Lupus International Collaborative Clinics* z 2012 roku

|  |
|--|
| <b>Kryteria SLICC immunologiczne</b>   |
| Obecne przeciwciała ANA powyżej wartości referencyjnych  |
| Obecne przeciwciała anty-dsDNA przekraczające normę wartości referencyjnych (dla testu ELISA 2-krotnie powyżej tej normy)  |
| Obecne przeciwciała przeciwko antygenowi jądrowemu anty-Sm   |
| Obecne w klasie IgM, IgG lub IgA przeciwciała antyfosfolipidowe, w tym: <ul style="list-style-type: none"> <li>— przeciwciała antykardiolipinowe</li> <li>— przeciwciała przeciwko <math>\beta_2</math>-glikoproteinie</li> <li>— antykoagulant toczniowy</li> </ul> |
| Niski poziom składowych dopełniacza C3, C4 lub CH50  |
| Dodatni bezpośredni test Coombsa   |
| <b>Kryteria SLICC kliniczne</b>  |
| Ostry SLE skórny   |
| Przewlekły SLE skórny  |
| Owrzodzenia w jamie ustnej LUB owrzodzenia błony śluzowej nosa   |
| Łysienie   |
| Zapalenie błony maziowej $\geq 2$ stawów LUB bolesność $\geq 2$ stawów ze sztywnością poranną $\geq 30$ minut  |
| Zapalenie błon surowiczych (opłucnej, osierdza lub zapalenie <i>pericarditis</i> rozpoznane na podstawie echo serca bez wywiadu w kierunku innych jego przyczyn)   |
| Zajęcie nerek  |
| Zmiany neurologiczne   |
| Niedokrwistość hemolityczna  |
| Leukopenia LUB limfopenia  |
| Trombocytopenia  |

ANA (*antinuclear antibodies*) — przeciwciała przeciwjądrowe; SLE (*systemic lupus erythematosus*) — toczeń rumieniowaty układowy

**Tabela 2.** Kryteria *American College of Rheumatology*

| <b>Domeny kliniczne i kryteria choroby</b>   | <b>Punkty</b>    | <b>Domeny immunologiczne i kryteria</b>   | <b>Punkty</b> |
|--|------------------|---|---------------|
| <b>Domena konstytucjonalna</b><br>Gorączka   | 2                | Przeciwciała antyfosfolipidowe w klasie IgG:<br>— przeciwciała antykardiolipinowe<br>— przeciwciała przeciwko $\beta_2$ -glikoproteinie lub antykoagulant toczniowy | 2             |
| <b>Domena skórna</b><br>Łysienie bez blizn<br>Owrzodzenia jamy ustnej<br>Podostry lub krążkowy toczeń skórny<br>Ostry toczeń skórny                                  | 2<br>2<br>4<br>6 | Dopełniacz<br>Niskie C3 i C4<br>Niskie C3 lub C4  | 3<br>4        |
| <b>Domena stawowa</b><br>Zapalenie błony maziowej $\geq 2$ stawów  | 6                | <b>Obecność specyficznych autoprzeciwciał</b><br>— Anty-dsDNA<br>— Anty-Sm  | 6<br>6        |
| <b>Domena neurologiczna</b><br>Delirium<br>Psychoza<br>Drgawki   | 2<br>3<br>5      |   |               |
| <b>Domena zapalenia błon surowiczych</b><br>Wysięk w opłucnej lub osierdzu<br>Ostre <i>pericarditis</i>  | 5<br>6           |   |               |
| <b>Domena hematologiczna</b><br>Leukopenia<br>Trombocytopenia<br>Autoimmunologiczna hemoliza   | 3<br>4<br>4      |   |               |
| <b>Domena nerkowa</b><br>Białkomocz $> 0,5$ g/dobę<br>II lub V klasa toczniowego zapalenia nerek w biopsji<br>III lub IV klasa toczniowego zapalenia nerek w biopsji |                  |   |               |

delem do badań genetycznych. Geny związane z różnymi typami choroby — około 40 genów — zostało popartych badaniami. Na podstawie tych badań wyróżniono trzy subfenotypy SLE:

- związane z HLA-DRB1 \* 0301 (DR3);
- skumulowane genetyczne czynniki ryzyka z obecnymi autooprzeciwiałami przeciwko dsDNA, młody wiek w momencie pojawienia się początku choroby, towarzyszące zaburzenia hematologiczne, brak nadżerek w jamie ustnej;
- bez wykrywalnych genów podatności, ale duża rola czynników i modyfikacji epigenetycznych, objawy związane z promieniowaniem UV, płcią, wywiadem palenia tytoniu i infekcjami wirusowymi, z obecnością niektórych objawów klinicznych, w tym: rumienia i rumienia krążkowego, nadwrażliwości na światło, zapalenia śluzówki i zaburzeń neurologicznych [2].

## SNPS W SLE

Najczęstszą formą zmienności genetycznej jest polimorfizm pojedynczego nukleotydu (SNP, *single nucleotide polymorphism*) — istnienie w danej populacji allelu lub alleli, czyli form genu, odmiennej od występującej u największej liczby osobników danego gatunku — tej przyjętej jako prawidłowa. Polimorfizm pojedynczego nukleotydu to od 0,01% do 1% allel inny od przeważającego w badanej populacji, w zależności od genu. Dotyczy różniących się pomiędzy sobą genów ludzkich — zmian mogących pozostać niemymi, wzmacniać lub osłabiać funkcje białek organizmu lub nawet całkowicie je zmieniać. Każdy SNP może być potencjalnie chorobotwórczy. Przykładami chorób o udowodnionym podłożu SNP w genach są na przykład: mukowiscydoza, miażdżyca, choroba Parkinsona, choroba Alzheimera czy anemia sierpowata. Każdy taki polimorfizm po zmapowaniu genomu posiada swoje *locus* w genomie i numer referencyjny (tzw. numer rs). Umożliwia to ustanowienie danego SNP markerem genetycznych, wyszukiwanie SNPs oraz porównywanie wyników między ośrodkami. Polimorfizmy pojedynczego nukleotydu dziedziczą się w blokach, tak zwanych „haplotypach”, więc badając jeden, można łatwo określić występowanie kolejnych. Technikami biologii molekularnej, które wykorzystuje się do analizy SNPs są: PCR, HRM [3].

Badania polimorfizmu pojedynczego genu jako genetycznej patogenezы SLE w znaczącej liczbie wzrosły w ostatnim czasie w kohortach zróżnicowanych genetycznie. Mo-

lineros i wsp. przeanalizowali skłonność do występowania SLE w genie kodującym białko uwalniające guanylny 1 RAS (*RASGRP1*, *RAS guanyl-releasing protein 1*). Stosunek prawidłowych izoform genu *RASGRP1* do izoform pozbawionych eksonu-11 może być związany z wadliwą ekspresją polimerazy poli [ADP-rybozy] polimerazy 1 (PARP1) i zmniejszonym przeżyciem limfocytów u pacjentów ze SLE. Nieprawidłowe warianty gromadzą się u pacjentów z SLE i niekorzystnie wpływają na funkcję komórek T. Przeanalizowano więc *RASGRP1* pod kątem aż 18 SNPs, prześledzono łącznie 9529 pacjentów cierpiących na SLE i 22 462 pacjentów z grupy kontrolnej. Wykazano, że rs11631591 ma wpływ na zwiększenie występowania SLE w badanej populacji i stanowi czynnik ryzyka [4].

W brazylijskim doniesieniu z badania nad SNP Semaforyny-4A (*SEMA4A*) rs3738581, konkretnie allelem T/T, ekspresja w badanej kohorcie 541 pacjentów była istotnie większa niż w grupie kontrolnej. Co istotne, w cytowanym powyżej badaniu wykazano, że T/T wariant genetyczny wpływa na zwiększenie aktywności limfocytów T *in vitro*, czym udowodniono rolę regulacyjną tego białka w procesie autoimmunologicznej reakcji zapalnej. Badanie dotyczyło dwóch grup pacjentów — z SLE i RZS [5].

Ukazała się metaanaliza obejmująca olbrzymie kohorty z ponad pięćdziesięciu różnych badań genetycznych, badająca polimorfizm w genie *Cluster of Differentiation 226* (CD226), nazywanym również DNAX-dodatkowa cząsteczka-1 (z genem kodującym DNAM-1). Dane co do jego roli i wpływie na podatność na choroby autoimmunologiczne są sprzeczne. Cytowane badanie miało na celu przeprowadzenie metaanalizy w celu zbadania związku między polimorfizmem rs763361 CD226 a ryzykiem chorób autoimmunologicznych, włączając w to: SLE, RZS, twardzinę układową i cukrzycę typu 1. Przeanalizowano dane dla 18157 probantów oraz 29 904 zdrowych osób, niemalże z każdej grupy etnicznej. Wykazano dziedziczenie kodominacyjne, a sumaryczne wyniki wykazały statystycznie istotny związek między SNP rs763361 a podatnością na choroby autoimmunologiczne wśród całej populacji z 51 badań. Odkrycia te sugerują, że nosiciele allelu T tego polimorfizmu CD226 byli bardziej narażeni na rozwój SLE niż probanci z allelem C [6].

Ukazała się także ważna praca dotycząca SNPs u pacjentów z rozpoznaniem LN w grupie 1244 pacjentów różnego pochodzenia etnicznego, spośród których 606 miało LN (48,7%

badanej grupy). Badanie genotypowało aż 817 810 SNPs. Wyniki były zróżnicowane populacyjnie, spośród SNPs przeanalizowanych wiele okazało się wariantami ochronnymi [7].

## GENOTYPOWANIE I CO DALEJ?

Badania genetyczne nieuchronnie prowadzą do tworzenia nowych leków, zwłaszcza leków biologicznych. Nadzieją dla pacjentów z SLE, szczególnie dla tych z licznymi powikłaniami, wydaje się być wizja celowanej genoterapii. Aktualnie schematy leczenia SLE zazwyczaj obejmują pewną, zindywidualizowaną do potrzeb pacjenta kombinację glikokortykoidów, leków przeciwmalarycznych, leków immunosupresyjnych i środków cytotoksycznych stosowanych w szczególnie ciężkich lub opornych na leczenie przypadkach. Powoli wychodzimy z eryterapii niecelowanej dzięki leczeniu biologicznemu, jednak droga do pełnej indywidualizacji i personalizacji leczenia opartej na genomie,

pozostaje naprawdę daleka. Tylko na powyższych przykładach widać, jak szeroki jest zakres cząsteczek, które bada się w ujęciu SLE i jego powikłań. Aktualnie w leczeniu biologicznym stosuje się cząsteczki działające poprzez szereg mechanizmów. Wiele punktów uchwytu dla leków biologicznych jest testowanych, na przykład anty-CD22 (np. epratuzumab, który nie przeszedł II fazy testów) czy inhibitory proteasomów (testowany np. bordezomib). [8] Są to cenne badania, aczkolwiek mogą nie być nakierowane na przyczynę. Przyczyna powstawania SLE może bowiem — co warto podkreślić — znajdować się w genomie pacjentów. Znalezienie genu lub genów odpowiedzialnych za rozwinięcie SLE i jego powikłań — wszystkich, wraz z SNPs, mutacjami itp. zajmie z pewnością lata, ale w konsekwencji być może doprowadzi do stworzenia skutecznej genoterapii, na podstawie podmieniania wadliwego genomu na prawidłowy, mogącej pacjentów realnie wyleczyć z SLE i uniemożliwić przekazanie choroby kolejnym pokoleniom.

### ABSTRACT

Systemic lupus erythematosus (SLE) is a chronic, multi-system autoimmune inflammatory disorder. It has numerous clinical manifestations — from benign skin lesions to massive multi-organ damage. To date, 180 autoantibodies have been diagnosed associated with the severity of clinical symptoms, onset and frequency of flares in the course of the dis-

ease. Each of the molecules associated with them can be a model for genetic testing. This work summarizes reports of single nucleotide polymorphism (SNP) with regard to SLE as the most common form of genetic variation in large cohort studies, identifying risk alleles.

**Forum Reumatol. 2020, tom 6, nr 3: 139–142**

**Key words: systemic lupus erythematosus; single nucleotide polymorphism; genetic studies**

## Piśmiennictwo

1. Bertoli AM, Alarcon GS. Epidemiology of systemic lupus erythematosus. In: Tsokos GC, Gordon C, Smolen JS. ed. *Systemic Lupus Erythematosus*. Mosby Elsevier, Philadelphia 2007: 1–18.
2. Dörner T. SLE in 2011: Deciphering the role of NETs and networks in SLE. *Nat Rev Rheumatol*. 2012; 8(2): 68–70, doi: [10.1038/nrrheum.2011.200](https://doi.org/10.1038/nrrheum.2011.200), indexed in Pubmed: [22231233](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22231233/).
3. Griffiths AJF, Miller JH, Suzuki DT. *An Introduction to Genetic Analysis*, 7th edition. W. H. Freeman, New York 2000: 133, 404.
4. Molineros JE, Singh B, Terao C, et al. Mechanistic Characterization of Variants Identifies an hnRNP-K-Regulated Transcriptional Enhancer Contributing to SLE Susceptibility. *Front Immunol*. 2019; 10: 1066, doi: [10.3389/fimmu.2019.01066](https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01066), indexed in Pubmed: [31164884](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31164884/).
5. Cavalcanti CA, Germoglio V, de Azevedo Silva J, et al. T-cell specific upregulation of Sema4A as risk factor for autoimmunity in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Autoimmunity*. 2020; 53(2): 65–70, doi: [10.1080/08916934.2019.1704273](https://doi.org/10.1080/08916934.2019.1704273), indexed in Pubmed: [31876207](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31876207/).
6. Bai L, Jiang J, Li He, et al. Role of Rs763361 Polymorphism in Susceptibility to Multiple Autoimmune Diseases. *Immunol Invest*. 2019 [Epub ahead of print]: 1–17, doi: [10.1080/08820139.2019.1703737](https://doi.org/10.1080/08820139.2019.1703737), indexed in Pubmed: [31854233](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31854233/).
7. Lanata CM, Nititham J, Taylor KE, et al. Genetic contributions to lupus nephritis in a multi-ethnic cohort of systemic lupus erythematosus patients. *PLoS One*. 2018; 13(6): e0199003, doi: [10.1371/journal.pone.0199003](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199003), indexed in Pubmed: [29953444](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29953444/).
8. Vukelic M, Li Yi, Kyttaris VC. Novel Treatments in Lupus. *Front Immunol*. 2018; 9: 2658, doi: [10.3389/fimmu.2018.02658](https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02658), indexed in Pubmed: [30524430](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30524430/).